

Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

Universidad Nacional Autónoma de México



**CONDICIONES HIDROLÓGICAS IN SITU DE UN BORDO CON AVES
ACUÁTICAS MIGRATORIAS DURANTE EL AISLAMIENTO DEL VIRUS DE
INFLUENZA TIPO A**

T E S I S

que para obtener el grado académico de

**Maestro en Ciencias
(Química Acuática)**

P r e s e n t a

ALEJANDRO EDUARDO OBREGÓN ASCENCIO

**Director de Tesis:
DR. GARY GARCÍA ESPINOSA**

**Comité Tutorial:
DR. MARTÍN MERINO IBARRA
DR. LUIS ANGEL MALDONADO MANJARREZ**

**Jurado:
DR. GUILLERMO FERNÁNDEZ ACEVES
DR. JAVIER ALCOCER DURAND**



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.

Dedicatoria

A mi madre, Laura Ascencio Vargas, por haberme dado la vida, por todo su amor y por tener el valor para sacarnos adelante, a mí, a mi hermana y a mucha gente a lo largo de su vida. Es un gran ejemplo.

A mis hijos, Alejandro y Ulises, que son el motivo por el que siempre sigo adelante, son lo mejor que tengo en la vida. Los quiero mucho.

A Gaby, por todo lo que me has dado, que ha sido mucho, te amo.

A mi hermana Laura, con quien compartí mi infancia y que sigue apoyándome en lo que puede.

A mis abuelos, por echarle tantas ganas a pesar de las adversidades.

A toda mi familia, por soportarme y brindarme su apoyo.

A mis amigos ... ustedes saben bien quiénes son.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme dado nuevamente la distinción de aprender en sus aulas, es la mejor universidad de Iberoamérica.

Al Posgrado de Ciencias del Mar y Limnología, por ser el gran posgrado que es y por darme esta oportunidad.

A mi tutor el Dr. Gary García Espinoza (FMVZ-UNAM), por darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio y guiarme durante todo el proceso.

A mi comité tutorial, el Dr. Martín Merino y el Dr. Luis Angel Maldonado y a mi jurado, el Dr. Guillermo Fernández y el Dr. Javier Alcocer, por sus comentarios, consejos y gran paciencia.

Al Dr. Gilberto Vela Correa (UAM Xochimilco), por su apoyo con el procesamiento del sedimento del bordo.

A la M. en C. Guadalupe Vázquez (CIRA-UAEM), por su apoyo con el análisis de coliformes del bordo.

Al hidrobiólogo Sergio Castillo (ICMyL-UNAM), por apoyarme con el procesamiento de los nutrientes.

A los compañeros que me apoyaron, MVZ Monica Yadeun y MVZ Arturo Hernández durante los muestreos y al M. en C. Fernando Chávez con el trabajo en el laboratorio.

Al Ing. Luis Soto (UAEM) por facilitarnos los datos de la estación meteorológica.

A las autoridades y personal de la UAEM, por permitirnos entrar a realizar los muestreos y todo su apoyo para ingresar al bordo.

A la Dra. Gloria Vilaclara Fatjó (PCMyL-UNAM), quien confió en mí a pesar de las circunstancias.

A Lupita, Chantal, Diana y Gaby (PCMyL-UNAM), que siempre me ayudaron en los trámites.

A TODOS los profesores e investigadores de las diferentes instancias de la UNAM que me permitieron asistir a sus clases, gracias por transmitir lo que saben, solo así este país podrá ser mejor, mediante la educación.

Al convenio DGVS/SEMARNAT-FMVZ/UNAM número 20556-1061-14-IX-07 por los recursos económicos para realizar este proyecto.

A CONACYT y al pueblo de México, por la beca otorgada y los impuestos pagados que la hicieron realidad.

Condiciones hidrológicas in situ de un bordo con aves acuáticas migratorias durante el aislamiento del virus de influenza tipo A

Índice General

I.	Índice de figuras	5
II.	Índice de tablas	7
III.	Resumen	8
IV.	Abstract	9
V.	Introducción	10
VI.	Antecedentes	
	Los humedales en México	11
	Las aves acuáticas en México	13
	Ecología de virus acuáticos	16
	Ecología del virus de influenza tipo A en los humedales	18
	Bioseguridad, biovigilancia y la evaluación de riesgos	24
VII.	Justificación	26
VIII.	Preguntas de investigación	28
IX.	Objetivos	28
X.	Área de estudio	29
XI.	Metodología	
	Parámetros ambientales del agua y batimetría	33
	Índice del Estado Trófico (IET)	34
	Determinación de nutrientes	34
	Calidad del agua: evaluación de coliformes	35
	Caracterización del sedimento	35

Aislamiento viral a partir del agua superficial	35
Hemoaglutinación	37
Densidad de aves	38
Infraestructura y recursos materiales	39
XII. Resultados	
Profundidad	40
Batimetría	41
Transparencia	42
Índice del Estado Trófico	43
Temperatura	45
pH	48
Salinidad y conductividad	50
Oxígeno disuelto	53
Nutrientes	54
Coliformes	57
Sedimento	59
Aislamiento viral a partir del agua superficial	61
Densidad de aves	65
XIII. Discusión	67
XIV. Conclusiones	73
XV. Recomendaciones	75
XVI. Referencias bibliográficas	77
XVII. Anexo	85

I. Índice de figuras

Figura 1. Situación de los humedales y regiones hidrológico-administrativas en México para 2007	13
Figura 2. Microscopia de epifluorescencia de VLPs	17
Figura 3. Microscopía electrónica del virus de influenza tipo A	18
Figura 4. Ubicación del área de estudio en la República Mexicana	30
Figura 5. Cuenca de Lerma	30
Figura 6. Bordo las Maravillas, Estado de México	31
Figura 7. Sitios de muestreo para la evaluación de parámetros ambientales	33
Figura 8. Sitios de muestreo para aislar virus	36
Figura 9. Profundidad por sitio en el bordo las Maravillas	40
Figura 10. Profundidad media por muestreo en el bordo las Maravillas	41
Figura 11. Batimetría del bordo las Maravillas	42
Figura 12. Transparencia por sitio en el bordo las Maravillas	43
Figura 13. Transparencia promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas	43
Figura 14. Temperatura superficial para el bordo las Maravillas	46
Figura 15. Temperatura a 1m o fondo por sitio para el bordo las Maravillas	46
Figura 16. Temperaturas promedio con desviación estándar del agua superficial y de fondo en el bordo las Maravillas	47
Figura 17. Temperatura promedio del agua comparada con la temperatura ambiental en el bordo las Maravillas	47
Figura 18. pH superficial para el bordo las Maravillas	48
Figura 19. pH a 1m o fondo para el bordo las Maravillas	49
Figura 20. Comparación del pH promedio en superficie y fondo con desviación estándar en el bordo las Maravillas	50
Figura 21. Salinidad superficial para el bordo las Maravillas	51
Figura 22. Salinidad a 1m o fondo para el bordo las Maravillas	51
Figura 23. Salinidad promedio de superficie y fondo con desviación estándar en el bordo las Maravillas	52
Figura 24. Conductividad promedio de superficie y fondo con desviación estándar en el bordo las	

Maravillas	52
Figura 25. Oxígeno disuelto promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas	53
Figura 26. Fósforo total promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas	55
Figura 27. Nitrógeno total promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas	55
Figura 28. Amonio promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas	56
Figura 29. Fosfato promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas	57
Figura 30. Coliformes totales y fecales promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas	58
Figura 31. Sitio de muestreo del aislamiento viral	62
Figura 32. Resultados de la aplicación de antimicrobianos al agua del bordo para inoculación	63
Figura 33. Prueba de hemoaglutinación	63
Figura 34. Titulación de la hemoaglutinación	64
Figura 35. Resultado del inmunoensayo <i>Flu Detect</i> para virus de influenza tipo A en líquido alantoideo	64
Figura 36. Número de <i>Anseriformes</i> presentes en el bordo las Maravillas durante el estudio	66
Anexo	
Figura 37. Visibilidad en el Campus Cerrillos de la UAEM	85
Figura 38. Precipitación en el Campus Cerrillos de la UAEM	85
Figura 39. Profundidad y transparencia medias en el bordo las Maravillas	87

II. Índice de tablas

Tabla 1. Índices del Estado Trófico en el bordo las Maravillas (DS y FT)	44
Tabla 2. pH para el sedimento de los sitios de muestreo (B1-B8) en el bordo las Maravillas	59
Tabla 3. Clasificación de materia orgánica (MO) y carbono (C) en el bordo las Maravillas	60
Tabla 4. Color del sedimento en el Bordo las Maravillas	61
Tabla 5. Capacidad de intercambio catiónico (CIC) en el Bordo las Maravillas	61
Anexo	
Tabla 6. Índice del Estado Trófico en el bordo las Maravillas (NT)	86

III. Resumen

Los humedales forman parte del ciclo del agua, su conservación y manejo sostenible garantizarán los servicios ambientales que proporcionan (CNA, 2009). El aprovechamiento de las aves acuáticas es fundamental debido al potencial económico por la derrama de divisas, sin olvidar las oportunidades de desarrollo que se aportan para las comunidades cercanas a los humedales (SEMARNAT, 2008). Las aves silvestres de los órdenes *Anseriformes* y *Charadriiformes* son reservorios naturales del virus de la influenza tipo A, el cual permanece activo cierto tiempo en los humedales donde las aves acuáticas pasan parte de su vida. La transmisión entre poblaciones de aves ocurre de forma indirecta mediante la ruta fecal-oral, involucra agua contaminada y hábitats compartidos (Webster *et al.*, 1978). Para entender la participación que los ambientes acuáticos tienen sobre la transmisión de influenza tipo A y su continuidad en los reservorios, se han realizado estudios en laboratorio sobre la persistencia del virus en agua, bajo intervalos naturales de pH, salinidad y temperatura (Webster *et al.*, 1978; Stallknecht *et al.*, 1990b; Brown *et al.*, 2009). La biovigilancia es un proceso que nos permite detectar brotes de enfermedades, mediante la revisión del ecosistema en busca de agentes, para así identificar las condiciones ambientales que son propicias a la enfermedad (Whitworth *et al.*, 2007). La presente investigación tiene la finalidad de aportar datos sobre la ecología del virus de influenza tipo A desde una perspectiva ambiental, particularmente en el agua. Las preguntas a responder fueron sobre cuáles son las condiciones fisicoquímicas del agua cuando se aísla el virus de influenza tipo A y verificar que otras variables además del pH, la temperatura y la salinidad pueden influir durante el aislamiento del virus en el medio acuático. Los objetivos fueron: a) evaluar las variables hidrológicas identificadas como relevantes (pH, salinidad, temperatura) y otras de posible relevancia en el sitio durante la estancia de los patos silvestres migratorios; b) aislar virus de influenza tipo A procedente de muestras de agua durante la estancia de los patos silvestres migratorios. La zona de estudio se localiza en el Estado de México, pertenece a la cuenca Lerma-Chapala-Santiago, es llamado el Bordo las Maravillas (19°24'26.71"N, 99°41'30.71"W), se encuentra bajo la administración de la UAEM. Se evaluaron los parámetros ambientales relevantes para la permanencia del virus en el agua, como la temperatura, el pH y la salinidad, tanto del agua superficial, como a 1 m o fondo, durante un año. Se evaluaron otros parámetros ambientales de interés en la columna del agua como la concentración de oxígeno disuelto, nutrientes, la presencia de coliformes, la profundidad y transparencia. Analizamos el sedimento del bordo, se estimó la densidad de aves y se extrajo agua superficial para aislar virus de influenza mediante su inoculación en embriones de pollo. Los resultados de la hemoaglutinación y de la prueba rápida de inmuno-migración *Flu Detect* nos permitieron identificar virus de influenza tipo A (remitida a CPA) en febrero de 2011 de la zona más somera y protegida del bordo. Los datos sugieren que la acción conjunta del pH y temperatura en la columna de agua, junto con el pH relativamente ácido del sedimento y la entrada de agua alcalina, son los principales parámetros ambientales que afectarían la actividad infecciosa del virus.

Palabras clave: virus, influenza, aves, agua, sedimento, humedal.

IV. Abstract

Wetlands take part in the water cycle, their conservation and sustainable handling will guarantee the environmental services that they provide (CNA, 2009). The use of aquatic birds is fundamental due to the economic potential for it spills on foreign currencies, without forgetting the development opportunities that are contributed to the communities near the wetlands (SEMARNAT, 2008). Wild birds of the orders *Anseriformes* and *Charadriiformes* are the natural hosts for the *Influenzavirus A*, which remains active certain time in wetlands where aquatic birds pass part of its life. The transmission among populations of birds happen in an indirect way by means of the fecal-oral route, it involves polluted water and shared habitats (Webster *et al.*, 1978). To understand the participation that aquatic environments have over influenza transmission and their continuity in the host, there have been carried out laboratory studies about the persistence of this virus in water, under natural intervals of pH, salinity and temperature (Webster *et al.*, 1978; Stallknecht *et al.*, 1990b; Brown *et al.*, 2009). Biosurvey is a process that allows us to detect outbreaks, by means of the ecosystem revision looking for illness agents, to identify the environmental conditions that are favorable to the illness (Whitworth *et al.*, 2007). The present research has the purpose of contribute with data about the ecology of the *Influenzavirus A*, from an environmental perspective, particularly in water. The questions to respond were to check the pond conditions when the *Influenzavirus A* is isolated from water and to identify the parameters that influence the presence of the virus in the natural aquatic environment besides pH, salinity and temperature. The objectives were: a) to evaluate the identified hydrological variables as outstanding (pH, salinity, temperature) and others of possible relevance in the place during the stay of the migratory waterfowl; b) to isolate type A influenza virus coming from water samples during the stay of the migratory waterfowl. The study area is located in the State of Mexico, it belongs to the basin Lerma-Chapala-Santiago, the pond is called the Marvels (19°24'26.71 " N, 99°41'30.71 " W), it is under the administration of the UAEM. The relevant environmental water parameters for the virus permanency were evaluated, temperature, pH and salinity, from surface water, as from 1 meter depth or bottom, during one year. Other interesting environmental parameters were evaluated in the water column such as dissolved oxygen concentration, nutrients, coliforms presence, depth and transparency. We analyzed the pond sediment, the density of birds was evaluated and surface water was extracted to isolate *Influenzavirus A* by means of its inoculation in chicken embryos. The hemagglutination results and the Flu Detect kit allowed us to identify active *Influenzavirus A* (remitted to CPA) in a sampling (February 2011) from the most shallow and protected area in the pond. Data suggest that the combined action of pH with temperature in the water column, influenced by the relatively sour pH sediment and the entrance of alkaline water are the main environmental parameters that incise on the virus infectious activity.

Keywords: influenza, virus, birds, water, sediment, wetland.

V. Introducción

Los virus son parásitos submicroscópicos intracelulares obligados. Las partículas virales son producidas a partir del ensamble de componentes preformados, mientras que otros agentes crecen por el incremento de la suma integrada de sus componentes y se reproducen por división. Las partículas virales (viriones) por sí mismas no crecen ni se dividen ya que los virus carecen de la información genética que codifica la maquinaria necesaria para la generación de energía metabólica o la síntesis de proteínas (Cann, 2005).

La mayoría de los virus son estudiados por ser patógenos de animales y plantas utilizados en la producción de diversos satisfactores. Algunos virus tienen la característica de infectar a varias especies animales correspondientes a diferentes clases y ordenes como es el caso del virus del género *Influenzavirus*. Se ha reportado la presencia de estos virus en poblaciones de aves acuáticas silvestres que habitan los humedales de las regiones neárticas y paleárticas del planeta. El virus de influenza tipo A, que afecta a un amplio número de especies aviares en la naturaleza, se ha aislado de diversas especies de aves migratorias en Canadá y los Estados Unidos de América, sin embargo existen especies como el pato mexicano (*Anas diazi*) del cual se ignora su papel en la ecología y epidemiología del virus para nuestro país (Barrón, 2009; Cuevas-Domínguez *et al.*, 2009).

México comparte frontera con los Estados Unidos y forma parte de la región neártica de interés localizada geográficamente al centro del país, en donde hay patos silvestres endémicos y patos migratorios provenientes del norte durante la época de invierno. Debido a su cercanía con grandes centros urbanos y productivos del centro del país, la región de la cuenca del Lerma resulta de gran interés para el monitoreo de aves migratorias, ya que está compuesto por un grupo de cuerpos de agua a los que año con año arriban en gran cantidad 12 especies de anátidos migratorios, entre los que destacan la cerceta ala azul (*Anas discors*), la cerceta ala verde (*Anas crecca*), la cerceta canela (*Anas cyanoptera*), el pato cucharón norteño (*Anas clypeata*), el pato golondrino (*Anas acuta*), el pato friso (*Anas strepera*), el pato texano (*Anas fulvigula*), el pato chalcuán (*Anas americana*), el pijije canelo (*Dendrocygna bicolor*), el pato boludo menor (*Aythya affinis*), el pato coacoxtle (*Aythya valisineria*) y el pato enmascarado (*Nomonyx dominicus*) (Vázquez-Rivera 2001, 2004).

VI. Antecedentes

Los humedales en México

Los humedales son las zonas de transición entre los sistemas acuáticos y los terrestres, que constituyen áreas de inundación temporal o permanente, tanto continentales como costeras, sujetas o no a la influencia de mareas. Poseen una biodiversidad propia, son ecosistemas productivos que funcionan como criaderos de diversas especies, debido a su ubicación geográfica en las cuencas y las costas, permiten la recarga de los acuíferos y descargan agua al subsuelo para el mantenimiento del manto freático y la permanencia de fuentes de agua en tiempos de sequía (INH-DER, 2008).

Por ejemplo, se considera que la principal causa de pérdida en biodiversidad para la cuenca Lerma-Chapala se debe al desequilibrio hidrológico, pero también influyen el empleo indiscriminado de agroquímicos, la contaminación de los cuerpos de agua, la reducción del nivel de agua en los principales lagos y la pérdida de conectividad a lo largo de la cuenca, entre otros factores (Güitron, 2005).

Los humedales forman parte de un eslabón fundamental en el ciclo del agua. Su conservación y manejo sostenible garantizarán la riqueza biológica y los servicios ambientales que proporcionan, como lo son el almacenamiento del agua, la conservación de acuíferos, la purificación de agua mediante la retención de nutrientes, sedimentos y contaminantes, la protección contra las tormentas y la atenuación de inundaciones, la estabilización de los litorales y el control de la erosión entre otros. Dichos ecosistemas han sufrido históricamente procesos de transformación con fines y resultados diversos, su desconocimiento y administración inadecuados crearon algunos de los principales problemas que atentan contra su conservación en nuestro país. Por todo lo anterior, han sido objetos de normatividad y protección, para su conservación y aprovechamiento. La elaboración del Inventario Nacional de Humedales es una respuesta a los compromisos nacionales e internacionales contraídos por México, como lo es la Convención de Ramsar adoptada en 1971. Su realización asistirá en la preservación de los humedales,

respondiendo así a las necesidades que debemos atender en materia de medio ambiente (CNA, 2009).

La Convención Ramsar sobre los Humedales, es un acuerdo intergubernamental que define el escenario para la acción nacional y la colaboración internacional a favor de la conservación y el uso razonable de los humedales y de todos los recursos que de ellos emanan. En 1986 México se unió a la Convención de Ramsar, cuando registró el humedal “Reserva de la Biosfera Ría Lagartos” en la Lista de Humedales de Importancia Internacional. La convención Ramsar se conforma de 159 partes contratantes, cubriendo un total de 1,867 sitios Ramsar, de los cuales México reporta 123 sitios mediante la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP), los cuales cubren una superficie de 8,867,527.82 hectáreas. A nivel nacional, es la Comisión Nacional del Agua (CNA) a la que le compete actualizar el Inventario Nacional de Humedales (INH), así como clasificarlos y delimitarlos, además de proponer las normas para su protección, restauración y aprovechamiento (CNA, 2009).

Las características que permiten identificar a los humedales incluyen a los componentes del paisaje, naturales o artificiales, que se caracterizan por contener suelos predominantemente hídricos y comunidades vegetales hidrófilas. El contenido de humedad debe ser determinante en los procesos fisicoquímicos y biológicos observados. Además del agua, colectan, almacenan y transportan materia y energía. El agua en un humedal puede provenir de precipitación o aguas superficiales, subterránea o una combinación de ambas. Un suelo hídrico se considera como un suelo saturado o inundado el tiempo suficiente para desarrollar condiciones anaeróbicas en la parte superior del área. La duración de la saturación necesaria para producir condiciones anaeróbicas varía entre humedales y depende, en parte del tipo de suelo (INH-DER, 2008). No existe consenso sobre el mejor sistema de clasificación de humedales. Entre algunos de los criterios más empleados se pueden mencionar el criterio morfológico general, el de hábitat geomorfológico, el hidrogenético, el funcional, el genético-funcional, el hidrológico, el hidrogeológico y el paisajístico. Algunos de estos sistemas de clasificación son subjetivos o requieren de información técnica muy precisa y difícil de obtener. Para el INH se ha propuesto un sistema de clasificación basado en un análisis comparativo de los principales sistemas de clasificación de humedales existentes a nivel nacional e internacional (INH-DER, 2008).

La cartografía de Humedales Potenciales de México (CNA, 2009) se basa en el análisis y la interpretación a partir de información digital sobre recursos naturales como los tipos de vegetación, los tipos de suelo, la topografía, los cuerpos y corrientes de agua existentes, la pendiente (los humedales en su gran mayoría se sitúan en las partes bajas del terreno), si son inundadas de forma temporal, recurrente o permanentemente, si se componen por agua superficial o subterránea, si tienen alguna frecuencia, duración y profundidad determinada, con una preponderante vegetación o vida acuática. Comprende 2,104 sitios de humedales potenciales (figura 1).



Figura 1. Situación de los humedales (color azul) y regiones hidrológico-administrativas (números romanos) en México para 2007 (CNA, 2009).

Las aves acuáticas en México

El aprovechamiento que se ha promovido alrededor de las aves ha motivado la generación de un gran mercado económico que hace necesario el desarrollo de complejos sistemas de evaluación para su hábitat, poblaciones y distribución (tanto regional como continental), con el fin de satisfacer de manera sustentable la creciente demanda por ellas,

por ejemplo, tenemos a las aves como mascotas, alimento, en la observación recreativa y en la actividad cinegética de diversas regiones del país, entre otras actividades. La necesidad de conservar a las aves acuáticas en particular, ha incentivado la elaboración de convenios internacionales entre los diferentes países involucrados con el fin de garantizar la conservación de sus poblaciones y hábitat, regidos por esquemas de manejo adecuados, que además de controlar el valor económico que representan, valoran a las especies por sus concentraciones y diversidad, ya que sirven como indicadores de la calidad biológica de los humedales, además de ser parte fundamental de la herencia natural y cultural compartida por los países del continente (SEMARNAT, 2008).

Norteamérica posee entre sus recursos naturales faunísticos, una gran cantidad de aves migratorias y residentes, entre las que sobresalen por su importancia económica y sus espectaculares migraciones las familias *Gruidae* y *Anatidae*, con aproximadamente un número total combinado de 100 millones de individuos (*U.S. Fish and Wildlife Service*, 2001). Se calcula que entre 7% y 17% llega a México durante el invierno (dependiendo de las condiciones ambientales), conviviendo con las poblaciones de anátidos residentes que permanecen durante todo el año en el territorio nacional. A través de su larga migración, aproximadamente de 7,000 kilómetros, las aves acuáticas atraviesan Canadá, Estados Unidos y México, generando diversas actividades recreativas que representa solo en los Estados Unidos la participación de 3.1 millones de cazadores de aves acuáticas, que generan una derrama económica de 1,400 millones de dólares (*U.S. Fish and Wildlife Service*, 2001).

El aprovechamiento y uso de las aves acuáticas en México resulta fundamental y de gran interés debido al enorme potencial económico que representa la derrama de divisas extranjeras que llegan al país por esta vía, sin olvidar las oportunidades de desarrollo que se aportan para las comunidades rurales. Se calcula que en México, aproximadamente 77% de los cazadores de aves acuáticas provienen de los Estados Unidos (Kramer, *et al.* 1995) y la derrama económica derivada por la caza de estas aves es de casi 508.2 millones de pesos (Secretaría de Turismo, 2001 en SEMARNAT 2008). En México la actividad cinegética tiene una gran tradición y se tienen registros desde antes de la llegada de los europeos, proveía de una fuente de alimentación, materia prima artesanal, indumentaria, moneda de

cambio, etc., lo mismo para los grupos nómadas provenientes del norte como para las culturas establecidas en toda Mesoamérica.

La demanda comercial del recurso durante la primera mitad del siglo pasado, provocó el uso de artes eficientes que permitieron un mayor éxito en la captura de las aves. De los métodos empleados, el más usado fue conocido con el nombre de armada, que consistía en una serie de cañones caseros, los cuales hacían posible la captura de cientos de animales al mismo tiempo y de forma económica. Los animales capturados eran enviados para venderlos en los mercados locales, esta forma de apropiación comercial del recurso fue una etapa histórica durante la década de 1950, sin embargo, en la Cuenca de México y en la zona del Lago de Texcoco fue una práctica vista hasta finales de la década de 1960, práctica que cayó en desuso debido a la destrucción del hábitat en las cercanías de los grandes centros urbanos y por los reglamentos legales que la combatieron.

Actualmente en ciertas regiones de México, es posible documentar la venta de animales para su consumo, sin embargo es poca la oferta y se encuentra muy localizada. También persiste la creencia incorrecta, especialmente en el extranjero, de que la caza comercial a gran escala aún continúa en México. Con el paso del tiempo, los cambios sociales, culturales y económicos de nuestro país, dicho recurso ha tenido altibajos en cuanto a la importancia que representa, ya que se le ha otorgado mayor peso a los cambios en el uso del suelo para el desarrollo de actividades productivas como la ganadería. Por lo que sobresale la pérdida de los humedales que soportaban históricamente a las grandes concentraciones de aves acuáticas, como ejemplo tenemos los casos de las siguientes lagunas: Laguna de Patos en Chihuahua; Mayrán en Coahuila; del Carmen entre Tlaxcala y Puebla; Texcoco en el Estado de México, por mencionar unas cuantas. Es preocupante la situación de los lagos y humedales del centro de México en Jalisco, Michoacán, Guanajuato y la zona de Lerma en el Estado de México (SEMARNAT, 2008).

Los desarrollos urbanos, agrícolas e industriales en todo el país han tenido un efecto negativo en el mantenimiento y la transformación de los humedales, principalmente a lo largo de las costas del Golfo y del Pacífico, en donde los distritos de riego de Tamaulipas, Sinaloa y Sonora (por mencionar solo algunos) abarcan en la actualidad 2,780,000 Has modificadas para realizar actividades agrícolas. Si revisamos el caso de la producción en

granjas camaroneras y salineras, éstas abarcan un total de 72,711 has desarrolladas en áreas que anteriormente fueron hábitat para las aves acuáticas (Carrera y de la Fuente, 2003).

La contaminación de ríos, lagunas y deltas por descargas de aguas provenientes de las áreas agrícolas, unida a las aguas negras y grises provenientes de los centros urbanos, ha provocado la reducción y pérdida de dichos humedales, además de la pérdida en la biodiversidad de las zonas afectadas. Los efectos de los problemas causados por la industria petrolera tampoco han sido cuantificados del todo. Aunado a lo anterior, la indefinición en cuanto a la administración y cuidado de las zonas federales y su aprovechamiento, provocan por un lado el desinterés de algunas dependencias responsables de dichas tareas y por otro el otorgamiento de permisos para el desarrollo de proyectos (por ejemplo industriales, hoteleros, etc.) que causan pérdidas de hábitat que en consecuencia afectan a los ecosistemas negativamente y en la mayoría de los casos de forma irreversible (SEMARNAT, 2008).

Ecología de virus acuáticos

Los primeros artículos publicados sobre estudios de virus en agua datan de la década de 1960, cuando se descubrieron bacteriófagos marinos (Valentine y Chapman, 1966; Wiebe y Liston, 1968), luego se hicieron estudios ecológicos para identificar, caracterizar y cuantificar dichos bacteriófagos en muestras ambientales (Torrella y Morita, 1979; Bitton, 1987; Proctor *et al.*, 1988; Bergh *et al.*, 1989; Suttle *et al.*, 1990).

En los ecosistemas acuáticos marinos existen aproximadamente 10^7 partículas de tipo viral o similares a las virales (*Virus Like Particles* o VLPs por sus siglas en inglés, figura 2) por ml de agua superficial, hasta 10^8 VLPs por gramo de sedimento y aproximadamente el mismo número para el suelo. En ecosistemas limnológicos se han detectado entre 10^5 y 10^9 VLPs (Sano *et al.*, 2004).

Los VLPs son comunes en ambientes extremos como los manantiales de agua caliente, lagos hipersalinos y marismas solares donde hay bacterias, importantes hospederos para los virus. La mayoría de los VLPs reportados en ambientes acuáticos están clasificados dentro del grupo de los fagos con base en estudios de microscopía electrónica y análisis metagenómicos (Sano *et al.*, 2004).

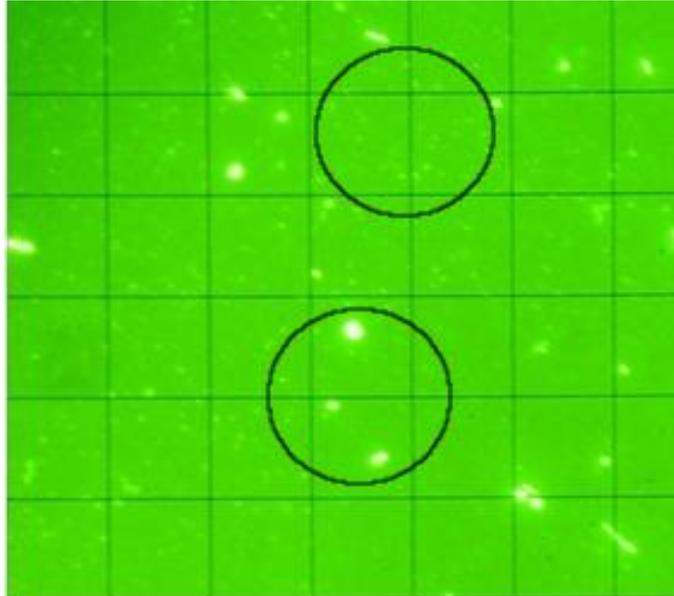


Figura 2. Microscopia de epifluorescencia de VLPs (100x). Se aprecian VLPs (partículas menores rodeadas por el círculo superior), bacterias y microalgas (partículas mayores rodeadas por el círculo inferior) de una muestra de agua proveniente de los canales de Xochimilco (fotografía del autor).

Además de los virus que infectan a los organismos acuáticos (fitoplancton, zooplancton, bacterioplancton, macro algas, hongos acuáticos, plantas acuáticas, peces, anfibios, crustáceos, etc.) existen virus exóticos que son introducidos al medio acuático, pero que pueden permanecer activos en dichos ecosistemas por un tiempo y que tienen como célula blanco a aquellas de vertebrados que pasan parte de su vida fuera del agua, como algunas aves y mamíferos. Por ejemplo, las aves silvestres de los órdenes *Anseriformes* y *Charadriiformes* son reservorios naturales del virus de la influenza tipo A, y este tipo de virus puede permanecer activo durante cierto tiempo en las aguas donde dichas aves suelen pasar gran parte de su vida. La transmisión entre las poblaciones de estas aves ocurre de forma indirecta a través de la ruta fecal-oral, que involucra agua contaminada y hábitats compartidos (Webster *et al.*, 1978).

A partir de la década de 1980 se incrementaron los estudios sobre la persistencia de virus en agua superficial y subterránea en EUA, determinando si los factores químicos y físicos se correlacionan con la presencia de virus en estos nichos. La temperatura, el pH, los nitratos, la turbidez y la dureza del agua se han evaluado en la inactivación de virus bajo condiciones similares a las del agua del sitio de interés. Los ensayos realizados para determinar la cantidad de virus, revelaron que la temperatura fue la variable más

significativa para la disminución en el número de los diferentes tipos de virus evaluados (Yates *et al.*, 1985).

Para comprender mejor la participación que los ambientes acuáticos tienen sobre la transmisión de influenza tipo A y su continuidad en los reservorios, se han realizado estudios en laboratorio sobre la persistencia del virus en agua, bajo diferentes intervalos naturales de pH, salinidad y temperatura (Webster *et al.*, 1978; Stallknecht *et al.*, 1990b; Brown *et al.*, 2009; Davidson *et al.*, 2010; Nazir *et al.*, 2010).

Ecología del virus de influenza tipo A en los humedales

El virus de influenza tipo A pertenece a la familia *Orthomyxoviridae* y género *Influenzavirus A*. El virus tiene forma pleomórfica (figura 3) con un diámetro de 80 a 120 nm. Su genoma consiste en 8 segmentos de RNA lineal monocatenario de sentido negativo con un tamaño de ~13.6 kb (ICTVdB, 2009).

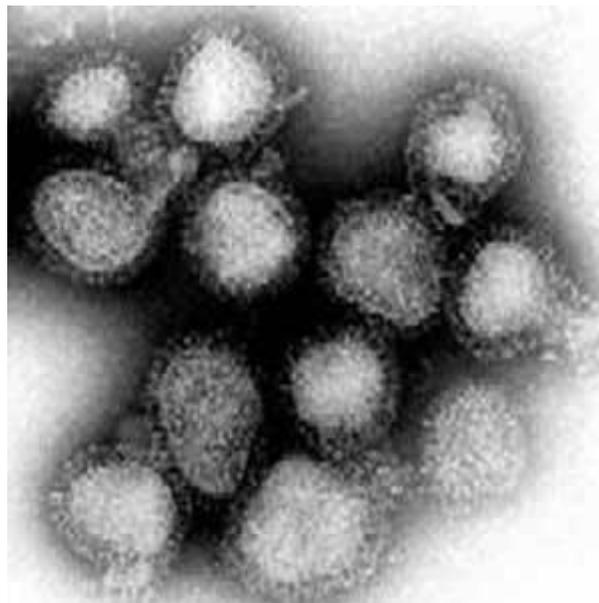


Figura 3. Microscopía electrónica del virus de influenza tipo A. Virus A/Hong Kong/1/68. F.A. Murphy, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas (ICVT, 2009).

Las aves del orden *Anseriformes* (patos, gansos y cisnes) y *Charadriiformes* (gaviotas, golondrinas de mar y aves playeras) son reservorios naturales del *Influenzavirus A* (Brown *et al.*, 2007) siendo los *Anseriformes* donde mayormente se han aislado (Ritchie

et al., 1994). El virus se ha identificado diversas especies de patos, gansos y cisnes nativos de Norteamérica (Stallknecht *et al.*, 1990a). En dichas especies la infección generalmente es asintomática, pero en raras ocasiones pueden presentar cuadros de depresión severa, signos nerviosos y mortalidad; principalmente en aves juveniles (Brown *et al.*, 2006). Sin embargo, el virus también se ha aislado de *Ciconiformes*, *Gaviiformes*, *Gruiformes*, *Pelecaniformes* y *Procellariiformes* (SEMARNAT, 2009).

Los *Anseriformes* y *Charadriiformes* se destacan por llevar a cabo migraciones de largas distancias (Sturm-Ramírez *et al.*, 2005). Por otro lado, existe un sistema migratorio intercontinental extensivo de aves acuáticas a través del océano Ártico entre el continente americano y Siberia, estas migraciones de miles de kilómetros tienen una gran importancia en la conectividad de aves y sus parásitos (Alerstam *et al.*, 2007). Sin embargo, los virus de influenza en esta zona se dividen en linajes genéticos de euroasiático y americano (Olsen *et al.*, 2006).

Desde 1969 se han obtenido a partir de aves acuáticas silvestres, aislados de virus de influenza tipo A en Norteamérica, se han secuenciado y comparado filogenéticamente con otros aislados de aves silvestres, aves en granjas de producción y con algunas especies de mamíferos hospederos. Entre los aislados de aves acuáticas silvestres, las proteínas del subtipo B NS1 y B NS2 fueron las más conservadas; por otro lado los genes de H6 HA1, M y NS del subtipo A fueron los más divergentes, tanto en nucleótidos como en aminoácidos las similitudes ocurrieron tanto con los genes de virus aislados en mamíferos como con los de aves de corral. Los resultados indican que la presión de selección es baja, la falta de una clara agrupación temporal ó espacial muestra que múltiples linajes de virus circulan simultáneamente (Spackman *et al.*, 2005).

La ecología y la epidemiología del virus de influenza tipo A son complejas e involucran a especies de aves silvestres, aves criadas en cautiverio, aves domésticas y mamíferos de diversos ambientes. Se han reportado casos de infección con el virus de influenza en felinos (gatos, tigres y leopardos), cánidos (perros y hurones), suinos, equinos, mamíferos marinos y humanos. Con base en la superficie de glicoproteínas que poseen, los virus de influenza tipo A se pueden clasificar en 16 subtipos por su hemoaglutinina (H1-H16) y nueve por su neuroaminidasa (N1-N9). Los subtipos H5 y H7 pueden adquirir la propiedad de ser altamente patógenos (AP) siendo el virus AP subtipo H5N1 de linaje

asiático uno de los más peligrosos porque causa enfermedad en aves de producción, silvestres y en raras ocasiones a humanos.

Hinshaw *et al.* (1980) y Olsen *et al.* (2006) han demostrado que la especie *Anas platyrhynchos* (ave anseriforme de la familia Anatidae), es entre los patos, una de las que excreta por más tiempo al virus (28 días) y sufre del mayor número de infecciones en sus poblaciones.

Se ha demostrado que los virus de influenza tipo A pueden permanecer infectivos en el agua por largos periodos siendo la temperatura, pH y salinidad los factores que pueden afectar en gran medida la permanencia del virus. Sin embargo, el agua es un mecanismo de transmisión ave-ave por la vía fecal-oral.

Diversos estudios han centrado su atención en las características fisicoquímicas del medio acuático natural, uno de los primeros y más influyentes fue el realizado por Webster y sus colaboradores (Webster *et al.*, 1978) en el que se logró aislar al virus de heces de patos diluidas en agua del río Mississippi con pH = 6.8 y T = 22°C, con estas características del agua encontraron que los virus pueden mantenerse infectivos hasta por 4 días, sin embargo cuando cambiaron la temperatura a T = 0°C (mismo pH) el virus se mantuvo infectivo hasta por 30 días.

En 1989 un estudio determinó la persistencia de cinco virus de influenza tipo A provenientes de cuatro especies de aves acuáticas en el Estado de Luisiana, la persistencia fue determinada en agua destilada a temperaturas de 17 °C y 28 °C. La infectividad se determinó por más de 60 días mediante titulación en microplaca y una de las cepas fue analizada durante más de 91 días a 4 °C. Los modelos de regresión lineal para estos virus predijeron que una concentración inicial de 1×10^6 DICCC₅₀/ml (dosis infectiva de 50 % en cultivo celular por ml) de agua podría permanecer infectiva hasta por 207 días a 17 °C y hasta por 102 días a 28 °C. Se detectaron diferencias significativas en las curvas de persistencia entre las temperaturas de tratamiento y entre los virus. Los resultados sugieren que estos virus están adaptados para la transmisión entre la población de aves acuáticas, también sugieren un riesgo potencial asociado con las aves acuáticas y las aves comerciales que compartan la misma fuente de agua (Stallknecht *et al.*, 1990a).

Los mismos autores dieron continuidad al estudio y evaluaron los efectos combinados de la temperatura, la salinidad y el pH del agua sobre la persistencia del virus de influenza tipo A, usando como modelo un sistema de agua destilada. Compararon tres cepas del virus aisladas de patos de Luisiana, y se examinaron las variables dentro de los rangos normalmente asociados con la superficie del agua. Detectaron diferencias en la temperatura (17°C y 28°C), el pH (6.2, 7.2 y 8.2) y la salinidad (0 ppt y 20 ppt), observando una mayor interacción entre el pH y la salinidad. La persistencia de la infectividad estimada para 1×10^6 DICC de la cepa A/pato moteado/LA/38M/87 (H6N2) fue más larga (100 días) a 17°C/0 ppt/pH 8.2 y más corta (9 días) a 28°C/20 ppt/pH 7.2. Las diferencias en la respuesta a estas variables fueron evidentes entre los virus, la capacidad del virus de influenza tipo A para persistir en la superficie del agua fue también evaluada usando muestras recolectadas de varios hábitats de aves acuáticas en la costa. Las observaciones fueron consecuentes con el sistema modelo ya que la infectividad disminuyó al aumentar la salinidad y el pH, esto sugiere que los resultados experimentales pueden ser aplicables a las condiciones de campo (Stallknecht *et al.*, 1990b).

Los virus de influenza tipo A varían en su respuesta a dichas variables examinadas, para Brown y colaboradores (2009) generalmente los virus son más estables en pH básico [7.4-8.2], bajas temperaturas (<17 °C) y salinidad baja [0-20000 ppm]. Alternativamente, los virus de influenza tipo A tienen menor duración y persistencia en condiciones ácidas (pH<6.6), temperaturas más cálidas (> 32 °C) y salinidad alta (>25000 ppm). Estos estudios sugieren que el pH, la temperatura y la salinidad en ambientes acuáticos naturales, pueden ser determinantes para que el virus de influenza se mantenga infectivo bajo ciertas condiciones ambientales, esto es, las propiedades químicas y físicas del agua pueden facilitar o restringir la transmisión de estos virus en el ambiente de las aves acuáticas (Brown *et al.*, 2009).

Un estudio en Egipto (Abdelwhab *et al.*, 2010) reportó mayor incidencia de casos positivos (40.8% en muestras de mercados de aves acuáticas) durante febrero (el mes más frío), que se concentró principalmente en la región densamente poblada en el delta del Nilo. La prevalencia del virus de influenza tipo A en diversos ambientes naturales se presenta desde agua en estado líquido y sedimento (Lang *et al.*, 2008), hasta medios acuáticos congelados (Hinshaw *et al.*, 1980; Ito *et al.*, 1995; Ip *et al.*, 2008).

En general, se piensa que la asociación de virus con sólidos (materia orgánica en suspensión y sedimento entre otros) puede incrementar su persistencia en ambientes naturales, ofreciendo protección a las enzimas, inactivación por ultravioleta y otros factores degradantes. Algunos virus han sido estudiados desde la perspectiva de la adsorción, entre los que destacan el polio virus, el noro virus, hepatitis A y diversos colífagos, pudiendo ser detectados en agua y sedimento. También se ha sugerido tomar en cuenta la resuspensión y redistribución de los virus en sedimento por disturbios naturales o antropogénicos. Sin embargo, adicionalmente a la temperatura, la radiación ultravioleta y la adsorción a partículas sólidas, la persistencia de virus en agua natural está fuertemente relacionada a su depredación por protozoos o la destrucción por parte de proteasas extracelulares, nucleasas y otras enzimas (Fong y Lipp, 2005).

En estudios recientes, se ha obtenido evidencia de que la persistencia del virus de la influenza tipo A puede ser afectada por factores biológicos. Virus aislados durante la epidemia en aves silvestres en Polonia durante el 2006, fueron evaluados en tres muestras de agua procedentes de fuentes conocidas por albergar aves acuáticas silvestres, con tres temperaturas de prueba (4° C, 10° C y 20° C), las muestras de agua se filtraron antes de la inoculación del virus, y también se evaluó una muestra no filtrada. La persistencia del virus presentó variaciones considerables en función de su concentración y también de acuerdo a los parámetros fisicoquímicos del agua, tales como la temperatura y la salinidad. La supervivencia más alta del virus de la influenza tipo A se observó a los 4° C y la más baja a los 20° C. De manera interesante, se observó un efecto negativo sobre la supervivencia del virus en la fracción no filtrada de agua ya que el virus desapareció de la forma más rápida de entre todas las combinaciones estudiadas, por lo que se sugiere que los factores biológicos pueden afectar también a la infectividad del virus de la influenza tipo A (Domanska-Blicharz *et al.*, 2010).

En México, existe evidencia de que la enfermedad pudo haber estado presente en el occidente del país desde el invierno de 1993, aunque la primer notificación oficial se reportó en 1994 (Montelongo, 1998), por lo que se puso en marcha un programa intensivo de vacunaciones (Romero, 1996). El brote de 1994 causado por la cepa H5N2 del virus de la influenza tipo A altamente patógena (IAAP), propició una mejora de los sistemas de producción avícola intensiva del país. Las medidas adoptadas para el control y la

erradicación aplicadas en ese momento, se basaron en la vigilancia activa, la detección de la enfermedad, el sacrificio sanitario en las granjas infectadas y de todos los posibles contactos (determinados mediante investigaciones epidemiológicas), el aumento de las medidas de bioseguridad y la restricción de los movimientos de aves vivas entre poblaciones, sus productos y subproductos, así como del material infectado. Todo esto permitió erradicar a la IAAP en un plazo relativamente corto (Villarreal, 2009).

Estudios realizados en México, han demostrado la presencia de virus de influenza tipo A subtipo H7N3 (IABP) en anátidos del Estado de México para la zona de la laguna de Chiconahuapan (Cuevas-Domínguez *et al.*, 2009). Otro estudio enfocado en los virus de influenza tipo A y el virus de la enfermedad de Newcastle en un bordo artificial en el Estado de México, evaluó la actividad de los virus mediante patos centinelas, en el estudio se logró aislar un virus de la enfermedad de Newcastle a partir del agua (Barrón, 2009).

Un estudio realizado en 28 humedales de México, detectó la presencia del virus en 7 de los sitios monitoreados, las muestras se obtuvieron de sitios ubicados en las 4 rutas migratorias que pasan por México, con mayor presencia en la ruta centro. El total de muestras analizadas fue de 4,694 para obtener 15 positivas, correspondientes en su mayoría a aves del Orden *Anseriformes* (Soriano, 2009).

Carrillo (2010) encontró que el éxito de lograr un aislamiento está en función de la muestra remitida, encontró que los órganos son la principal fuente de virus, seguidos por los hisopos traqueales e hisopos cloacales. Dicho autor detectó virus de influenza tipo A de baja patogenicidad (IABP) en 8 de las 31 entidades federativas, siendo los estados con mayor prevalencia Veracruz (36.7%), Chiapas (11.4%) y Puebla (8.9%). Se aislaron virus de influenza tipo A (IABP) en aves silvestres como *Tryothonus modestus* (gorrión) y *Tapera naevia* (cuclillo rayado) provenientes de Chiapas.

Adicionalmente, la radiación solar, en particular la radiación ultravioleta B (320 a 280 nm) se reportan como un parámetro importante que afecta la presencia e infectividad viral en agua, y es considerado un parámetro ambiental que debe ser incluido en estudios futuros (Espinosa *et al.*, 2009).

Estamos apenas comprendiendo los factores ambientales que afectan la infectividad y presencia de estos virus en los ecosistemas. Debido a que el ambiente puede proveer un puente para la transmisión del virus entre diversos hospederos, entender la importancia de la transmisión ambiental e identificar los puntos de contacto son los pasos críticos para prevenir la dispersión de la infección (Stallknecht y Brown, 2009; Stallknecht *et al.*, 2010).

Bioseguridad, biovigilancia y la evaluación de riesgos

Los resultados de un estudio realizado en Suiza (Baumer *et al.*, 2010) demuestran que una amplia selección de subtipos diferentes del virus de la influenza tipo A circulan simultáneamente entre las poblaciones de aves acuáticas en los hábitats silvestres. A nivel mundial, países como Indonesia y Egipto han declarado oficialmente la enfermedad como endémica ante la Organización Mundial de Sanidad Animal, mientras que otros han utilizado diversos enfoques dedicados a la contención, control y erradicación del virus. Estos enfoques han logrado un éxito relativo y variable, en el año 2009 algunos países que anteriormente se habían declarado libres de la influenza tipo A altamente patógena sufrieron reinfecciones. Además, el virus siguió detectándose ampliamente en las poblaciones de aves silvestres, incluso en ausencia de brotes en la avicultura local (Brown, 2010).

Históricamente la biovigilancia se ha relacionado con la detección, notificación y registro de los efectos que se producen en alguno de los procesos implicados durante la fabricación o trasplante de tejidos (CSC, 2008), así como con el establecimiento, desarrollo y aplicación de planes de seguimiento de variedades modificadas genéticamente o transgénicas introducidas en los ecosistemas naturales, así como la coexistencia entre cultivos con organismos genéticamente modificados y los cultivos convencionales y ecológicos (MAPA, 2003). Por otro lado, la biovigilancia también es un proceso persistente que nos permite detectar y caracterizar brotes de enfermedades. Revisar el ambiente en busca de agentes, involucra las tareas de coleccionar, procesar y analizar sistemáticamente la información recabada para así identificar las condiciones ambientales que son propicias a la enfermedad (Whitworth *et al.*, 2007).

En lo referente a la potabilización del agua, el concepto de Evaluación del Riesgo Microbiano Cuantitativo se emplea en la industria dedicada al desarrollo de tecnologías para la desinfección de agua, y requiere de datos cuantitativos sobre la inactivación o remoción de microorganismos patógenos mediante procesos de tratamiento. La radiación ultravioleta se ha empleado con éxito para eliminar microbios del agua, sin embargo algunos virus son poco sensibles a este tipo de tratamiento (Hijnen *et al.*, 2006).

Además de las aves, el virus de influenza tipo A puede ser excretado en las heces de los mamíferos infectados, potencialmente podría entrar a los sistemas de alcantarillado y diseminarse de esta manera, se ha aislado al virus de las heces de humanos con cuadros de diarrea, sin embargo, la información sigue siendo limitada como para que esto represente una pandemia humana en el futuro (WHO, 2007).

Un requisito para ejecutar medidas preventivas con respuestas adecuadas ante casos de mortandad e identificar la epizootiología de las diversas enfermedades emergentes, se apoya en obtener una comprensión apropiada del estado de salud de las poblaciones que residen en un ecosistema, lo cual puede alcanzarse mediante la implementación de un sistema de biovigilancia. Los países que ponen en marcha este tipo de sistemas, tienen la posibilidad de comprender mejor la epizootiología precisa de las enfermedades infecciosas y de las zoonosis que causan, por lo que están mejor preparados para reaccionar y proteger la salud de los organismos silvestres, los organismos domésticos y las poblaciones humanas mediante la mejor toma de decisiones posible (Whitworth *et al.*, 2007).

VII. Justificación

En el ambiente acuático, pueden existir cantidades significativas de diversas especies de virus capaces de persistir el tiempo necesario y en concentraciones suficientes como para poner en riesgo la salud pública y la salud animal por consumo de esta agua (WHO, 2007). Desarrollos recientes en la aplicación de ensayos moleculares sensibles, han incrementado el conocimiento sobre virus como contaminantes ambientales, por lo que se han realizado más estudios sobre su detección y prevalencia en diferentes medios alrededor de todo el mundo (Ramos *et al.*, 2008).

Sin embargo, aún existen pocos datos respecto al agua de muestras ambientales y la persistencia en ella de virus potencialmente patógenos al hombre. Se sabe por ejemplo que diversos virus reducen su número con la presencia de cloro libre (Abad *et al.*, 1997). Otros estudios han verificado la inactivación mediante el pH, de diferentes tipos de virus (patógenos al ser humano) encontrados en medios acuáticos. Dichos virus persisten por más tiempo en agua lacustre y por menor tiempo en agua de grifo. La reducción en la tasa de infectividad se correlaciona con el pH del agua, por lo que el pH puede influir en la agregación viral, haciendo más susceptibles a los virus (Pancorbo *et al.*, 1987). En México, investigadores de los Institutos de Ecología y Biotecnología de la UNAM confirmaron que la persistencia de rotavirus y astrovirus en agua superficial y subterránea se relaciona con la presencia de bacterias y factores extrínsecos como la temperatura y la luz, pero que la infectividad de ambos es mayor a la reportada con anterioridad en agua clorada según la norma oficial mexicana (Espinosa *et al.*, 2008).

En ecosistemas de clima templado y tropical, factores como la lluvia y los cambios significativos en la temperatura de una estación a otra, contribuyen a la presencia de virus peligrosos para los humanos (como los virus que se replican en los intestinos) en agua empleada para irrigación de zonas rurales que colindan o pertenecen ya a los grandes centros urbanos (Espinosa *et al.*, 2009). En nuestro país, la cantidad de estudios enfocados a la ecología de virus presentes en sistemas acuáticos, demuestra que si bien el número de investigadores dedicados al tema se ha incrementado, debemos atender el tema con mayor seriedad y de forma oportuna asignando más recursos, sobre todo humanos. Si consideramos a la enfermedad en una comunidad de especies como una alteración del ecosistema, se puede emplear el enfoque del concepto de especies bioindicadoras para

obtener información relevante y poder monitorear con precisión la epizootiología de dicha enfermedad (Hernández, 2010). El brote atípico de H1N1/2009 que sufrimos en México durante abril y mayo de 2009 repercutió negativamente en diversos ámbitos de la vida nacional como la salud pública (Basurto, 2009; Campos, 2010), el comercio y el turismo (Sosa, 2010; Barrera, 2010).

La presente investigación tiene la finalidad de aportar datos sobre la ecología del virus de influenza tipo A desde una perspectiva ambiental, lo cual ayudará a determinar la influencia de los factores del entorno con la prevalencia y la expresión de la enfermedad en las aves acuáticas que arriban a la zona estudiada, ya que en estudios anteriores se han logrado aislar virus (en pocos individuos debido a la baja prevalencia de la enfermedad) a partir de las aves provenientes de Estados Unidos y Canadá (países donde el virus es común) capturadas en algunos humedales del centro del país, incluyendo la zona neártica de Lerma (Cuevas-Domínguez *et al.*, 2009; Barrón, 2009; Soriano, 2009), estudios en los cuales no se midieron las condiciones hidrológicas del ambiente al momento de aislarlos, por lo que el presente estudio complementa una parte de lo que los epidemiólogos denominan el modelo de la triada o triángulo epidemiológico: el hospedero, el agente y el ambiente (Timmreck, 2002); de los cuales el agua ha sido el menos estudiado.

Estas investigaciones multidisciplinarias que incluyen a biólogos, veterinarios, químicos, médicos, ingenieros y a otros profesionistas, son fundamentales para obtener datos y diseñar las herramientas necesarias, no solo para la toma de decisiones durante una contingencia sanitaria, sino para iniciar la investigación científica que genere nuevo conocimiento del tema, abriendo nuevas líneas de investigación, como la virología acuática y la ecología de virus. La contribución principal del estudio será la de aportar datos sobre las condiciones fisicoquímicas del agua *in situ*, durante el aislamiento del virus en un bordo artificial con aves acuáticas migratorias en el Estado de México.

VIII. Preguntas de investigación

1. ¿Cuáles son las condiciones fisicoquímicas del agua cuando se aísla el virus de influenza tipo A?
2. ¿Qué otras variables además del pH, la temperatura y la salinidad pueden influir durante el aislamiento del virus en el medio acuático?

IX. Objetivos

General

Determinar las condiciones fisicoquímicas del agua presentes durante el aislamiento del virus de influenza tipo A en el bordo las Maravillas del Estado de México.

Específicos

1. Verificar las variables hidrológicas relevantes para la actividad del virus (pH, salinidad y temperatura) y del sedimento en el sitio durante la estancia de los patos silvestres migratorios.
2. Aislar al virus de influenza tipo A procedente de muestras ambientales de agua del bordo durante la estancia de los patos silvestres migratorios.

X. Área de estudio

El área de estudio se localiza en la región centro del país (figura 4), al noroeste del Estado de México (figura 5) y pertenece a la cuenca Lerma-Chapala-Santiago, que compete a la región hidrológico-administrativa VIII en el centro-occidente del país (CNA, 2009), es un cuerpo artificial de agua llamado el Bordo las Maravillas que esta denominado como una UMA por la SEMARNAT y se encuentra bajo la administración de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM). Tiene una altitud de 2,600 msnm, con ubicación geográfica en las coordenadas 19°24'26.71"N, 99°41'30.71"W dentro de las instalaciones del Campus El Cerrillo - Piedras Blancas de la misma UAEM, en el municipio de Toluca (figura 6). El bordo tiene una forma regular y se encuentra protegido por una malla ciclónica, tiene una superficie de 16.59 ha, con un perímetro de 1,577 m y una profundidad media de 70 cm (Quezada, 2004), el área del espejo varía según la época del año debido a la evaporación. El clima predominante en la zona es Cb (w₂)(w)(i)g, templado con lluvias en verano, con una temperatura media anual de 12.6 °C, presencia de heladas y precipitación promedio anual de 878.4 mm (López *et al.*, 2007). La visibilidad (distinción de objetos a distancia) es buena, con un promedio en el sitio de 8.8 en la escala (anexo figura 37).

Los datos sobre la construcción del bordo no se encuentran bien documentados. Los lugareños aseguran que se construyó hace varias décadas, cuando el bordo pertenecía a una hacienda que ocupaba los terrenos de la actual UAEM y que posteriormente fueron donados a la misma. Existe una referencia al bordo las Maravillas en la base de datos CNAR (Colección Nacional de Anfibios y Reptiles) del Instituto de Biología de la UNAM, en donde la rana *Hyla eximia* se encuentra registrada en una colecta del año 1932 realizada en el mismo bordo (IB-UNAM-CNAR, 2005).

Existe un canal en la parte media del borde suroeste que funciona como aporte externo de agua al sistema, en el que se ha detectado la presencia de aguas grises, además el bordo nunca se ha desazolvado completamente. El bordo está delimitado al noreste por las Facultades de Medicina Veterinaria y Agronomía, al sureste por la Avenida Independencia Poniente, y al suroeste y noroeste por campos experimentales de cultivo pertenecientes a la misma UAEM (figura 6).



Figura 4. Ubicación del área de estudio (recuadro amarillo) en la República Mexicana (CONABIO).

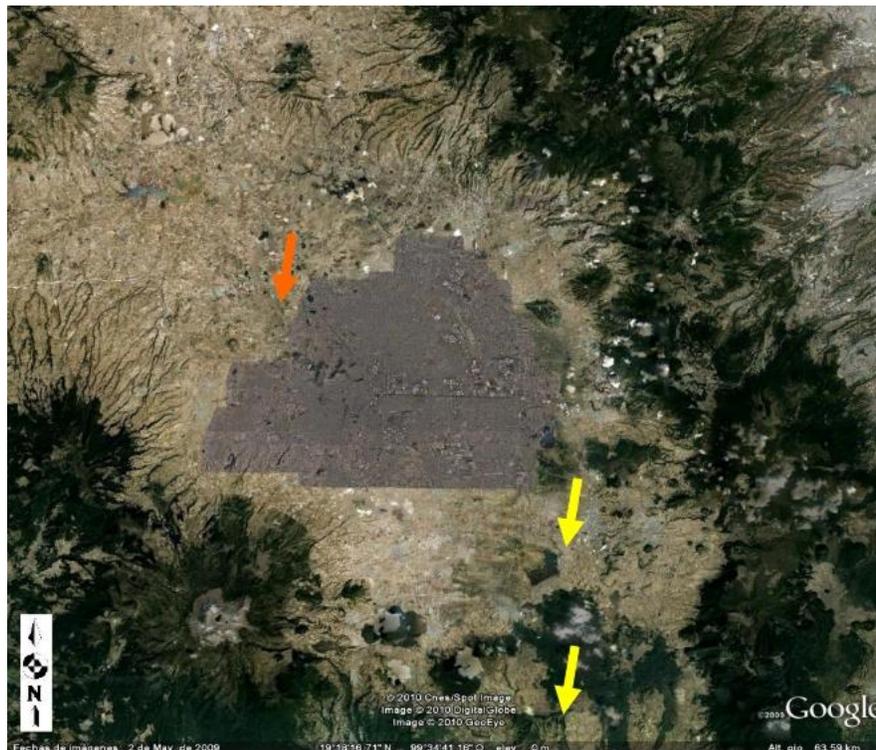


Figura 5. Cuenca de Lerma. Imagen de Google Earth v5.1 que muestra parte de la fragmentación de las ciénagas de Lerma (flechas amarillas) y el área de estudio (flecha anaranjada).



Figura 6. Bordo las Maravillas, Estado de México (Google Earth v5.1).

El dique que lo rodea posee una cubierta arbórea de sauces llorones (*Salix babylonica*), cubriendo aproximadamente el 100% del borde noreste, 81% en el sureste, 64% en el noroeste y 31% en el suroeste. La vegetación acuática emergente que domina en el bordo está conformada por *Scirpus sp.* (Cyperaceae) y *Typha latifolia* (Typhaceae) (Quezada, 2004).

Las familias florísticas más representativas en el área de estudio son Asteraceae y Poaceae con el mayor número de especies identificadas, representan un porcentaje de 33.6% con respecto al total. En el lugar se encuentre la especie *Sagittaria macrophylla* Zucc., reportada bibliográficamente como una especie en peligro de extinción en el valle de México por Rzedowski (López *et al.*, 2007). Los géneros más representativos son *Bidens*, *Dalea* y *Rumex* con 3.2% cada uno. Las hierbas anuales y perennes representan el más alto porcentaje con 79.6% de las especies reportadas, son la forma biológica más común de la zona. El otoño es la época del año con mayor floración (47.7%), de acuerdo a las especies reportadas. La vegetación secundaria es el tipo dominante en el área de estudio con 95.6%,

ya que es un área dedicada a la agricultura y desde hace varios años ha sido modificada constantemente por el hombre (López *et al.*, 2007).

Entre las especies de aves locales tenemos a *Dendrocygna autumnalis*, *Dendrocygna bicolor* y *Anas diazi*. Durante la época invernal arriban a la zona de Lerma y al bordo patos migratorios de diversas especies, provenientes de Canadá y los Estados Unidos, como lo son las especies *Anas strepera*, *A. cyanoptera*, *A. acuta*, *A. discors*, *A. crecca*, *A. clypeata* y *A. platyrhynchos diazi* (Quezada, 2004).

Durante la época de cacería (noviembre a febrero), el Bordo las Maravillas alberga una importante concentración de aves acuáticas que buscan protección. La llegada de las aves ocurre generalmente a finales de septiembre y a principios de octubre, en cantidades aproximadamente de 100 individuos y aumenta la población total de aves hasta los 5,000 entre noviembre y febrero, para luego regresar gradualmente a Estados Unidos y Canadá en marzo o abril. Las aves migratorias se suman a las especies nativas y en total llegan a ser unos 7,000 individuos (comunicación personal con el Dr. Gary García, FMVZ-UNAM).

Debido al contexto ecológico que presenta el bordo, conformado por la vegetación (acuática y terrestre), la fauna (con especies locales y migratorias), la disponibilidad de agua, el tipo y uso de suelo adyacente, el humedal se puede clasificar mediante los criterios del INH-DER como sistema palustre estacional, clase humedal emergente persistente/no persistente, con tipo dominante de ciénaga.

El bordo cuenta con vigilancia por parte de protección civil y de la UAEM, además, si se tramitan los permisos correspondientes, se permite acampar y pasar la noche junto al dique. El área de estudio es uno de los pocos humedales de esta zona en el Estado de México en donde no se permite la actividad cinegética, por ello lo consideramos un lugar seguro para realizar investigaciones de este tipo. Sin embargo, se ha reportado (por parte de los trabajadores del campus) que cazadores y pescadores se llegan a introducir al bordo sin permiso para extraer ejemplares (aves y peces), sobre todo durante los fines de semana o en la época de vacaciones.

XI. Metodología

Las mediciones de los parámetros fisicoquímicos y las muestras de agua se tomaron en el bordo los días lunes entre las 7:30 y 11:00 horas, en forma quincenal desde noviembre de 2009 hasta febrero de 2011, con una lancha de fibra de vidrio o una de lámina metálica. La Figura 7 contiene los sitios de muestreo, identificados de B1 a B8. El horario se eligió así debido a que después de dormir, las aves presentan gran actividad por la mañana (buscan comida y defecan) y después de una infección excretarían gran cantidad de virus durante las primeras horas (Carranza, 2010), lo que proporciona nuevas ventanas de infección.



Figura 7. Sitios de muestreo para la evaluación de parámetros ambientales. La imagen presenta los 6 puntos definidos para el muestreo de los parámetros fisicoquímicos del agua (B1a B6), el punto B7 (cercano al canal de entrada y al centro del bordo) y el punto B8 (canal de salida) al noreste se incluyeron junto con los 6 anteriores (B1-B6) para el análisis de sedimento.

Parámetros ambientales del agua y batimetría

Con la finalidad de obtener un marco ambiental del sistema estudiado lo más completo posible, se midieron los parámetros ambientales considerados más relevantes para

la prevalencia del virus (durante la mañana) en el medio acuático como la temperatura, el pH, la conductividad, la salinidad (todos estos medidos con un potenciómetro Hanna modelo HI991301) y la concentración de oxígeno disuelto (oxímetro Hanna modelo HI-9146), tanto del agua en la superficie (primeros 10 cm) como a 1 m de profundidad o menos, según la profundidad de cada sitio (B1-B7) en cada época del año. Las mediciones se realizaron en los mismos horarios y periodos que la toma de muestras de agua superficial (las muestras fueron obtenidas antes de medir los parámetros ambientales).

La profundidad en varios sitios fue determinada con una sonda portátil (Hondex PS7) para realizar una batimetría inicial del bordo, incluyendo las mediciones de los 6 puntos de estudio (B1-B7), los datos alimentaron al generador de contornos y modelo de alambres del programa Surfer 8 (Golden Software, Colorado EUA). La batimetría nos permitió visualizar y comprender mejor la dinámica de los parámetros ambientales que se puedan relacionar con el relieve de las zonas sumergidas, además de identificar las zonas con menor profundidad en donde la remoción del sedimento por parte de las aves acuáticas podría tener mayor repercusión en la resuspensión de los virus presentes en el fondo del bordo. También se midió la transparencia en la columna de agua para cada punto de muestreo mediante un disco de Secchi (25 cm de diámetro). Todos los puntos de muestreo fueron georeferenciados mediante un GPS marca GARMIN (GPS 60), con las coordenadas geográficas (grados, minutos, segundos), para posteriormente trabajar con una imagen satelital de Google Earth v.5.2.

Índice del Estado Trófico (IET)

Con los datos de la transparencia del disco de Secchi (DS), los datos de nutrientes como el fósforo total (FT) y el nitrógeno total (NT), y la ecuación de Carlson (Carlson, 1977), se estimó el Índice del Estado Trófico (IET o TSI) en el sistema.

Determinación de nutrientes

Se colectaron en los puntos B2, B3 y B4 muestras de agua en botellas plásticas de 20 ml, se transportaron almacenadas en una hielera al laboratorio de Biogeoquímica acuática del ICMYL-UNAM, para realizar la evaluación de nutrientes totales en el sistema mediante un auto analizador de flujo segmentado marca Skalar modelo San-plus, lo cual nos permitió caracterizar de una forma más completa la zona de estudio.

Calidad del agua: evaluación de coliformes

El agua para el análisis de coliformes (fecaes y totales) se extrajo del bordo con botellas de cristal estériles de 250 ml (Corning), fueron llenadas a 2/3 de su capacidad al nivel de la superficie del bordo en los 3 sitios internos (B2, B3 y B4, figura 7). Los sitios se encuentran en la zona protegida por la mayor densidad de vegetación (tule) y por lo tanto cuentan con las mayores concentraciones de aves acuáticas dentro del bordo. Las muestras fueron colocadas en hielo para su traslado al laboratorio del CIRA-UAEM. Estas muestras se procesaron mediante la técnica del número más probable (NMP) según la Norma Oficial Mexicana (NOM-112-SSA1-1994 para el análisis sobre la presencia de coliformes fecales). La técnica del NMP es un método estadístico basado en la fermentación de la lactosa para enumerar bacterias, conformado por ensayos con las fases de presunción, confirmación y conclusión. En el ensayo, se inoculan diluciones seriadas de una muestra en medios de caldo (Feng *et al.*, 2002).

Caracterización del sedimento

Se realizaron extracciones de sedimento mediante un cava hoyos (Truper) en cada sitio de estudio del bordo (los 6 sitios B1-B6 y otros 2 recomendados por el Dr. Gilberto Vela Correa de la UAM Xochimilco, uno denominado B7 cercano a la compuerta de entrada y otro denominado B8 en la compuerta de salida, para un total de 8 sitios) durante la época seca (abril) y en invierno (febrero), con la finalidad de caracterizar las propiedades que pueden afectar el pH y la salinidad en la columna de agua, el sedimento se colocó en bolsas negras y hielo para su transporte. Las muestras de sedimento se secaron durante una semana en un invernadero cerrado (UAM Xochimilco) para evitar su contaminación.

Los análisis realizados fueron: i) reacción del suelo: pH (método AS-02), ii) materia orgánica (método AS-07), iii) color y iv) capacidad de intercambio catiónico (CIC). Las pruebas se contemplan en la NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de muestreo, estudio y clasificación de suelos en México.

Aislamiento viral a partir del agua superficial

Agua superficial del bordo. El agua para inocular a los embriones y aislar posteriormente al virus, fue colectada en la superficie (primeros 5 centímetros), por triplicado para cada uno de los 8 sitios marcados en la figura 8 (V1-V8), para un total de 24

tubos, mediante pipetas de transferencia de 2 ml (Simport) y almacenada en tubos para microcentrífuga de 1.7 ml (Safeseal, Sorenson Bioscience). Los sitios fueron elegidos debido a que en ellos se presentó una mayor densidad y actividad de las aves.



Figura 8. Sitios de muestreo para aislar virus. La imagen presenta los 8 puntos (V1-V8) definidos para la colecta de agua a partir de la cual se analizó la presencia de virus en el bordo. Los cinco puntos marcados con la letra E (E1-E5) corresponden a los sitios empleados para el conteo de aves.

Durante el viaje de regreso a la Ciudad de México (hora y media de recorrido aproximadamente) los tubos se almacenaron en una hielera con bolsas de refrigerante congelado (de 4 a 5 °C).

Al llegar al laboratorio BSL3-FMVZ, el agua fue centrifugada en los mismos tubos a 12,000 g durante 3 minutos (centrifuga refrigerada Heraeus). El sobrenadante se transfirió a otros 24 tubos tipo Eppendorf de 1.5 ml y se les agregó PBS con un antimicrobiano para eliminar hongos y bacterias (volumen/volumen) con la finalidad de dejar únicamente a los virus, para tal efecto se añadió a cada tubo 13 µl de antibiótico-antimicótico conteniendo penicilina G sódica 10 000 UI/ml, estreptomicina 10 000 µg/ml y anfotericina B 25 mg/ml

(GIBCO, Invitrogen Corp.), las muestras se dejaron reposar durante 2 horas a temperatura ambiente para permitir la actividad de los antimicrobianos.

Inoculación y cosecha del líquido alantoideo. Se utilizó la técnica descrita por Senne (2008). El mismo día de la colecta de agua, se revisaron y marcaron mediante un ovoscopio los embriones necesarios para inocular las muestras, por sitio se emplearon 4 embriones de pollo libres de patógenos específicos de 9 días de edad (ALPES II de industrias ALPES¹), los cuales fueron inoculados vía cavidad alantoidea con 200 µl de agua del bordo tratada con antimicrobianos mediante jeringas de 1 ml (Plastipak BD). Los embriones se incubaron a 37.7°C y 55% de humedad relativa (incubadora River Hatchery Systems) y se ovoscopiaron diariamente para detectar mortalidad durante las primeras 72 hrs postinoculación. Los embriones muertos en las primeras 24 hrs posteriores a la inoculación fueron evaluados para descartar contaminación bacteriana, el procedimiento consistió en evaluar el color del líquido alantoideo extraído y si este resultaba ser claro (sin contaminación bacteriana), se sembraba en placas de gelosa sangre para identificar contaminación por colonias bacterianas, de otra forma se desechaba conforme a los lineamientos del laboratorio. El líquido alantoideo se recolectó mediante jeringas de 10 ml (Plastipak BD) a partir de los embriones muertos a partir de las 48 hrs y de los vivos hasta las 72 hrs postinoculación para realizar la prueba de hemoaglutinación (HA).

Prueba de Hemoaglutinación (HA)

La reacción de hemoaglutinación fue descrita en 1941 para el estudio de virus por Hirst y McClelland-Hare. La prueba tiene un valor tanto teórico como práctico al proporcionarnos un método relativamente rápido y sencillo para detectar y valorar cuantitativamente (Vera, 1995). En una placa con pozos en V (Costar) se colocaron mediante las mismas jeringas de recolección, dos gotas (25 µl aproximadamente) del líquido alantoideo de cada embrión inoculado para aislamiento. Se agregaron 25 µl de eritrocitos de pollo lavados con PBS (1x) a una concentración del 1%. Se cubrió la placa (cubre placas Platemax) y se homogeneizó la mezcla con movimientos giratorios suaves por 5 segundos, se dejó reposar y después de 30 minutos se observó la hemoaglutinación con base a la NOM-044-ZOO-1995.

¹ Industrias ALPES, Norte 416 Tehuacán, Puebla, CP 75700, México

A las muestras que resultaron positivas en la prueba de hemoaglutinación se les realizó un segundo pase (otra inoculación en embriones con su respectiva prueba de HA), las que resultaron nuevamente positivas fueron sometidas a una prueba rápida de inmuno-migración (*Flu Detect*, *Synbiotics Corporation*, San Diego, California, EEUU), en la cual se realiza un inmunoensayo dirigido a las nucleoproteínas del virus para identificar si el virus hemoaglutinante es un virus de influenza tipo A. Los virus del segundo pase positivos a la hemoaglutinación y al inmunoensayo fueron entregados al Laboratorio de Fiebre Aftosa y Otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA) de la SAGARPA para la subtipificación y pruebas de patogenicidad correspondientes.

Adicionalmente, por cada muestra de agua del bordo (24 en total) se sembró en cajas de Petri con medio de cultivo gelosa-sangre (GS), 1 μ l (asas bacteriológicas de aro desechables y calibradas marca COPAN) de agua tratada con los antimicrobianos (del mismo stock con el que se inoculó a los embriones para amplificar al virus) y 1 μ l del agua sin tratar (solo centrifugada) como control, con la finalidad de conocer el grado de la contaminación bacteriana (carga) en el lugar y verificar el funcionamiento de los antimicrobianos.

Todos los procedimientos antes descritos fueron realizados en un Gabinete de seguridad Biológica clase II de la marca NUAIRE tipo A/B3.

Densidad de aves

Se llevaron a cabo observaciones de aves (locales y migratorias) en el bordo de forma paralela durante los muestreos de agua, con la finalidad de conocer la dinámica de las aves en el sitio.

Para realizar la identificación de especies presentes y estimar la abundancia de las mismas (en particular *Anseriformes*), la metodología consistió en realizar conteos por puntos (Crees, 2004), se caminó alrededor del dique del bordo desde la esquina norte hasta la esquina sur del mismo (figura 8), cubriendo prácticamente todo el espejo de agua mediante 5 estaciones (E1-E5) por 10 minutos de observación en cada una. Se emplearon para ello binoculares (10x42) y guías de observación de campo (Peterson y Chalif, 1989; *National Geographic Society*, 2006), adicionalmente se grabaron las observaciones en una

videocámara digital (Sony Handycam mini DV) como documento de apoyo. El trabajo fue llevado a cabo por el servicio social de la FMVZ-UNAM Mónica Yadeun de Antuñano, con la asistencia del M.V.Z. Arturo Hernández Colina.

Infraestructura y recursos materiales

El aislamiento del virus de influenza se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioseguridad Nivel 3 (BSL3) del Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, a cargo del Dr. Gary García Espinosa. La determinación de la patogenicidad del virus aislado se llevó a cabo en el Laboratorio de la Comisión México-Estado Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA) del SENASICA/SAGARPA.

La evaluación de nutrientes totales se determinó mediante el apoyo del hidrobiólogo Sergio Castillo Sandoval, miembro del laboratorio de Biogeoquímica Acuática, a cargo del Dr. Martín Merino Ibarra, perteneciente al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM.

La calidad del agua (evaluación de coliformes fecales y totales) se realizó mediante el apoyo del Laboratorio de Calidad del Agua perteneciente al Centro Interamericano de Recursos del Agua (CIRA), perteneciente a la UAEM-FI (CIESA) a cargo de la M. en C. Guadalupe Vázquez Mejía.

El análisis de las muestras de sedimento se hizo en el Laboratorio de Edafología, adscrito al Departamento de El Hombre y su Ambiente (DEHA), perteneciente a la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, a cargo del Dr. Gilberto Vela Correa.

XII. Resultados

Profundidad

El bordo recupera su volumen de agua durante la época de lluvias; por los aportes de ríos, arroyos y canales durante el estiaje. En febrero y agosto inicia la extracción de agua para utilizarla en el riego de los campos de cultivo, la extracción se realiza mediante un canal localizado en la cara este (figura 8). El bordo recibe aguas grises, mediante un canal al oeste (figura 8) durante el llenado. Los cambios de profundidad por sitio se muestran en la figura 9, se aprecia que los sitios B3 y B4 son los más someros, llegando a menos de 10 cm en el estiaje; B1 es el más profundo. Las líneas no son idénticas, ya que si bien se empleó un GPS, existen variaciones en las lecturas por la precisión del aparato (3 a 15 m).



Figura 9. Profundidad por sitio en el bordo las Maravillas. Los cambios se deben al régimen de vaciado y llenado en el bordo. El sitio más somero fue el B3 (0.38 m), el más profundo el B1 (1.19 m).

En la figura 10 se presenta la profundidad media ($Z=0.8$ m) registrada durante los muestreos en el bordo, la cual resultó mayor a la profundidad media reportada por Quezada en 2004 ($Z=0.7$ m). Otros humedales en la zona sur de las ciénagas de Lerma tienen profundidades similares, como la laguna de Chignahaupan, con promedios de entre 0.5 m y 0.7 m (Quezada, 2009), cuando estas ciénagas promediaban entre 1 y 2 m en 1980 (LICA, 1984). La variación en el bordo es el resultado del patrón de lluvias en la zona, el régimen de vaciado-llenado, la cantidad de agua requerida para el riego, la evaporación y la

filtración por sus paredes. Se aprecian los meses en los que se registraron las menores profundidades, abril y el periodo noviembre-diciembre, este último además de durar más tiempo, tuvo un intervalo mayor en su vaciado previo, desde mayo a octubre de 2010. Comparando los tiempos de llenado, el correspondiente a noviembre-diciembre también fue mayor, debido a que el llenado inició desde el mismo noviembre, pero se estuvo extrayendo agua para riego de forma constante hasta finales de diciembre, así como entraba agua, un volumen similar salía. En enero de 2011 el bordo recuperó su volumen.



Figura 10. Profundidad media por muestreo en el bordo las Maravillas ($Z=0.81$ m). El bordo se vació en marzo y se llenó en abril (2010); el siguiente vaciado duró casi 6 meses, su llenado duró 3 (enero 2011).

Batimetría

La batimetría generada con los datos de profundidad mediante el programa Surfer 8 (figura 11), muestra que existe una pendiente que afecta la forma en que la materia orgánica y el sedimento se distribuyen en el área del fondo, provocando una corriente (casi imperceptible) que fluye desde el canal de entrada (punto B7) en dirección del canal de salida (punto B8), efecto en el que también influyen las islas de tule. La figura también muestra el por qué de la distribución de las aves alrededor de los puntos B3 y B4 (cerca al centro norte), ya que esta zona es la más somera y protegida por el tular. La batimetría también es afectada por la vegetación muerta que constantemente se añade al bordo, tanto desde las orillas (vegetación terrestre y árboles muertos) como desde las islas de tule (de donde se desprenden grandes trozos de tular que con el tiempo se hunden).

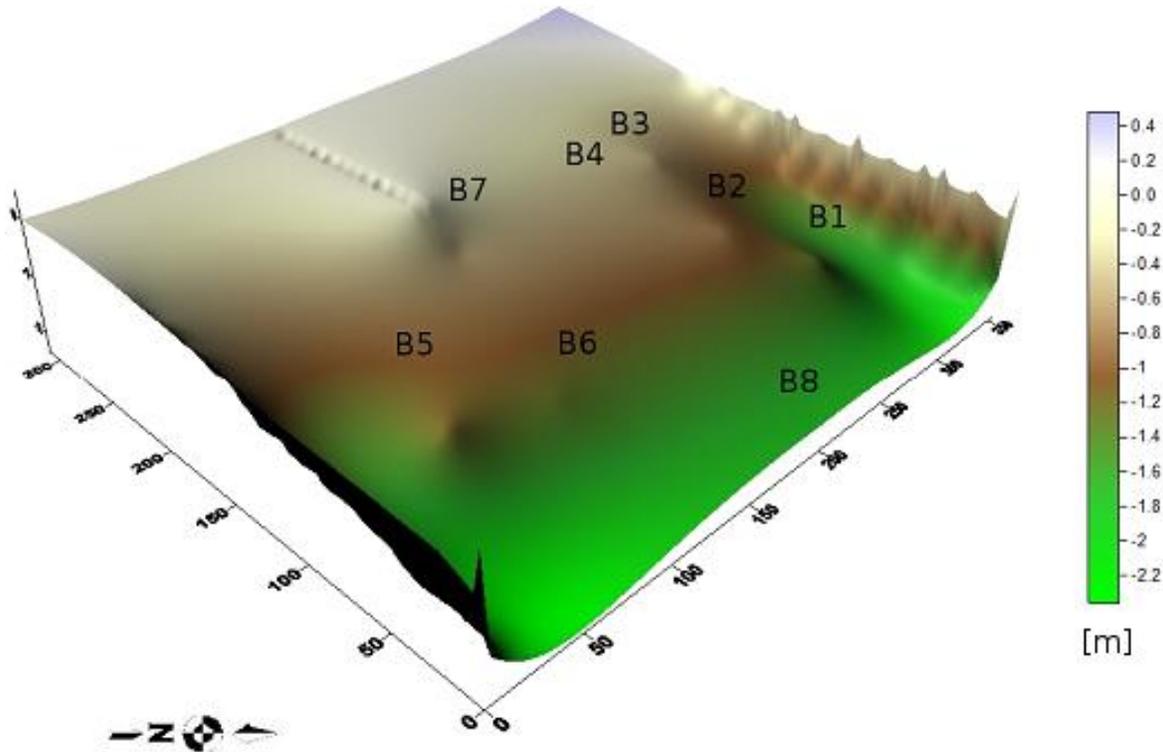


Figura 11. Batimetría del bordo las Maravillas. Los 8 puntos de muestreo (B1-B8) se encuentran rodeando al centro del bordo, que presenta una gran densidad de tule, B7 es un sitio cercano a la boca del canal de entrada, también se aprecia en la zona más profunda (en color verde) una depresión que representa la salida al canal de riego en el punto B8 (embarcadero). El color azul representa terreno sobre la superficie, el gris a la superficie del agua con 0 m, mientras que el color verde representa el fondo (escala en metros mostrada a la derecha). Los ejes xyz se encuentran en metros, sin embargo el eje z (profundidad) se encuentra exagerado para apreciar los detalles. El norte está indicado por la flecha en la parte inferior izquierda de la imagen.

Transparencia

La transparencia resultó oscilatoria (figura 12), el fenómeno se explica mediante: A) la importación de materia orgánica al sistema (por las aguas grises que entran durante el llenado del bordo, y en menor medida, por el excremento de las aves, la vegetación y otros organismos que caen al agua); B) la producción primaria del sistema (relacionada con el inciso anterior); C) la resuspensión del sedimento debido al régimen de vaciado-llenado y al viento. La figura 13 ilustra la transparencia promedio (Transp=0.6m), valor consistente para humedales eutrofizados, con gran cantidad de nutrientes y poco oxigenados (Vásquez *et al.*, 2006). El valor fue mayor al de otros humedales de Lerma con promedios de 0.2m (Arroyo-Bustos *et al.*, 2008), al del lago de Chapala con 0.3m (Ramírez *et al.*, 2007) y a la presa el Abrevadero en el estado de Morelos con 0.4m (Quiroz *et al.*, 2010).



Figura 12. Transparencia por sitio (B1-B6) en el bordo las Maravillas. Los puntos 3 y 4 se excluyeron de las mediciones debido a su bajo nivel de agua, en donde el disco de Secchi fue siempre visible.



Figura 13. Transparencia promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas (Transp = 0.6 m).

Índice del Estado Trófico

Con los datos de transparencia del disco de Secchi (DS en metros), el fósforo total (FT, figura 28) y el uso de las ecuaciones (1 y 2) de Carlson para DS y FT, se calculó el Índice del Estado Trófico (IET) del sistema (Carlson, 1977), con la nomenclatura (atributos) de Kratzer y Brezonik (1981). El sistema es muy productivo con tendencia a la hipereutrofización, los datos del fósforo total son más confiables, ya que el DS tiende a

subestimar los atributos resultantes. Con los datos del nitrógeno total (NT, figura 29) y su ecuación respectiva (Kratzer y Brezonik, 1981), el sistema también resultó estar hipereutrofizado (anexo tabla 5).

$$\text{IET (SD[m])} = 60 - 14.41 \text{ Ln (SD[m])} \quad (\text{ecuación 1})$$

$$\text{IET (FT)} = 14.42 \text{ Ln (FT)} + 4.15 \quad (\text{ecuación 2})$$

Fecha	DS [m]	IET-DS	Atributo DS	FT [µg/L]	IET-FT	Atributo FT
07/12/09	0.58	67.8	eutrófico	1992	113.7	hipereutrófico
11/01/10	0.66	66.0	eutrófico	2448	116.7	hipereutrófico
08/02/10	0.70	65.1	eutrófico	2527	117.1	hipereutrófico
22/02/10	0.45	71.5	eutrófico	72018	165.4	hipereutrófico
08/03/10	0.49	70.3	eutrófico	8792	135.1	hipereutrófico
22/03/10	0.34	75.5	eutrófico	3226	120.6	hipereutrófico
05/04/10	0.25	80.0	hipereutrófico	3108	120.1	hipereutrófico
26/04/10	0.53	69.1	eutrófico	3512	121.9	hipereutrófico
17/05/10	0.40	73.2	eutrófico	3943	123.5	Hipereutrófico
31/05/10	0.50	70.0	eutrófico	15542	143.3	Hipereutrófico
21/06/10	0.35	75.1	eutrófico	5681	128.8	Hipereutrófico
12/07/10	0.30	77.3	eutrófico	4999	127.0	Hipereutrófico
02/08/10	0.36	74.7	eutrófico	4168	124.3	Hipereutrófico
16/08/10	0.56	68.4	eutrófico	4353	125.0	Hipereutrófico
23/08/10	0.66	66.0	eutrófico	4841	126.5	Hipereutrófico
30/08/10	0.73	64.5	eutrófico	4164	124.3	Hipereutrófico
06/09/10	0.78	63.6	eutrófico	4230	124.6	Hipereutrófico
20/09/10	0.86	62.2	eutrófico	4198	124.4	Hipereutrófico
04/10/10	0.85	62.3	eutrófico	4120	124.2	Hipereutrófico
11/10/10	0.81	63.0	eutrófico	4293	124.8	Hipereutrófico
25/10/10	0.70	65.1	eutrófico	4680	126.0	Hipereutrófico
09/11/10	0.61	67.1	eutrófico	4750	126.2	Hipereutrófico
22/11/10	0.40	73.2	eutrófico	3734	122.8	Hipereutrófico
29/11/10	0.55	68.6	eutrófico	3071	119.9	Hipereutrófico
06/12/10	0.59	67.6	eutrófico	4198	124.4	Hipereutrófico
13/12/10	0.48	70.6	eutrófico	3541	122.0	Hipereutrófico
29/12/10	0.48	70.6	eutrófico	4198	124.4	Hipereutrófico
10/01/11	0.76	64.0	eutrófico	2923	119.2	Hipereutrófico
24/01/11	1.03	59.6	mesotrófico	4613	125.8	Hipereutrófico
04/02/11	0.80	63.2	eutrófico	4613	125.8	Hipereutrófico
14/02/11	0.55	68.6	eutrófico	4198	124.4	Hipereutrófico
21/02/11	0.49	70.3	eutrófico	4996	127.0	Hipereutrófico
28/02/11	0.51	69.7	eutrófico	4198	124.4	Hipereutrófico

Tabla 1. Índices del Estado Trófico en el Bordo las Maravillas (DS y FT). Calculados con los promedios de la transparencia del disco de Secchi (DS) y del fósforo total (FT) en cada fecha de muestreo mediante las ecuaciones de Carlson (1977). Con 1 muestreo mesotrófico, 31 muestreos eutróficos y 1 hipereutrófico para el DS (atributo subestimado). Con el FT el bordo es hipereutrófico y homogéneo (atributo más confiable).

Temperatura

Durante noviembre de 2009, comenzó a bajar la temperatura del agua (figura 14), para descender hasta los 11°C durante enero-febrero de 2010 y alcanzar posteriormente los 20°C a finales de marzo (coincidiendo con el vaciado del bordo y la entrada de la primavera). Desde abril hasta el final del verano (agosto-septiembre), las temperaturas oscilaron alrededor de los 20°C, para luego disminuir otra vez durante el otoño hasta valores promedio alrededor de los 13°C con la entrada del invierno, subiendo algunos grados hasta el final de los muestreos. Las mayores temperaturas se aprecian para los meses de julio y agosto de 2010 (22°C), promediando los 20°C. El sitio con un promedio mayor durante todo el estudio fue el B6 (16.2°C). El sitio con el promedio menor resultó ser B3 (14.6°C), donde también se alcanzaron las menores temperaturas (5°C) durante noviembre y diciembre (figura 14), es el sitio más somero del bordo (figura 9), donde tuvieron lugar durante el invierno, procesos de congelación que formaron capas de hielo aproximadamente de 0.5 cm de espesor en la superficie.

El bordo tuvo durante el periodo de muestreo, una temperatura superficial promedio de 15.4 °C, menor al promedio (T. Fabela con 16.5°C, I. Ramírez con 18.5°C, Tepuxtepec con 19.5°C) registrado en otros embalses de la cuenca de Lerma (Arroyo-Bustos *et al.*, 2008), menor al promedio del lago de Chapala con 20.8°C (Ramírez *et al.*, 2007) y menor que el promedio en la presa el Abrevadero en el estado de Morelos, con 23.3 °C (Quiroz *et al.*, 2010); fue mayor al promedio del lago de Zempoala en Morelos, con 15.1°C (Díaz-Vargas *et al.*, 2005). En 1980, el agua en las ciénagas de Lerma promediaba 19°C (LICA, 1984). El valor fue mayor a la temperatura ambiental promedio de 12.6°C reportada en la literatura (López *et al.*, 2007), pero menor que los 17.5°C que promedia el clima en la cuenca de Lerma (Arteaga, 2010) ya que el agua actúa como un almacén térmico debido a su calor específico (Chen-Tung y Millero, 1986).

Para la temperatura a 1 m o fondo (figura 15), con un promedio de 14.7 °C, tenemos que los valores son similares a los de la figura 14, sin embargo existe una diferencia con la superficie de entre 0.5 a 1.0 °C, y mayores en algunos muestreos (abril de 2010). El máximo se presentó en abril y el mínimo alcanzado fue durante noviembre-diciembre. Al graficar los valores promedio de las temperaturas en superficie y fondo o 1 m, los datos

comparados sugieren la presencia de una pequeña termoclina (de 1°C aproximadamente) durante marzo y agosto con mezcla invernal (figura 16).

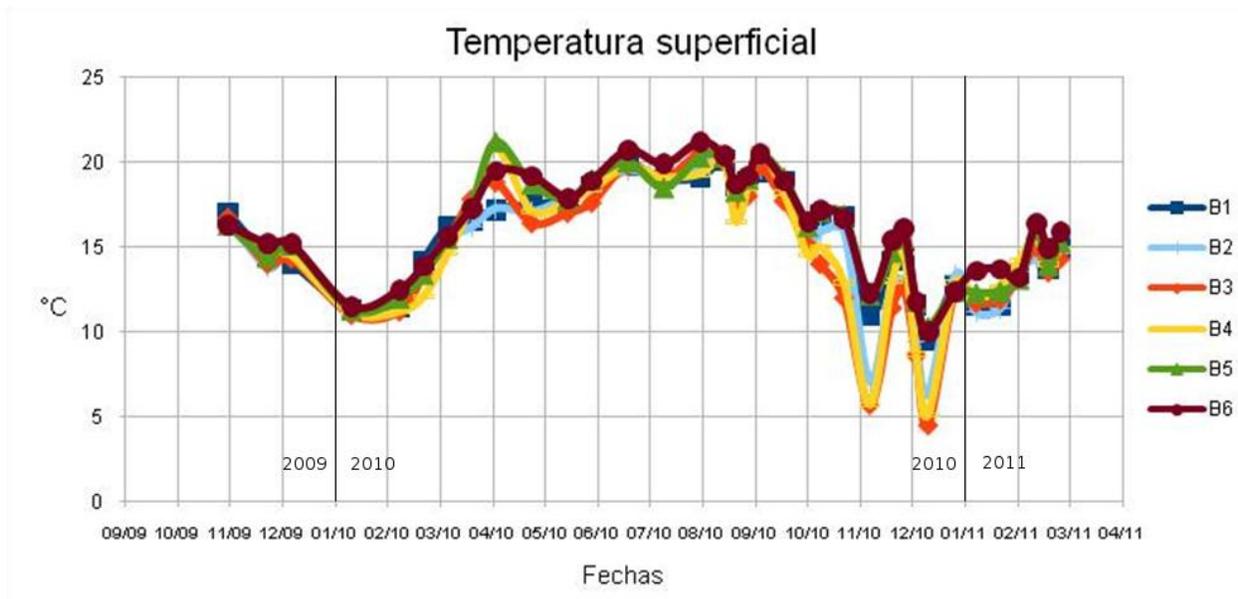


Figura 14. Temperatura superficial para el bordo las Maravillas. Los sitios más fríos son el B3 y B4, los más cálidos fueron el B6 y B5. Las temperaturas superficiales resultaron más homogéneas que las del fondo, con excepción de las registradas en invierno, producto de la entrada de frentes fríos.

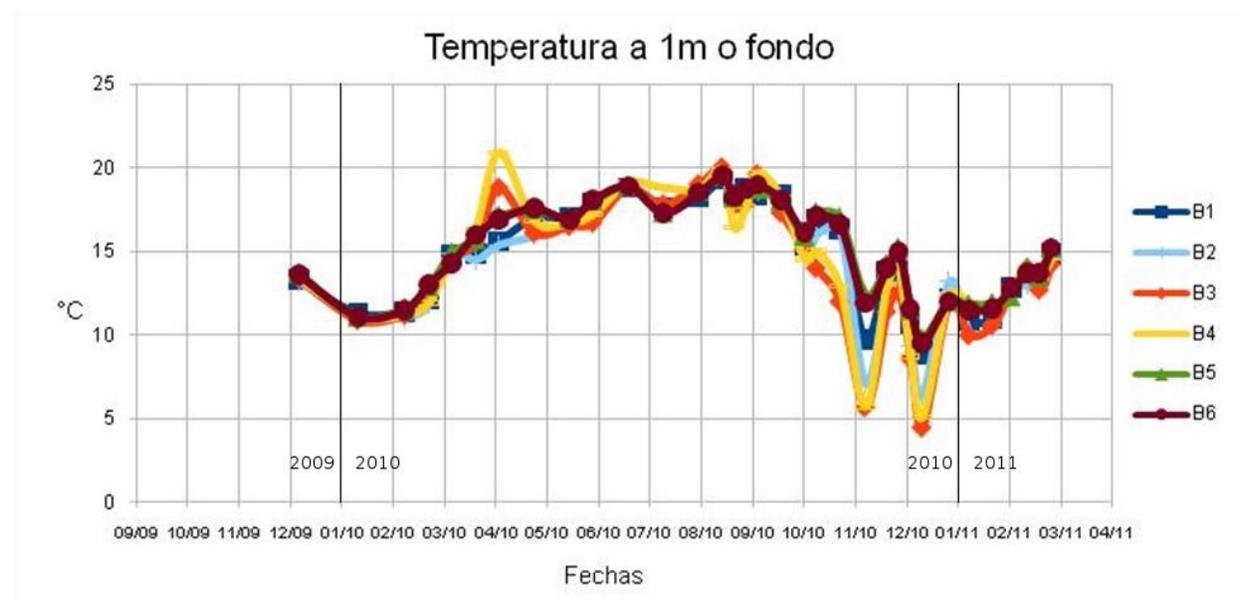


Figura 15. Temperatura a 1m o fondo por sitio para el bordo las Maravillas. Durante los procesos de vaciado-llenado del bordo (sobretudo marzo-abril) se aprecia como los puntos más someros (B3 y B4) son los más cálidos, llegando a superar los 20°C, mientras que los puntos más profundos (B1, B5 y B6) permanecen más fríos, situación que se invierte en el invierno. Lo anterior ejemplifica el hecho de que la temperatura ambiental y la radiación solar afectan en mayor grado a los sitios someros.

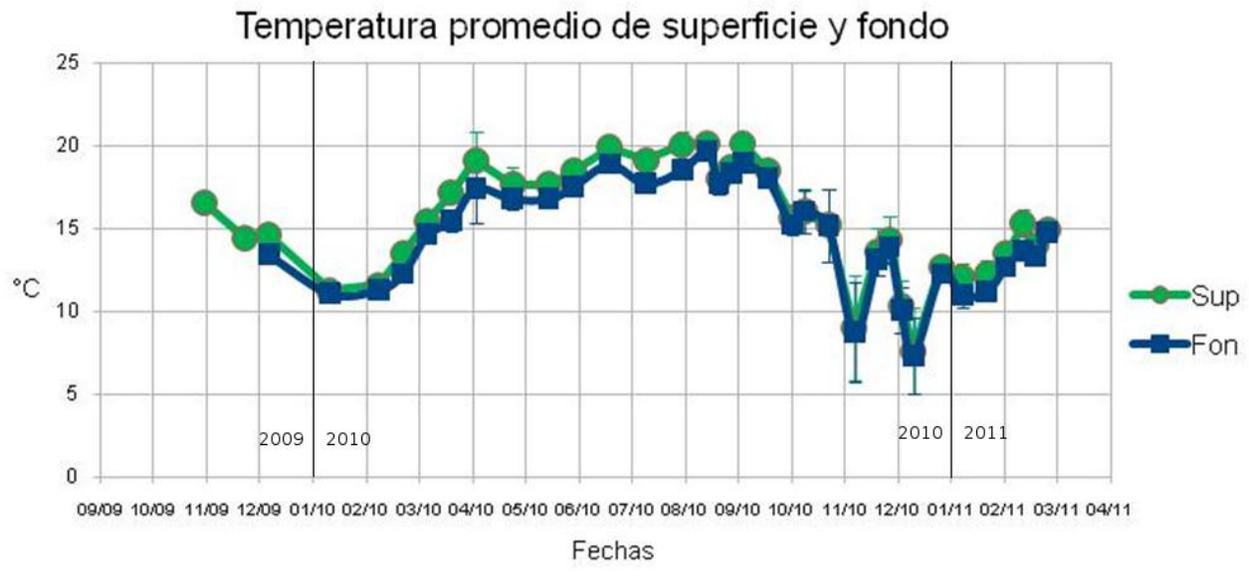


Figura 16. Temperaturas promedio con desviación estándar del agua superficial (15.4 °C) y de fondo (14.7 °C) en el bordo las Maravillas (Sup=promedio en la superficie, Fon= promedio en el fondo). La temperatura superficial es ligeramente mayor que la de fondo, se aprecian diferencias de entre 0.5 y 1.0 °C durante marzo y agosto de 2010, siendo más homogéneo el resto del periodo.

La comparación entre la temperatura promedio del agua (Tagua=15 °C para todo el estudio) y las temperaturas ambientales de la Estación Meteorológica de la UAEM (Figura 17), evidencia la influencia que tiene la temperatura ambiental sobre la temperatura del agua en el bordo (debido a lo somero del mismo), donde ésta última es solo menor a la temperatura ambiental máxima.



Figura 17. Temperatura promedio del agua comparada con las temperaturas ambientales en el bordo las Maravillas (Tmax: temperatura ambiental máxima promedio, Tagua: temperatura promedio del agua, Tamb: temperatura ambiental promedio, Tmin: temperatura ambiental mínima promedio).

pH

El pH del agua superficial (figura 18) osciló en los sitios, desde valores menores a 6 (abril de 2010) hasta valores mayores a 8 (noviembre-diciembre de 2010), se aprecia dicha variación mayor a 2 puntos en la escala para los sitios B2 y B4, siendo éstos dos de los sitios más someros y en los que se observaron algunas de las mayores concentraciones de aves. Todos los sitios se encuentran en cuanto a sus promedios, ligeramente por encima de la neutralidad, B1 tiene el menor valor con 7.1 y B6 con el mayor pH de 7.3.

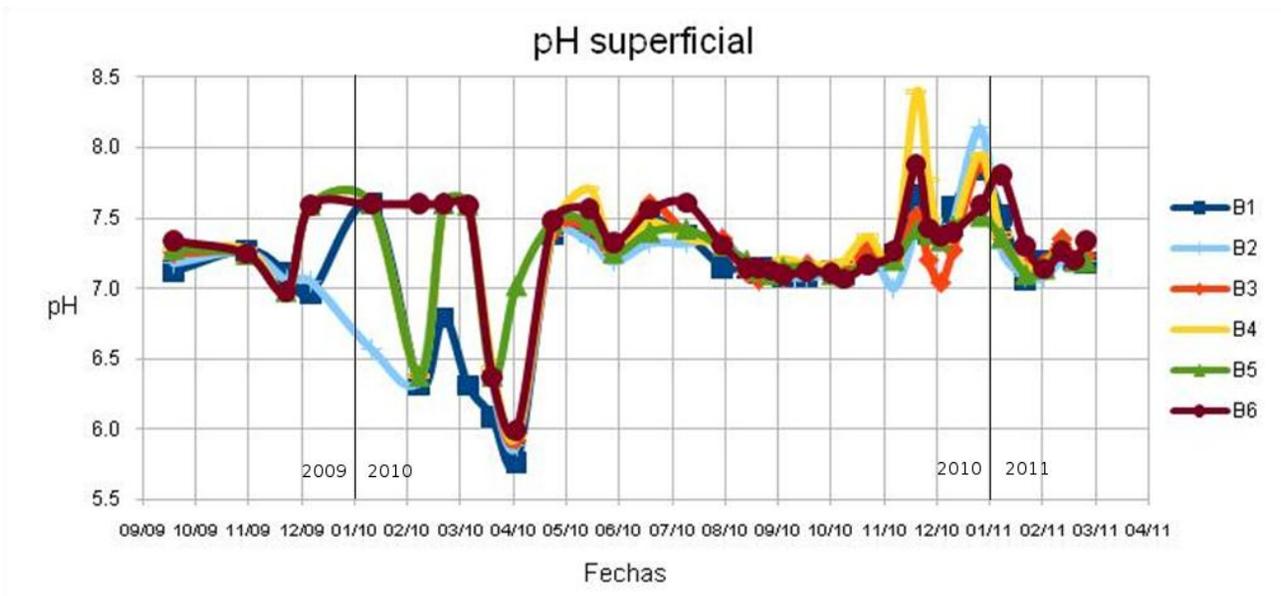


Figura 18. pH superficial para el bordo las Maravillas. Las variaciones se encuentran ligadas al régimen de vaciado-llenado que realizan los trabajadores de la UAEM para el riego de los campos agrícolas.

Los máximos y mínimos en la figura 18 coinciden con los procesos de vaciado y llenado del bordo; específicamente el bordo se volvió más ácido en la superficie (pH=5.7) a finales de marzo de 2009 por la extracción de agua (figura 10) y la resuspensión de sedimento; para volverse ligeramente alcalino (pH>7.5) con la introducción abrupta de aguas grises alcalinas de la cuenca (pH=[7-8.4] conforme a Arteaga, 2010) durante abril (figura 10). En mayo inició otro proceso de vaciado que duró hasta octubre de 2009 (casi 6 meses), el cual disminuyó el pH y lo acercó a la neutralidad durante ese lapso. En noviembre y diciembre de 2010 los valores de pH subieron en todos los sitios y resultaron estar alrededor de 7.5, los más alcalinos del estudio (pH>8) fueron para los sitios B4 y B2 respectivamente. Lo anterior fue consecuencia de la entrada de agua con alto contenido de

bicarbonatos (Arteaga, 2010) a partir de noviembre. El pH del canal de entrada se midió en 3 ocasiones durante el estudio (promedio de pH=7.8). Las ciénagas de Lerma presentaban en 1980 valores de pH de entre 7.5 y 8.8 (LICA, 1984).

Los cambios en el pH son influidos también por la actividad biológica como la producción primaria, incrementada por la gran disponibilidad de nutrientes (figuras 28 a 31) que llegan con las aguas grises, los cambios en la cantidad de oxígeno disuelto (figuras 25 a 27) en la columna de agua y la consecuente muerte masiva de peces como la ocurrida durante enero y febrero de 2010. Las lluvias ocurridas a finales de 2009 y de mayo a agosto de 2010 en la zona (anexo figura 38), podrían estar involucradas con la disminución del pH superficial, Lerma se caracteriza por su gran actividad industrial, lo que implica la producción de lluvia ácida en la zona (Lopez *et al.*, 2006), Toluca y Lerma concentran gran parte de la industria manufacturera del Estado de México con 126 y 86 empresas respectivamente (INEGI, 2000), zona donde también se vierten metales pesados provenientes de dicha industria directamente a los ríos (Tejeda *et al.*, 2005).

El pH a 1 m o fondo en el bordo las Maravillas (figura 19), tiene un patrón similar al superficial, sin embargo en la figura se puede observar una menor variación del parámetro en los sitios más profundos, sobre todo durante el estiaje y noviembre-diciembre.

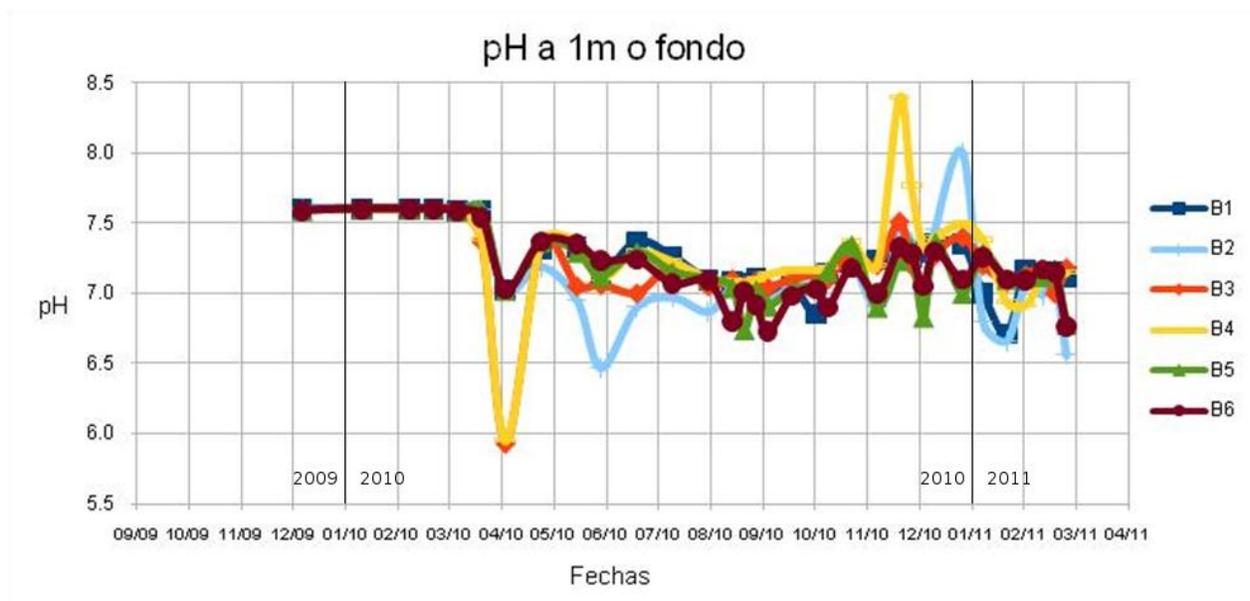


Figura 19. pH a 1 m o fondo para el bordo las Maravillas. Las variaciones se encuentran ligadas al régimen de vaciado-llenado que realizan los trabajadores de la UAEM para el riego de los campos agrícolas.

La comparación de los promedios del pH en superficie y fondo (Figura 20), cuyo promedio para todo el estudio resultaron ser iguales (pH=7.2), mostraron un patrón de inversión durante abril y que tiende a equilibrarse en invierno (excepto por el último muestreo de 2010 en diciembre), probablemente influido por la mezcla, de forma similar a la temperatura.

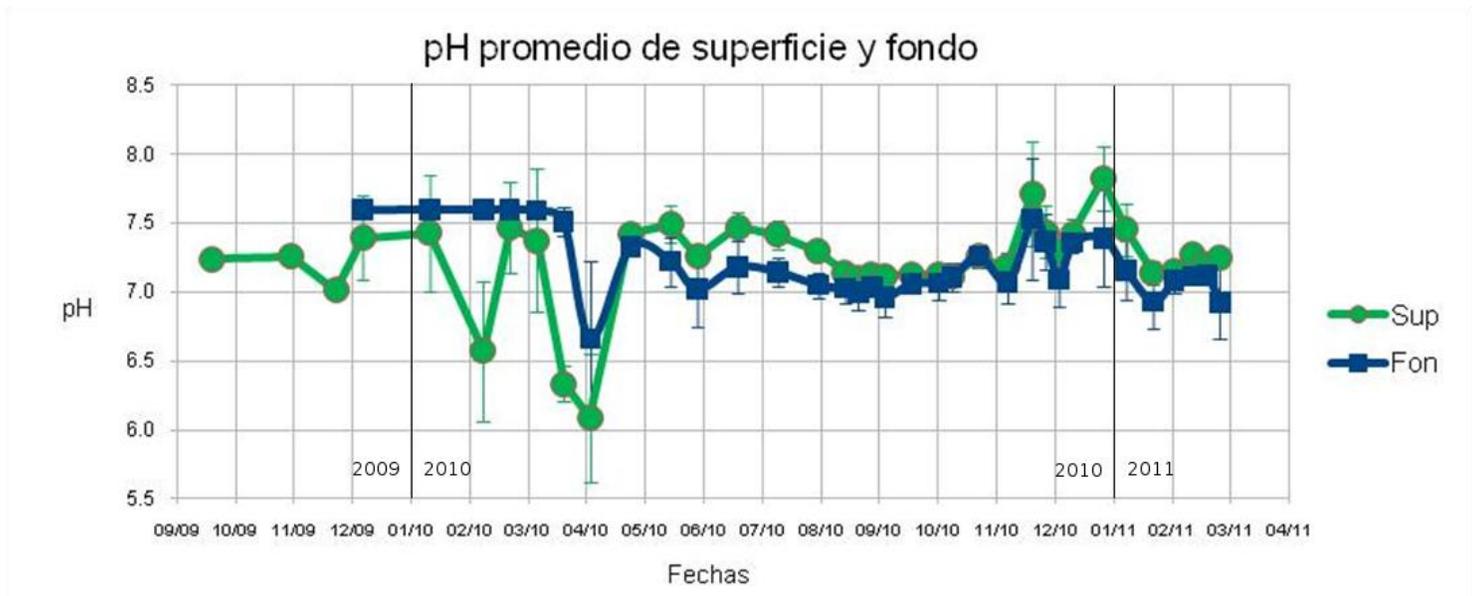


Figura 20. Comparación del pH promedio en superficie y fondo con desviación estándar en el bordo las Maravillas (Sup=promedio de superficie, Fon=promedio de fondo). Promedio de 7.2 para el estudio.

Comparando el pH promedio de 7.2 con el de otros sitios del centro del país, resultó ser menor al del lago de Chapala (en la cuenca de Lerma) con pH=8.8 (Ramírez *et al.*, 2007) y que el de la presa el Abrevadero (Morelos) con pH=8.6 (Quiroz *et al.*, 2010); el valor fue igual al de la laguna de Zempoala con pH=7.2 (Díaz-Vargas *et al.*, 2005).

Salinidad y conductividad

En el Bordo las Maravillas la salinidad (figura 21) resultó ser muy baja, con un intervalo de valores entre los 0.09 ppt a 0.25 ppt. De acuerdo con Contreras-Espinosa y Wagner (2004), es posible reconocer cuatro tipos distintos de humedales basándose en los gradientes de salinidad que presentan: oligohalinos (0-10 ppt), estuarinos (10-30 ppt), euhalinos (30-40 ppt) e hiperhalinos (>40 ppt); por lo que el bordo las Maravillas estaría considerado como un humedal oligohalino. La salinidad presenta en el caso de la superficie, variaciones entre los sitios y fechas de muestreo, debidas principalmente a la

introducción de aguas grises y la resuspensión del sedimento en un menor volumen de agua durante los muestreos de abril y noviembre-diciembre de 2010.

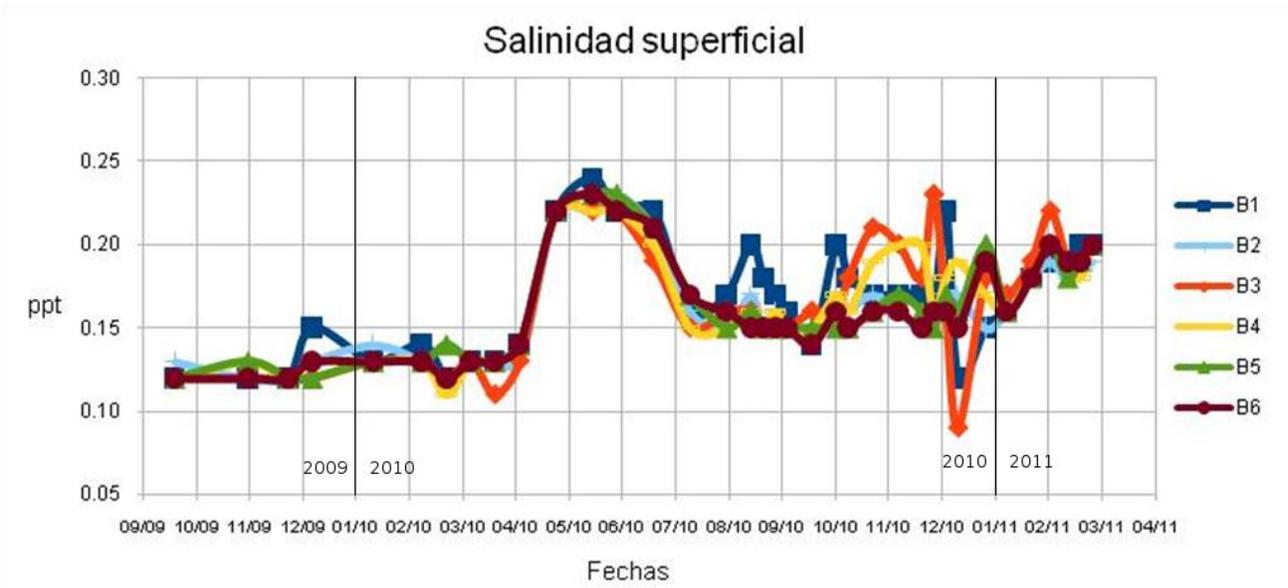


Figura 21. Salinidad superficial para el bordo las Maravillas. El cambio observado en abril se debe a la extracción de agua para riego en marzo y la apertura en mayo de las costaleras para introducir agua de canal.

La salinidad a 1m o fondo (figura 22), similar a la superficial, resultó también oscilatoria, con algunos picos de más (por la entrada de agua y el sedimento). El sitio B3 presentó los valores más extremos, el sitio B6 fue el más constante, consecuencia de sus respectivas profundidades (figura 9). La figura 23 compara los promedios.



Figura 22. Salinidad a 1m o fondo para el bordo las Maravillas. El fuerte cambio observado se debe a la extracción de agua para riego en abril y la apertura en mayo de las costaleras para introducir agua de canal.

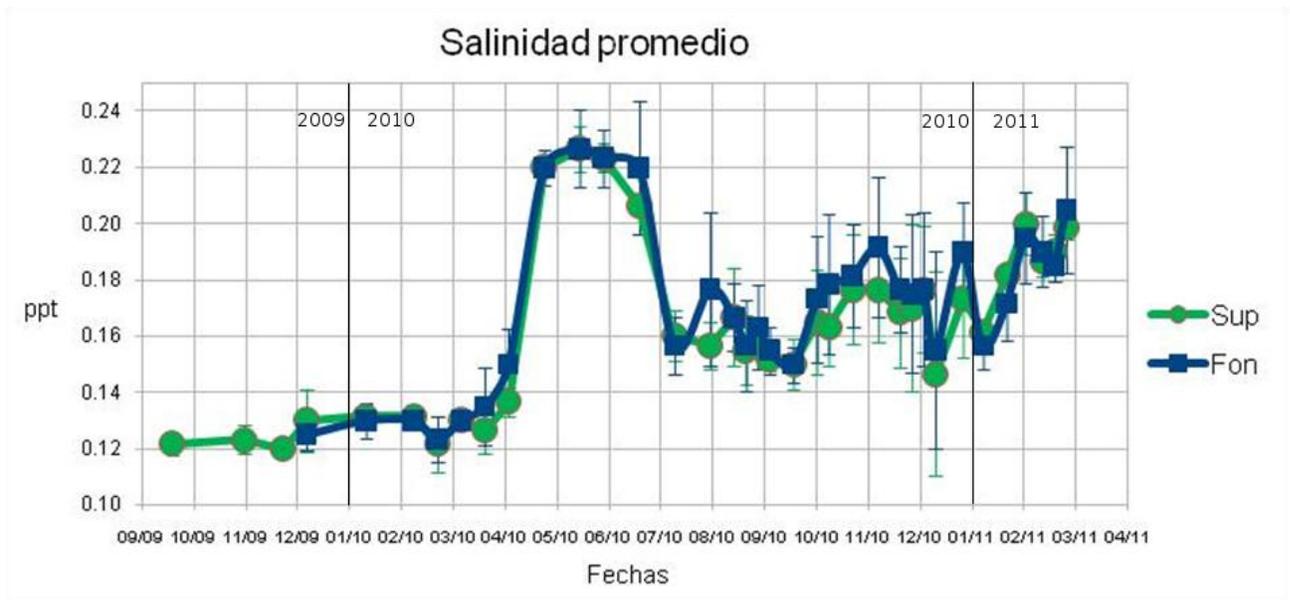


Figura 23. Salinidad promedio de superficie (0.16 ppt) y fondo (0.17 ppt) con desviación estándar en el bordo las Maravillas. El promedio general fue 0.16 ppt (Sup: superficie, Fon: fondo).

La conductividad está relacionada con la salinidad (STD), por lo que las gráficas son muy similares. La conductividad promedio fue de 0.34mS (figura 24), que resultó ser menor que el promedio de la cuenca de Lerma con 0.61 mS (Arteaga, 2010) y que el lago de Chapala con 0.87mS (Ramírez *et al.*, 2007); pero mayor que otros embalses del Lerma (T. Fabela 0.12mS, I. Ramírez 0.17mS, Tepuxtepec 0.21mS; Arroyo-Bustos *et al.*, 2008), mayor que la presa el Abrevadero con 0.27mS (Quiroz *et al.*, 2010) y que la laguna de Zempoala con 0.09mS (Díaz-Vargas *et al.*, 2005), los dos últimos de Morelos.



Figura 24. Conductividad promedio de superficie y fondo con desviación estándar en el bordo las Maravillas.

Oxígeno disuelto

El promedio del oxígeno disuelto en mgL^{-1} (ppm) para el bordo se presenta en la figura 25. Los datos se registraron a partir de abril del 2010. Se puede observar el efecto de la lluvia (anexo figura 40) desde mayo a agosto, el vaciado-llenado de noviembre y las bajas temperaturas en el invierno. En la superficie el sitio B6 resultó ser el más variable y oxigenado con 3.02 mgL^{-1} . Para el fondo el sitio B4 resultó el más oxigenado con un promedio de 2.2 mgL^{-1} . Los valores mínimos se obtuvieron para el otoño, donde se igualaron los valores de fondo y superficie.



Figura 25. Oxígeno disuelto promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas. Promedio para la superficie (Sup) de 2.8 mgL^{-1} . Promedio para el fondo (Fon) de 1.4 mgL^{-1} . Promedio general de 2.1 mgL^{-1} .

Las mediciones de oxígeno disuelto en el Bordo las Maravillas, registraron para la superficie un promedio de 2.8 mgL^{-1} y para el fondo o 1m el promedio fue de 1.4 mgL^{-1} , siendo el promedio general de 2.1 mgL^{-1} ; valores que resultaron por debajo de los niveles mínimos recomendado como fuente de abastecimiento para agua potable (4 mgL^{-1}), protección de la vida acuática (5 mgL^{-1}), uso recreativo con contacto primario, uso pecuario y riego agrícola (6 mgL^{-1}), establecidos en los Criterios de Calidad del Agua (SEMARNAP-CNA, 1989). Sin embargo, hay que recordar que las mediciones se tomaron en la mañana, antes de que el sol pudiera estimular la fotosíntesis, hasta alcanzar al atardecer una sobresaturación (Quiroz *et al.*, 2010). En 1980 las ciénagas de Lerma tenían promedios de oxígeno disuelto de entre 2 mgL^{-1} y 4.2 mgL^{-1} (LICA, 1984).

El promedio del bordo de 2.1 mgL^{-1} comparado con el de otros cuerpos de agua mostró un valor menor, con 4.4 mgL^{-1} para la laguna de Zempoala (Díaz-Vargas *et al.*, 2005), 4.4 mgL^{-1} en el Abrevadero (Quiroz *et al.*, 2010), menor a otros embalses del Lerma (T. Fabela con 7.0 mgL^{-1} , I. Ramírez con 5.7 mgL^{-1} , Tepuxtepec con 6.1 mgL^{-1} ; Arroyo-Bustos *et al.*, 2008) e inferior a 7.13 mgL^{-1} en el lago de Chapala (Ramírez *et al.*, 2007). La baja concentración de oxígeno en estos ambientes, se relaciona con la materia orgánica en exceso, cuya descomposición por bacterias consume al gas (Vásquez *et al.*, 2006). Se considera que uno de los problemas más severos en cuanto a calidad del agua, es el de las fluctuaciones del oxígeno disuelto producidas por la producción primaria y la respiración, además de la temperatura, las lluvias y el viento (Lowe *et al.*, 1984).

Nutrientes

La proporción NT:FT (Nitrógeno Total:Fósforo Total) para el bordo es de 3.3, similar al valor reportado en la literatura para lagos eutróficos, sedimentos y drenajes. La relación NT:FT es alta en sistemas oligotróficos y muy baja en sistemas eutróficos, la limitación de N parece ser la regla en los sistemas con $\text{NT:FT} < 14$, sobre todo si el FT resultante es alto. La proporción NT:FT también es menor en aguas templadas con sedimentos anóxicos y orgánicos, debido a la desnitrificación, influida por el oxígeno, la temperatura y las fuentes de carbono orgánico (Downing y McCauley, 1992). Las unidades de nuestros datos están en μML^{-1} , se hicieron los cálculos respectivos en mgL^{-1} para compararlos con los datos de las normas y los reportados por otros estudios.

La figura 26 muestra al fósforo total en el bordo, los valores máximos para contaminantes básicos en agua dedicada al riego agrícola (NOM-001-SEMARNAT-1996) no fueron superados por el fósforo, cuyo promedio en el estudio fue de 6.5 mgL^{-1} , menor tanto para el límite en ríos como para embalses. Tampoco superó el límite para ríos con agua dedicada a uso público urbano (los tres rubros tienen el límite de 20 mgL^{-1} en promedios mensuales). Sin embargo, el promedio de fósforo en el bordo si supero los límites establecidos por la NOM para agua en embalses destinada al uso público urbano y para ríos en los que se busca proteger la vida acuática (5 mgL^{-1} en promedios mensuales para ambos casos). Otros embalses presentan valores menores, T. Fabela tiene 0.18 mgL^{-1} , I. Ramírez posee 0.22 mgL^{-1} , Tepuxtepec con 0.50 mgL^{-1} (Arroyo-Bustos *et al.*, 2008) y 0.57 mgL^{-1} para el lago de Chapala (Ramírez *et al.*, 2007).



Figura 26. Fósforo total promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas ($209 \mu\text{M}^{-1} = 6.5 \text{ mgL}^{-1}$).

Los valores para el nitrógeno total (Figura 27) oscilaron a lo largo de los muestreos, alcanzando su valor máximo con $1,504 \mu\text{M}^{-1}$ en enero de 2011. El promedio de nitrógeno en el bordo fue de 9.7 mgL^{-1} , menor para todos los casos contemplados como valores máximos permisibles de contaminantes básicos en la NOM-001-SEMARNAT-1996 (15 mgL^{-1} para embalses con agua destinada al uso público urbano y ríos con protección a la vida acuática, y 40 mgL^{-1} para el resto). Se distingue un patrón en el nitrógeno y el amonio influido por la entrada de agua en abril y noviembre de 2010. En 1980, el nitrógeno en las ciénagas de Lerma promediaba 7.5 mgL^{-1} (LICA, 1984).

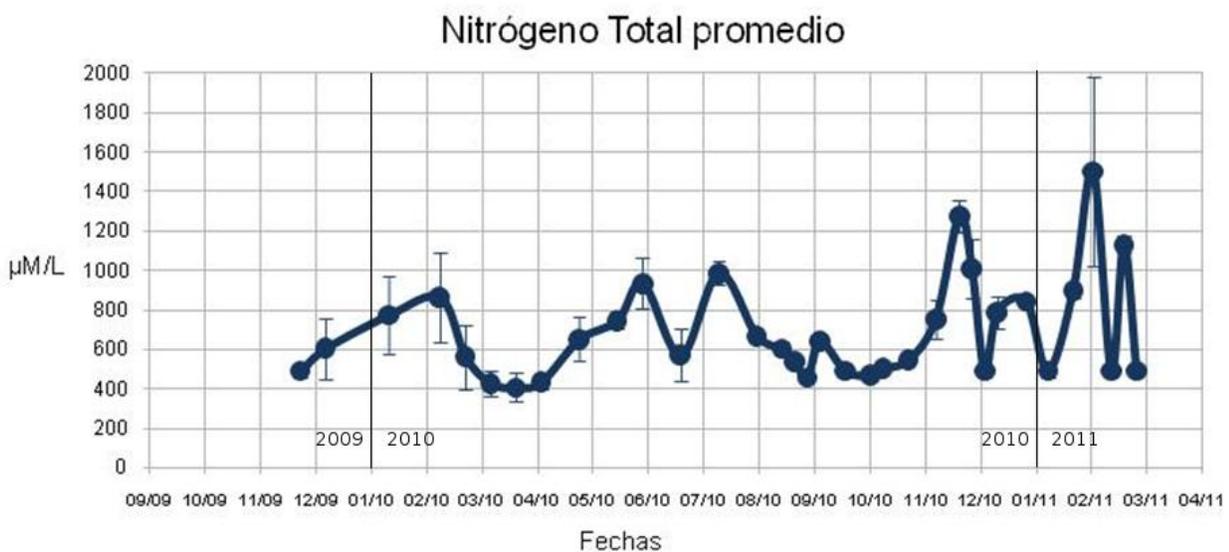


Figura 27. Nitrógeno total promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas ($694 \mu\text{M}^{-1} = 9.7 \text{ mgL}^{-1}$).

El amonio (Figura 28) tuvo su máximo con $478 \mu\text{ML}^{-1}$ en enero de 2011. El promedio de amonio para todo el estudio fue de 2.7 mgL^{-1} , mayor al registrado en el lago de Chapala con 0.48 mgL^{-1} (Ramírez *et al.*, 2007), también mayor al de los embalses del Lerma: T. Fabela con 0.57 mgL^{-1} , I. Ramírez con 1.43 mgL^{-1} y Tepuxtepec con 0.97 mgL^{-1} (Arroyo-Bustos *et al.*, 2008).

Respecto a los Criterios de Calidad del Agua (SEMARNAP-CNA, 1989), el amonio promedio en el bordo las Maravillas no supera los límites para su uso pecuario, en el riego agrícola, uso recreativo con contacto primario y como fuente de abastecimiento de agua potable (6 mgL^{-1}), pero si supera el límite de 0.01 mgL^{-1} establecido para la protección de la vida acuática.

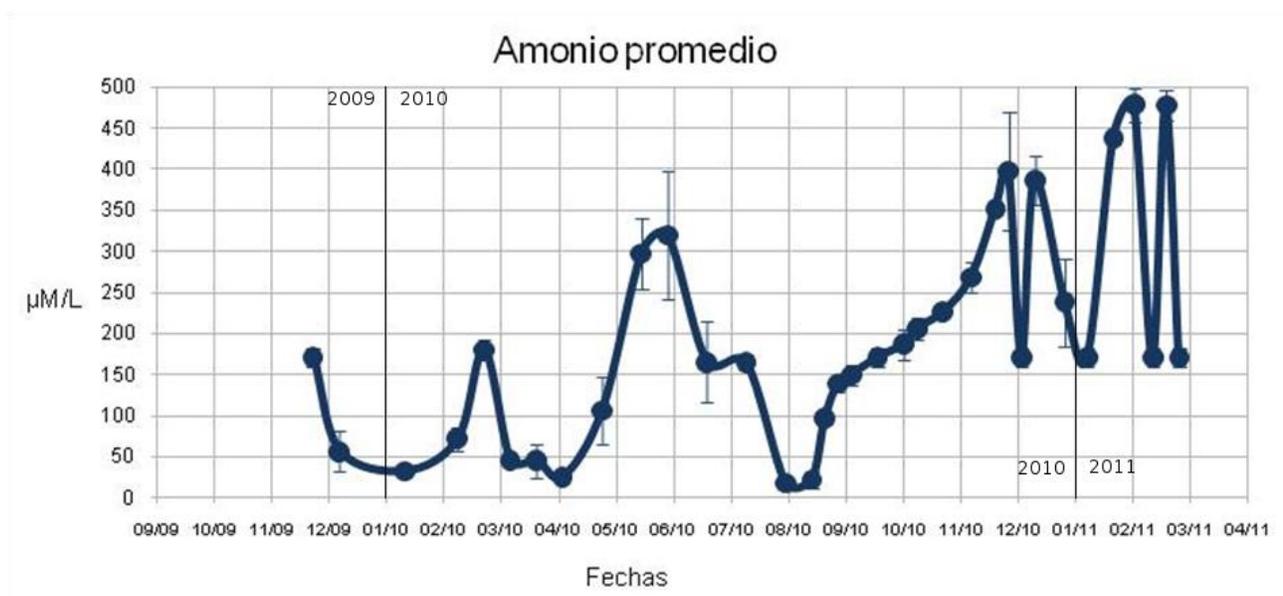


Figura 28. Amonio promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas ($195 \mu\text{ML}^{-1} = 2.7 \text{ mgL}^{-1}$).

La presencia de amonio en el agua causa problemas en su sabor y olor en concentraciones por arriba de 35 mgL^{-1} y 1.5 mgL^{-1} , respectivamente (WHO, 2004).

Los niveles naturales en agua subterránea y superficial son usualmente de menos de 0.2 mgL^{-1} , las aguas subterráneas anaeróbicas pueden contener hasta 3 mgL^{-1} . El amonio en agua es también un posible indicador de contaminación bacteriana, drenaje y desperdicios de origen animal. Su presencia en el agua puede comprometer la eficiencia en los procesos de potabilización, causando fallas en los filtros (WHO, 2004).

La figura 29 ilustra la cantidad de fosfato promedio en el bordo durante el estudio, con su máximo de 235 μML^{-1} en enero de 2010. El fosfato promedio fue de 3.4 mgL^{-1} , valor que no supera lo establecido en los Criterios de Calidad del Agua (SEMARNAP-CNA, 1989), para los rubros de uso recreativo con contacto primario, uso pecuario y riego agrícola, cuyo valor máximo es de 6 mgL^{-1} . Sin embargo si supera los valores máximos establecidos en el mismo documento para su uso como fuente de abastecimiento de agua potable (0.1 mgL^{-1}) y protección de la vida acuática (0.002 mgL^{-1}). En el lago de Chapala se han reportado valores para los ortofosfatos de 0.4 mgL^{-1} (Ramírez *et al.*, 2007). En 1980, el fosfato promediaba 0.1 mgL^{-1} en las ciénagas de Lerma (LICA, 1984).

El fósforo y los fosfatos comienzan a acelerar la eutrofización de lagos a partir de valores cercanos a 0.025 mgL^{-1} , hasta exhibir condiciones mesotróficas (James *et al.*, 2007).



Figura 29. Fosfato promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas ($111 \mu\text{ML}^{-1} = 3.4 \text{mg L}^{-1}$).

Coliformes

La figura 30 muestra las cantidades de coliformes en las muestras de agua, mediante la técnica del Número Más Probable (NMP). Se analizaron los sitios 2, 3 y 4 debido a que estos son los puntos centrales que concentraron el mayor número de aves. Se aprecian dos picos para cada gráfica, el primero inició junto con el proceso de vaciado a mediados de marzo de 2010, hasta alcanzar la cantidad máxima de coliformes.

Con el llenado del bordo en abril, el segundo pico comenzó a mediados de octubre (coincidiendo también con otro vaciado del bordo) para alcanzar su máximo en noviembre durante la apertura de las costaleras con el fin de introducir agua al bordo. Se distingue que con el inicio del proceso de vaciado del bordo en marzo de 2010, la remoción y resuspensión del sedimento provocaron un aumento en los coliformes totales, el cual superó los 100,000 NMP/100ml, mientras que el aumento en los coliformes fecales ocurrió solo después de la entrada de aguas grises en abril. Algo similar sucede en octubre con el otro vaciado, donde el aumento de los coliformes totales inicia antes de que tenga lugar el llenado en noviembre, mes hasta el cual los coliformes fecales aumentan.

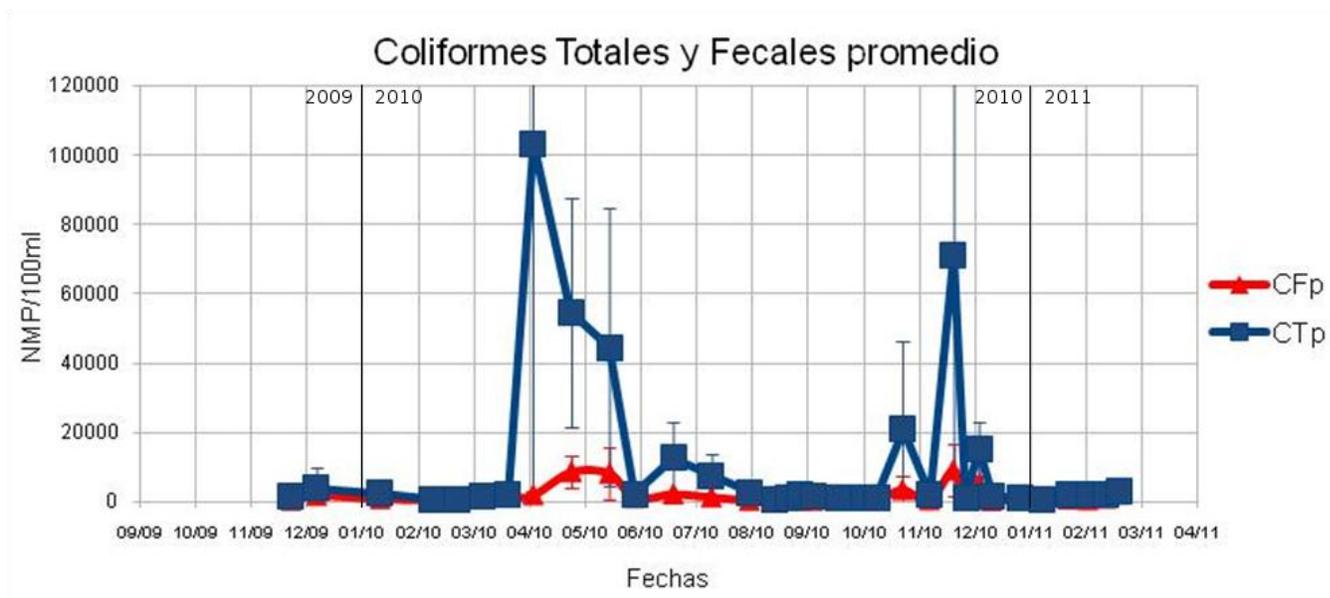


Figura 30. Coliformes totales y fecales promedio con desviación estándar en el bordo las Maravillas. CTp: Coliformes Totales promedio; CFp: Coliformes Fecales promedio.

El promedio de coliformes totales (CTp) para el estudio fue de 11,346 NMP/100ml y el promedio para coliformes fecales (CFp) fue de 1,713 NMP/100ml. Ambos valores superan por mucho los reportes para el lago de Chapala, con 465 NMP/100ml de CTp y 76 NMP/100ml de CFp (Ramírez *et al.*, 2007).

Los promedios de coliformes para el bordo las Maravillas también superan por mucho a lo establecido por la norma NOM-001-SEMARNAT-1996, en donde el límite máximo permisible para las descargas de aguas residuales vertidas en aguas nacionales, así como las descargas al suelo (riego agrícola) es de 1,000 y 2,000 como NMP/100ml para el promedio mensual y diario respectivamente. Los promedios obtenidos también superan por

mucho a lo indicado en los Criterios de Calidad del Agua (SEMARNAP-CNA, 1989), donde el límite para la fuente de abastecimiento de agua potable y para el riego agrícola es de 1,000 NMP/100ml, para los casos del agua dedicada al uso recreativo con contacto primario y la protección de la vida acuática el límite es de 200 NMP/100ml, para el uso pecuario no hay un criterio definido.

Es de esperarse que el valor para los CTp sea mayor que el de los CFp, debido a que algunas bacterias coliformes se encuentran naturalmente en las muestras del medio ambiente (coliformes totales), mientras que los coliformes fecales (indicadores de contaminación), son un subconjunto de los coliformes totales (Feng *et al.*, 2002).

Sedimento

Los resultados sobre el análisis del sedimento (muestras tomadas en abril de 2010 y febrero de 2011) indican que se trata de sedimento con un pH de fuertemente ácido a moderadamente ácido, con valores de 4.9 a 6.5 (tabla 2).

Para el estudio, el promedio general del sedimento fue de pH=5.4. Respecto a los promedios por sitio, el sedimento más alcalino resultó ser el B5, con pH=5.9, mientras que los más ácidos fueron B6 y B7, con pH=5.1. Los promedios por año fueron para el 2010 de pH=5.5 y para el 2011 resultó más ácido, con pH=5.3.

Muestreo de 2010 (abril)

Muestra	pH	Categoría
B1	6.5	Moderadamente ácido
B2	5.1	Moderadamente ácido
B3	5.2	Moderadamente ácido
B4	5.3	Moderadamente ácido
B5	6.1	Moderadamente ácido
B6	5.3	Moderadamente ácido
B7	5.0	Fuertemente ácido
B8	5.8	Moderadamente ácido

Muestreo de 2011 (febrero)

Muestra	pH	Categoría
B1	5.1	Moderadamente ácido
B2	5.3	Moderadamente ácido
B3	5.5	Moderadamente ácido
B4	5.5	Moderadamente ácido
B5	5.6	Moderadamente ácido
B6	4.9	Fuertemente ácido
B7	5.1	Moderadamente ácido
B8	5.5	Moderadamente ácido

Tabla 2. pH para el sedimento de los sitios de muestreo (B1-B8) en el bordo las Maravillas. A la izquierda se muestran los valores para 2010, a la derecha los de 2011. Metodología y categoría definidas por el método AS-02 (Nessler).

Estos datos explican el papel que juegan conjuntamente el pH del agua que entra al bordo (ligeramente alcalina) y el pH del sedimento (moderadamente ácido), para modificar el pH en la columna de agua; por ejemplo, durante el estiaje y vaciado del bordo el pH del sedimento influye en el pH de la columna de agua, haciéndolo más ácido; cuando el bordo se llena, el agua entrante sube el pH hasta dejarlo ligeramente alcalino; con el tiempo el sistema tiende a la neutralidad por algún tiempo, hasta otro proceso de vaciado-llenado.

Un estudio realizado en la zona centro de México, particularmente en Morelos (Díaz-Vargas *et al.*, 2005), determinó sedimentos con características similares a las del bordo las Maravillas, el sedimento en el lago de Zempoala se caracterizó por tener zonas donde el pH tiende a ser ácido (5.6) y presentó cantidades variantes de nutrientes, de acuerdo al grado de descomposición del detritus.

En lo que respecta a materia orgánica (MO), expresada como porcentaje (%MO), los resultados por el método AS-07 (tabla 3) indicaron que su contenido para el sedimento del bordo es de muy bajo en el sitio B8 (embarcadero), a muy alto para el sitio B6, con un promedio de 9% de MO (nivel medio), considerando que es un suelo de origen volcánico para la clasificación. Díaz-Vargas *et al.* (2005) encontraron que el sedimento del lago de Zempoala es alto en MO (13%). Estudios hechos en diferentes puntos del lago de Catemaco, Veracruz, han encontrado valores muy altos de MO desde 20% hasta 80% (Pérez-Rojas *et al.*, 2000). Un estudio realizado en un sitio de la antigua zona lacustre de la Ciudad de México (Díaz-Rodríguez *et al.*, 1998), concluyó que la cantidad de MO correspondiente fue de aproximadamente 5% (nivel bajo).

Muestra	%MO	%C	Clasificación
B1	6.9	4.0	Medio
B2	11.5	6.7	Alto
B3	11.4	6.6	Alto
B4	6.1	3.5	Medio
B5	9.2	5.3	Medio
B6	16.1	9.3	Muy alto
B7	7.8	4.5	Medio
B8	2.2	1.3	Muy bajo

Tabla 3. Clasificación de materia orgánica (MO) y carbono (C) en el bordo las Maravillas. Los valores se encuentran expresados en porcentajes para los 8 sitios de estudio en el bordo las Maravillas. Metodología y categoría definidas por el método AS-07.

La tabla 4 muestra los resultados sobre la determinación del color para las 8 muestras mediante las tablas de Munsell, resultados que concuerdan para el color de sedimentos con porcentaje medio de materia orgánica como los mostrados en la tabla 3.

Color (Munsell)		
Muestra	Seco	Húmedo
B1	gris	café grisáceo muy oscuro
B2	café grisáceo muy oscuro	gris muy oscuro
B3	gris oscuro	gris muy oscuro
B4	gris	café grisáceo oscuro
B5	gris oscuro	gris muy oscuro
B6	gris oscuro	negro
B7	gris	café grisáceo muy oscuro
B8	gris	café grisáceo oscuro

Tabla 4. Color del sedimento en el Bordo las Maravillas. Determinado mediante el método AS-22 que emplea la tabla de Munsell. El resultado concuerda con lo obtenido en la prueba de materia orgánica, donde los valores fueron medios y les corresponden colores oscuros (grises y cafés).

La tabla 5 contiene los resultados para la capacidad de intercambio catiónico (CIC) para los 8 sitios estudiados, en este caso la variable resultó tener valores intermedios según la clasificación del método AS-12, con un promedio de 55 meq/100g. En comparación, Díaz-Rodríguez *et al.* (1998) encontraron que la CIC para un sitio en la antigua zona lacustre de la Ciudad de México fue aproximadamente de 75 meq/100g.

Muestra	CIC [meq/100g]
B1	38.89
B2	61.11
B3	72.22
B4	33.33
B5	61.11
B6	87.78
B7	44.44
B8	44.44

Tabla 5. Capacidad de intercambio catiónico (CIC) en el Bordo las Maravillas.

Aislamiento viral a partir del agua superficial

Los resultados obtenidos respecto al aislamiento de virus fueron negativos hasta el penúltimo muestreo, sin embargo en el último muestreo (28/febrero/2011) se logró aislar virus de influenza tipo A en el sitio V5, cercano a la zona central del bordo (figura 31). Este

es el primer aislamiento exitoso de virus de influenza tipo A obtenido de muestras ambientales a partir de agua superficial reportado en México.



Figura 31. Sitio de muestreo del aislamiento viral. El sitio donde se aisló el virus durante el último muestreo (febrero de 2011) fue el V5.

La figura 32 muestra los resultados de la aplicación de antimicrobianos GIBCO al agua del bordo centrifugada, la cual se inoculó a los embriones como sistemas amplificadores de virus.

Un ejemplo de las placas con pozos en donde se realiza la prueba de hemoaglutinación para detectar la presencia de virus, se presenta en la figura 33. Se puede observar en 94 de los 96 pozos, la formación de un botón de eritrocitos sedimentados (procedentes de gallinas), lo cual indica una prueba negativa. En la parte inferior derecha se aprecian dos controles positivos (antígeno CPA), a la izquierda se presentan dos controles negativos con PBS. Prácticamente todos los muestreos del estudio excepto el último (febrero 28 de 2011), presentaron este tipo de resultados.

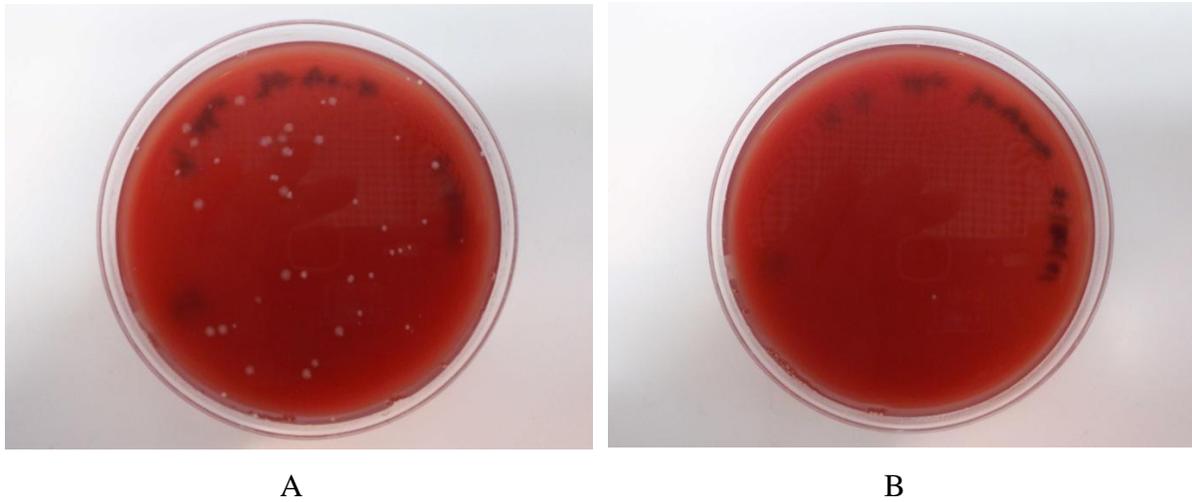


Figura 32. Resultados de la aplicación de antimicrobianos al agua del bordo para inoculación. Crecimiento bacteriano en agar gelosa-sangre del agua tratada con antimicrobianos previo a la inoculación en embrión de pollo. A) agua sin antimicrobiano. B) agua con antimicrobiano.

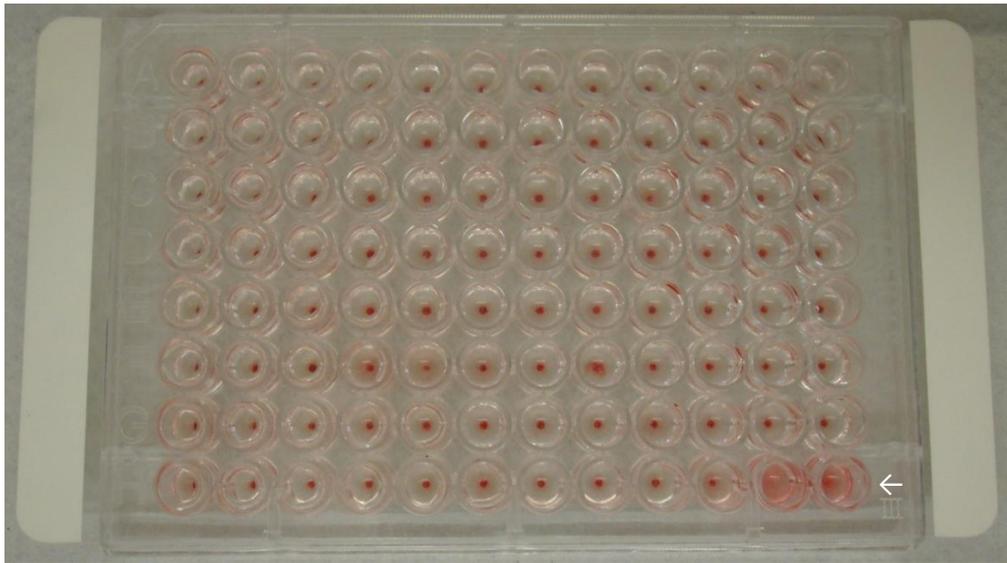


Figura 33. Prueba de hemoaglutinación. Sedimentación de glóbulos rojos de muestras negativas. Control positivo (←).

El resultado positivo a la prueba de hemoaglutinación para el último muestreo (28/febrero/2011) se presenta en la figura 34. Se aprecia que no en todos los pozos se forma el botón característico para considerarla negativa, por lo que esas muestras se consideraron sospechosas y se les realizó un segundo pase (nueva inoculación).

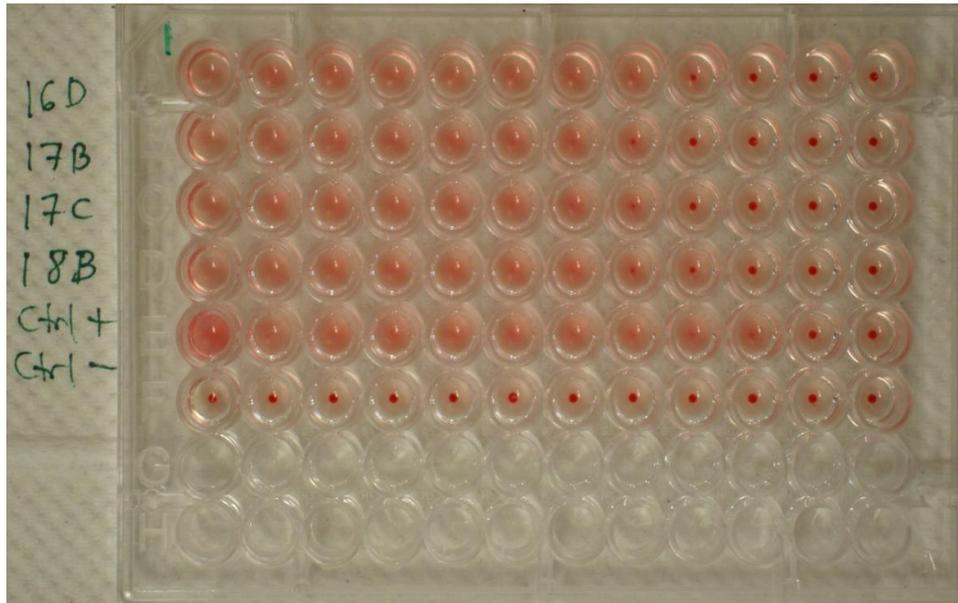


Figura 34. Titulación de la hemoaglutinación. Diluciones dobles seriadas (Log_2) del líquido alantoideo correspondiente a las muestras 16D, 17B, 17C y 18B con 128 UHA. Control positivo (Ctrl +) con 512 UHA y negativo (Ctrl -).

El líquido alantoideo que fue positivo por hemoaglutinación, fue evaluado a través de un inmunoensayo para la detección del virus de influenza tipo A (figura 35). Las muestras que resultaron positivas se enviaron al laboratorio de la CPA.

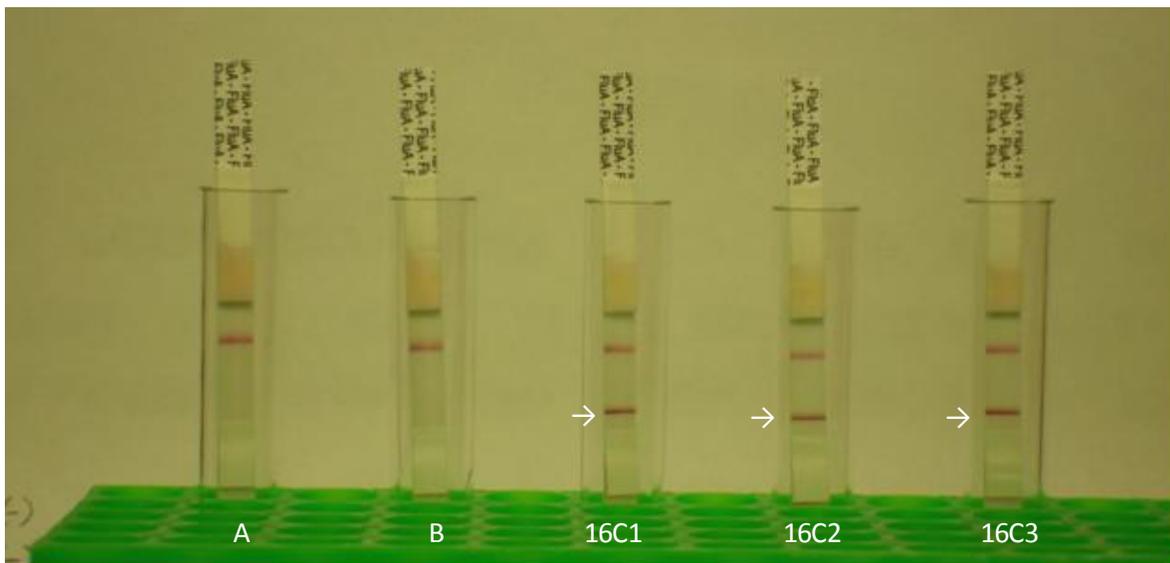


Figura 35. Resultado del inmunoensayo *Flu Detect* para virus de influenza tipo A en líquido alantoideo. Muestras negativas (A, B) y muestras 16C1, 16C2 y 16C3 positivas (\rightarrow).

Densidad de aves

Los conteos de aves se presentan en la figura 36, estos fueron en aumento a partir del mes de octubre de 2010 con aproximadamente 950 ejemplares (mínimo contado) de aves anseriformes (diversas especies de patos); se contaron un promedio de 3,500 aves durante noviembre; 2,000 para diciembre; 7,000 aves en promedio observadas durante enero; hasta unas 3,000 en febrero.

Se aprecian dos picos en la gráfica, uno menor a mediados de noviembre con 3,776 individuos, y el pico máximo de aves fue alcanzado en el muestreo del 24 de enero de 2011, cuando se contabilizaron 8,258 individuos.

La cuenca de Lerma está incluida en la región Altiplano Central para los conteos de aves acuáticas, realizados a mitad del invierno por la SEMARNAT cada 3 años. Para esta zona en 2006 se registraron 269,882 anátidos. Teóricamente, durante la época invernal el número de aves que podrían tener al virus en una población (próxima a regresar al norte) sería de entre 0.25% y 2.4% (Olsen *et al.*, 2006; Munster *et al.*, 2007); esto es entre 675 y 6,477 aves para esa zona en 2006.

El mismo cálculo con el número de aves contabilizadas durante todo el estudio (42,148), resulta entre 105 y 1,012 aves con el virus. Para el día del aislamiento (2,778), tenemos un número de entre 7 y 67 individuos portadores. El cálculo para el muestreo por sitios (16 muestreos x 8 sitios=128) que realizamos es de entre 0 y 3 muestras positivas. Por esa razón, la probabilidad de aislar virus de influenza tipo A es tan baja.

Existen datos respecto a los promedios por décadas (1950-1970) de aves acuáticas migratorias para las ciénagas de Lerma, sin embargo, los datos expuestos son muy dispares y contradictorios, para la década de 1950 el promedio de patos fue de 45,407; para la década de 1960 fue de 13,920; y para la de 1970 se tuvieron entre 25,428 y 155,000 individuos en promedio (LICA, 1984).

Los cambios en los conteos y la composición de especies entre años, se debe probablemente a que las condiciones ambientales entre años también pueden variar significativamente, lo que incide en la calidad y extensión del hábitat en el centro del país y limita la disponibilidad de los humedales para un mayor número de aves acuáticas en la

región. Esta variación es más notoria en los humedales estacionales que se encuentran en el Altiplano Norte y Lagos del Centro, para 1982 las dos zonas combinadas registraron 1,519,535 aves acuáticas, contrastando con 1991, con un total de 258,520 aves acuáticas, lo que muestra la variación en la distribución de las aves en regiones bajo condiciones ambientales diferentes (SEMARNAT, 2008).

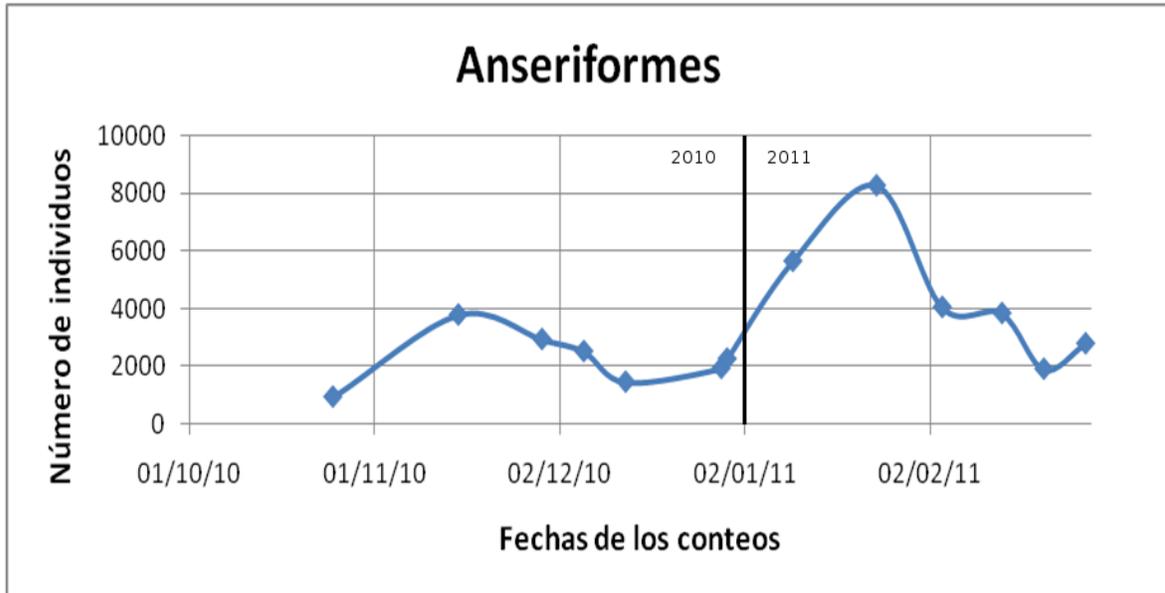


Figura 36. Número de *Anseriformes* presentes en el Bordo las Maravillas durante el estudio. Periodo del 25 de octubre de 2010 al 28 de febrero de 2011.

XIII. Discusión

Previo al análisis y discusión del efecto que tuvieron los resultados sobre la actividad del virus en el agua superficial del bordo, debemos recordar que en casi todos los casos, los estudios publicados sobre virus de influenza tipo A en medio acuático, se han realizado de forma artificial bajo las condiciones controladas de laboratorio (Webster *et al.*, 1978; Stallknecht *et al.*, 1990b; Brown *et al.*, 2009; Davidson *et al.*, 2010; Nazir *et al.*, 2010), con agua destilada y en todos los casos excluyendo diversos factores que se encuentran presentes en un ecosistema natural al mismo tiempo (además del pH, la temperatura y la salinidad), como los efectos del sedimento, la presencia de otros organismos en el medio, los procesos de mezcla en la columna de agua o la radiación solar, por mencionar algunos.

Si bien los parámetros ambientales relevantes (pH, temperatura y salinidad) medidos durante nuestros muestreos indican, que los valores de prácticamente todos ellos se encuentran en los intervalos sugeridos por los diversos autores que han estudiado a este virus en agua (Webster *et al.*, 1978; Stallknecht *et al.*, 1990b; Brown *et al.*, 2009; Davidson *et al.*, 2010; Nazir *et al.*, 2010), también debemos recordar que el diseño experimental que propusimos para esta investigación, se enfocó en conocer la dinámica de las tres variables *in situ* durante la mañana antes del levante, debido a que es cuando las condiciones fisicoquímicas del agua se satisfacen para que los virus sean excretados por las aves y puedan permanecer activos en el agua por lo menos algunas horas, el tiempo suficiente como para infectar a otros individuos y en nuestro caso poder aislarlos activos, aunado a que las aves presentan gran actividad durante el amanecer.

Al revisar los patrones de la profundidad y la transparencia, identificamos que el sistema estudiado se encuentra fuertemente influido por el régimen de vaciado-llenado que se realiza en el bordo para satisfacer las necesidades de los campos de cultivo en la zona. Por ello, los parámetros en el agua del bordo varían a lo largo del año con cambios radicales en cuestión de días, lo cual en un sistema somero como éste podría resultar adverso para los virus de tipo envuelto (menos resistentes que los virus desnudos) como el de influenza.

Se dice que el agua es el disolvente universal, lo cierto es que el agua disuelve a más tipos de sustancias y en cantidades mayores que cualquier otro disolvente (Voet y Voet, 2006), por lo que también representa un obstáculo para los virus que necesitan infectar a otro hospedero en su paso por el agua.

De los parámetros fisicoquímicos identificados en la literatura como determinantes para la permanencia del virus en el medio acuático, durante nuestros muestreos, el pH con valor promedio de 7.2, se mantiene alrededor de los intervalos reportados por los diversos autores, que si bien difieren en los valores propuestos (depende del virus aislado), todos incluyen en su intervalo o tienen un valor cercano al promedio que obtuvimos, así tenemos que fue un poco mayor al referido por Webster *et al.* (1978) con pH=6.8; se encuentra en el conjunto de valores de pH [6.2, 7.2, 8.2] probados por Stallknecht *et al.* (1990b); está por debajo del intervalo [7.4-8.2] expuesto por Brown *et al.* (2009); y resultó mayor a los valores de pH [5, 7] descritos por Davidson *et al.* (2010), donde el pH=5 resultó en la inactivación del virus. Stallknecht y Brown en 2009, hicieron una revisión de diversos estudios sobre el tema y llegan a la conclusión de que el pH por debajo de 6.5, tiene un efecto en la pérdida de infectividad por parte del virus y el intervalo de pH donde presenta más estabilidad es [7.4-8.2]. Sin embargo, el pH que presentó el agua del bordo tiene un intervalo que va de 5.7 a 8.4, esto muestra que el bordo puede llegar a tener valores fuera de los intervalos, muy ácidos o muy alcalinos para el virus. Las aguas alcalinas que rellenan al bordo, con pH de hasta 9 en la cuenca de Lerma (Arteaga, 2010), tendrían un efecto negativo sobre el virus, ya que los valores de pH por encima de 8.2 tienden a inactivarlo.

El bordo las Maravillas presentó una temperatura superficial promedio de 15.4 °C durante la mañana, valor que se encuentra por debajo del valor máximo de 22°C propuesto por Webster *et al.* (1978) para mantener al virus infectivo hasta por 4 días. Stallknecht *et al.* (1990b) determinaron la prevalencia en el intervalo de 17°C a 28°C, encontraron que a partir de los 20°C la persistencia del virus decae, hicieron también pruebas para 4°C y detectaron diferencias para dichos valores que sugieren una mejor transmisión (durante más días) a menores temperaturas. El valor promedio de la temperatura del agua en el bordo se encuentra en el intervalo que Brown *et al.* (2009) indican como propicio para que el virus se mantenga estable, esto es temperaturas menores a 17 °C. La medición promedio de temperatura a 1 m o fondo en el Bordo las Maravillas (14.7°C) concuerda también con los

datos referidos por Webster *et al.* (1978), Stallknecht *et al.* (1990b) y por Brown *et al.* (2009) para mantener la actividad del virus. Nuevamente el promedio cumple con los intervalos durante la mañana, pero el agua del bordo a esas horas tiene valores que alcanzan los 20°C (durante el verano), punto en donde la infectividad del virus disminuiría, y la temperatura ambiente máxima durante todo el año puede superar los 20°C, afectando directamente al agua superficial del bordo.

Davidson *et al.* (2010) encontraron que con pH=5 y una temperatura de 20°C (similar a algunos valores que presentó el bordo), los virus no son detectables en una semana (la mitad del tiempo entre nuestros muestreos), pero con pH=7 y 20°C, se pueden encontrar virus activos hasta por 3 semanas. Nazir *et al.* (2010) encontraron que a 20°C, el virus es activo por mucho más tiempo en agua destilada (84 días) que en aguas superficiales naturales (19 días). Por lo que nuestros datos de muestreo sugieren que el virus no se encuentra por mucho tiempo activo en el bordo.

Para el estudio, la salinidad resultó ser muy pequeña para todo el periodo (promedio de 0.16 ppt), por lo que si bien es por sí misma un parámetro relevante en otros ecosistemas acuáticos (como los salobres y marinos), en nuestro estudio no tiene un papel determinante en la actividad del virus. Los valores se encuentran en el extremo menor del intervalo de salinidad [0-20 ppt] propuesto por Stallknecht *et al.* (1990b) y el intervalo [0-20000 ppm] identificado por Brown *et al.* (2009) para detectar al virus activo.

Si bien los estudios de virus en sedimentos se han dado desde la década de 1990, la gran mayoría han estado dedicados a bacteriófagos (Danovaro *et al.*, 2001; Sano *et al.*, 2004) y son pocos los que se han orientado a virus que afectan directamente a los humanos, como el realizado por Lang *et al.* en 2008, donde se detectó mediante RT-PCR al virus de influenza tipo A en sedimento, sin embargo no mostraron evidencia de haber obtenido virus activos y no se realizó la caracterización fisicoquímica del agua ni del sedimento, por lo que desconocemos si se encontraban en los rangos propuestos por Webster, Stallknecht, Brown y Davidson. En el bordo las Maravillas, el sedimento tuvo un intervalo para el pH de 4.9 a 6.5, todos son valores ácidos que afectarían negativamente al virus.

Se afirma que los virus en general son más abundantes en sedimentos con alto contenido de MO (Maranger y Bird, 1995), sin embargo, aunque el bordo tiene un contenido para MO de mediano a alto, el pH ácido del sedimento podría disminuir rápidamente la actividad del virus de influenza en el fondo. La capacidad de intercambio catiónico (CIC), el pH y la MO revelan que el sedimento es heterogéneo y dinámico (Díaz-Rodríguez, 2006).

La resuspensión (generada por los procesos de vaciado-llenado, el viento y en menor grado la lluvia) del sedimento relativamente ácido, sumado al aporte de materia orgánica alóctona (debido a las aguas grises, confirmado por los nutrientes y los coliformes evaluados en el bordo) generan grandes cambios en la producción primaria del sistema, que incrementan en cuestión de días las poblaciones de plancton, en particular del fitoplancton, hecho relacionado directamente con los procesos redox en el agua (como la fotosíntesis y la respiración, visibles en las variaciones de oxígeno presentados por el bordo). Es un hecho que el sistema se encuentra entre un estado eutrofizado y uno hipereutrofizado, los datos de nutrientes y la transparencia lo respaldan, estos procesos producen cambios para acidificar el pH del agua, procesos que también tendrían un efecto negativo en la actividad del virus.

Los cambios en la profundidad y la transparencia medias (anexo figura 39) influyen directamente en la cantidad de radiación solar que penetra en la columna de agua, que a su vez conlleva a modificaciones en la temperatura, como lo pudimos constatar al obtener los mayores valores de temperatura en las zonas más someras del bordo.

Un factor relevante en el agua del bordo radica en el efecto combinado que presentan la temperatura y el pH, sobre todo con la influencia del sedimento ácido. Los cambios de ambos parámetros en periodos relativamente cortos de tiempo (días y semanas) hacen que el virus se vea comprometido en su actividad. Los datos obtenidos durante los muestreos, sugieren que el virus de influenza tipo A no se encuentra en el sistema estudiado de forma continua y en cantidad suficiente. Lo anterior puede deberse a la escasa presencia del virus en las aves y su dilución en el agua.

El efecto de los factores biológicos en el virus aún son desconocidos (Domanska-Blicharz *et al.*, 2010) y en estudios futuros se deben evaluar. Otro parámetro de importancia,

pero que no pudimos evaluar, es la influencia de la radiación UV, que se sabe tiene un efecto negativo en la estructura del virus (Furuya *et al.*, 2010), pudiendo desnaturalizar su genoma (incluyendo a los viriones del sedimento, que adicionalmente enfrentan las condiciones más ácidas en el fondo). Sin embargo, buena parte de la luz (coeficiente de extinción de 2.8 m) siempre alcanza el fondo del bordo ($Z=0.8\text{m}$), lo cual sugiere que al menos en una sección de la columna de agua (sobre todo cerca de la superficie), el virus puede ser inactivado también por la radiación solar.

En cuanto a los conteos de aves, la diseminación del virus depende de la ecología de los hospederos migrantes, algunas especies realizan pausas durante la migración y se vuelven a reunir en sitios conocidos y definidos en el pasado, resultando en una alta densidad en los sitios, y que conforme a nuestros conteos en el bordo las Maravillas ha sido baja (8,258 patos como máximo), comparada por ejemplo con densidades en humedales de Canadá (más de 20,000 patos en el lago Albert según la Audubon Society en 2010), lo cual es fundamental para la transmisión del virus entre aves silvestres. Además, recordemos que a nuestro país pueden arribar entre 7% y 17% de las aves migratorias provenientes del norte, lo cual representa todavía una menor densidad de aves como posibles hospederos. Para nuestro estudio, las mayores densidades de aves registradas fueron durante enero de 2011, fechas que no concuerda con aquella en donde aislamos el virus (28 de febrero de 2011), por lo que no podemos relacionar directamente al número de aves con la presencia del virus.

El único aislamiento de todas las muestras analizadas en nuestro estudio, coincidió con la baja prevalencia que propone la teoría para las aves migratorias provenientes del norte, esto es, dentro de un intervalo entre 0.25% y 2.4% de la población (Olsen *et al.*, 2006; Munster *et al.*, 2007), tendríamos la oportunidad de aislarlo un número de entre 0 y 3 veces. Considerando entonces la cantidad de aves (relativamente baja si se compara con las poblaciones del norte) y la dilución del virus excretado al agua (con todas sus características), el número de aislados a partir de agua debe ser pequeño. Este número también es consistente con aislamientos anteriores para la zona de Lerma, Cuevas-Domínguez *et al.* en 2009 lo pudieron aislar solo una vez durante la temporada de noviembre-febrero a partir de un individuo de la especie *Anas cyanoptera*, muerto por cazadores; mientras que Barrón en 2009 pudo aislarlo solo durante una ventana de tiempo

de una semana en 3 ocasiones a partir de patos centinelas durante la temporada octubre-febrero. En los dos estudios mencionados no se midió ningún tipo de parámetro ambiental.

La detección del virus de influenza tipo A durante el mes de febrero en el bordo las Maravillas, coincide con estudios como los de Abdelwhab *et al.* (2010) en los que este mes frío se identifica como uno de los de mayor propagación del virus. Para el Estado de México, Carrillo (2010) encontró una de las menores prevalencias en nuestro país (3.8%), lo que en teoría también dificulta la detección del virus en la zona.

Existen diferencias en la prevalencia del virus entre especies de aves acuáticas que están relacionadas con el ambiente en donde viven y su comportamiento, tal como los patrones de alimentación en la superficie del agua y el buceo, que implica la resuspensión del sedimento. Este tipo de ambientes representan teóricamente la oportunidad para que el virus de influenza sea transmitido entre las diferentes poblaciones y subpoblaciones de hospederos potenciales. Sin embargo, los estudios experimentales de excreción viral indican que los animales tienen una pobre y temporal respuesta inmune, las infecciones y dichas respuestas pueden proporcionar una inmunidad adquirida inicial y una inmunidad cruzada hacia otros subtipos del virus, disminuyendo la prevalencia del virus.

La distribución del virus entre estados y países que comparten fronteras (como el caso de México y Estados Unidos) debería ser más constante y notoria a lo reportado por la literatura, pero no lo es y nuestro estudio concuerda con esa observación. Dichas migraciones unen a diversas poblaciones de aves tanto espacial como temporalmente, provocando que las aves infectadas por el virus puedan transmitir estos patógenos a otras poblaciones de aves que posteriormente lleven al virus a otras áreas con nuevas poblaciones, abriendo y cerrando nuevos ciclos, que sin embargo apenas hemos podido corroborar de forma inicial en el bordo las Maravillas.

XIV. Conclusiones

- Este es el primer estudio en México del que se ha obtenido a partir de muestras ambientales de agua superficial, un aislamiento del virus de influenza tipo A.
- El bordo no puede mantener al virus de influenza tipo A por largos periodos de tiempo, los antecedentes de aislamientos del virus en las ciénagas de Lerma y los resultados de este estudio sugieren que es poco probable aislar al virus, debido al número de aves y a la dinámica del agua.
- El sedimento es una variable a considerar porque podría inactivar el virus.
- La administración del bordo con sus procesos de vaciado-llenado, resultó determinante para que las condiciones del agua variaran abruptamente, afectando al ecosistema y a los virus.
- La salinidad en sistemas acuáticos oligohalinos como el bordo las Maravillas, parece no tener una participación relevante como lo haría en sistemas salobres.
- El agua por sí misma, también representa una barrera física, química y biológica que los virus deben cruzar para infectar a individuos susceptibles.
- El sitio donde se aisló al virus presentó una mayor densidad de aves durante todo el estudio.
- La población de aves que el bordo puede mantener no es tan grande como las que tienen otros cuerpos de agua, evitando así condiciones de hacinamiento favorables para los virus.

- La aplicación directa de los resultados de laboratorio a la realidad de los ecosistemas resulta inconsistente debido a la complejidad y a la escala de los sistemas naturales.
- Nuestro estudio aporta datos iniciales para complementar el conocimiento del triángulo epidemiológico en la parte del ambiente.

XV. Recomendaciones

El monitoreo y la biovigilancia deben ser considerados como una estrategia preventiva y constante en los países que son visitados por aves acuáticas migratorias, incluido México. En estudios futuros sobre virus en humedales se recomienda:

- Dar seguimiento al estudio del sedimento al menos de forma semestral, debido a que es uno de los elementos que proponemos (además de los ya mencionados por la literatura) como relevantes para la actividad del virus.
- Realizar estudios en laboratorio sobre el efecto que tiene el sedimento en la actividad del virus (similares a los del agua que ya han sido realizados por investigadores de otros países), con los permisos gubernamentales correspondientes.
- Realizar estudios en laboratorio del efecto que tiene el agua del bordo sobre la actividad del virus (similares a los que ya han sido realizados por investigadores de otros países), con los permisos gubernamentales correspondientes.
- El empleo de termistores sumergibles anclados al sitio para la medición constante de los parámetros del agua como la temperatura.
- El estudio de los parámetros acuáticos se debe realizar en paralelo con los aislamientos a partir de muestras cloacales y traqueales (como los realizados por este mismo laboratorio en el pasado), ya que se complementan mutuamente.
- Realizar colectas semanales con un segundo grupo de muestreo, ya que con muestreos quincenales podemos perder al virus.

- En el futuro se deben obtener datos de clorofila, para hacer la evaluación del estado trófico del sistema de una forma más adecuada.
- Medir en cada muestreo los parámetros del agua en el canal antes de que esta entre al bordo.
- Medir la velocidad del viento *in-situ*.
- El empleo de instrumentos para evaluar la cantidad de radiación solar, en particular la UV que incide sobre la columna de agua.
- Generar grupos de trabajo multidisciplinarios, la problemática cubre además de los aspectos ecológicos y de sanidad, otros como el tecnológico, el económico y el social, por mencionar algunos.
- El estudio, con todas las recomendaciones implementadas, debe seguirse al menos por unos 5 años más para poder tener conclusiones más sólidas y no imágenes puntuales en espacio y tiempo.

XVI. Referencias bibliográficas

Abad F. X., Pintó R. M., Villena C., Gajardo R. y Bosch A. 1997. Astrovirus Survival in Drinking Water. *Applied and Environmental Microbiology*. Aug. 1997, p. 3119-3122.

Abdelwhab E.M., Selim A.A., Arafa A., Galal S., Kilany W.H., Hassan M.K., Aly M. M. y Hafez M.H. 2010. Circulation of Avian Influenza H5N1 in Live Bird Markets in Egypt. *Avian Diseases*, 54(2):911-914.

Alerstam T., Bäckman J., Gudmundsson G., Hedenström A., Henningsson S., Karlsson H., Rosén M. y Strandberg R. 2007. A Polar System of Intercontinental Bird Migration. *Proceedings of the Royal Society B*. 274. 2523-2530.

Arteaga V.M.C. 2010. Calidad de las Aguas Residuales de la Cuenca Lerma-Chapala. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

Arroyo-Bustos G.A.M., López E.L. y Voltolina D. 2008. Planktonic Crustacean Assemblages of three Reservoirs from the Mexican Central Plateau: Relationships with Biotic and Abiotic Factors. *Hidrobiológica* 18 (1): 75-8.

Barrera Y.B. 2010. El Impacto de la Influenza en los Destinos Turísticos, Caso Específico Estado de Baja California Sur “*The Grand Mayan*, Los Cabos”, en Tiempos de Crisis Económica Mundial. Tesina. FCPyS-UNAM. México D.F.

Barrón R.J.R. 2009. Aislamiento e Identificación de Mixovirus Aviáres en un Humedal del Estado de México a Partir de Agua y Patos Centinelas. Tesis de Maestría. FMVZ-UNAM. México D.F.

Basurto A.D. 2009. Influenza A H1N1. Experiencia del Servicio de Pediatría del Hospital de Infectología: Brote Abril-Mayo del 2009. Tesis. FM-UNAM. México D.F.

Baumer A., Feldmann J., Renzullo S., Müller M., Thür B. y Hofmann M.A. 2010. Epidemiology of Avian Influenzavirus in Wild Birds in Switzerland Between 2006 and 2009. *Avian Diseases*, 54(2):875-884.

Bergh Ø., Børsheim, K.Y., Bratbak, G. y Haldal, M. 1989. High Abundance of Viruses Found in Aquatic Environments. *Nature* 340, 467–468.

Bitton G. 1987. Fate of Bacteriophages in Water and Wastewater Treatment Plants. En: *Phage Ecology* (Goyal, S.M., Gerba, C.P. and Bitton, G., Eds.), pp. 181–194. John Wiley & Sons, New York.

Brown J.D., Stallknecht D.E., Beck J.R., Suarez D.L., Swayne D.E. 2006. Susceptibility of North American Ducks and Gulls to H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenzaviruses. *Emerg Infect Dis* 12 (11): 1663-1670.

Brown J.D., Swayne D.E., Cooper R.J., Burns R.E., Stallknecht D.E. 2007. Persistence of H5 and H7 Avian Influenzaviruses in water. *Avian Dis* 50 (suppl): 285-289.

- Brown J.D., Goekgian G., Poulson R., Valeika S., Stallknecht D. 2009. Avian Influenzavirus in Water: Infectivity is Dependent on pH, Salinity and Temperature. *Veterinary Microbiology* 136 20–26.
- Brown I. H. 2010. Summary of Avian Influenza Activity in Europe, Asia, and Africa, 2006–2009. *AVIAN DISEASES* 54:187–193.
- Campos L.A.E. 2010. Influenza Pandémica A H1N1 2009 en la Cohorte de Pacientes con VIH/SIDA del INCMNSZ durante la Primera Fase de la Epidemia en la Ciudad de México. Tesis. FM-UNAM. México D.F.
- Cann A. 2005. *Principles of Molecular Virology*. 4th Edition. Elsevier Academic Press. EUA.
- Carlson R.E. 1977. A Trophic State Index for Lakes. *Limnology and Oceanography*. 22:361-369.
- Carranza F.J.M. 2010. Cinética de Excreción del Virus de Influenza en el Pato. Tesis de Maestría. FMVZ-UNAM. 66 pp.
- Carrillo G.N. 2010. Informe Final de Servicio Social: Diagnostico de los Virus de Influenza Aviar y Enfermedad de Newcastle en el año 2009 y Analisis Comparativo de las Frecuencias de Aislamientos del 2007 al 2009 en el Laboratorio de Bioseguridad nivel 3 de la CPA. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. México D.F.
- Chen-Tung A.C. y Millero F.J. 1986. Precise Thermodynamic Properties for Natural Waters Covering Only the Limnological Range. *Limnology and Oceanography*. Vol. 31, No. 3 (May, 1986), pp. 657-662.
- CNA. 2009. Atlas del Agua en México 2009. Comisión Nacional del Agua. México D.F.
- Contreras-Espinosa F. y Wagner B.G. 2004. Ecosystem Characteristics and Management Considerations for Coastal Wetlands in Mexico. *Hydrobiologia*. Volumen 511, números 1-3, 233-245.
- Crees S. W. 2004. A Guide to Bird Watching, How to Identify Birds. En: Podulka S., Rohrbaugh R.W. y Bonney R., editores. *Handbook of Bird Biology*. 2da ed. Nueva York, Estados Unidos: The Cornell Lab of Ornithology, 2004: 2.1-2.58.
- CSC. 2008. Registro de Biovigilancia de Células y Tejidos de las Islas Baleares. Notificación 2008. Conselleria de Salut i Consum. DGAA. Govern de les Illes Balears.
- Cuevas-Domínguez E., González-Guzmán S., Quintana-López J., Loza-Rubio E., González-Rebeles C., García-Espinosa G. 2009. Detección de Orthomyxovirus H7N3 en Anátidos del Estado de México. *REDVET*. Revista electrónica de Veterinaria. ISSN: 1695-7504. 2009 Vol. 10, N° 4. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040409.html>
- Danovaro R. , Dell'anno A., Trucco A., Serresi M. y Vanucci S. 2001. Determination of Virus Abundance in Marine Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, Mar. 2001, p. 1384–1387.
- Davidson I., Nagar S., Haddas v, Ben-Shabat M., Golender v, Lapin E., Altory A., Simanov L., Ribshstein I., Panshin A. y S. Perk. 2010. Avian Influenzavirus H9N2 Survival at Different Temperatures and pHs. *Avian Diseases*, 54(s1):725-728.

Díaz-Rodríguez J. A., Lozano-Santa Cruz R., Dávila-Alcocer V.M., Vallejo E. y Girón P. 1998. Physical, Chemical, and Mineralogical Properties of Mexico City: a Geotechnical Perspective. Canadian Geotechnical Journal, Vol. 35, No. 4, pp. 600-610.

Díaz-Rodríguez J. A. 2006. Los Suelos Lacustres de la Ciudad de México. Rev. Int. de Desastres Naturales, Accidentes e Infraestructura Civil. Vol. 6(2) 111.

Díaz-Vargas M., Elizalde E.A., Quiroz H.C., García J.R., Molina I.E. 2005. Caracterización de Algunos Parámetros Físico Químicos del Agua y Sedimento del Lago Zempoala, Morelos, México. Acta Universitaria, Mayo-Agosto, año/vol 15, numero 2. Universidad de Guanajuato, pp. 57-56.

Domanska-Blicharz K., Minta Z., Smietanka K., Marche S., Van Den Berg T. 2010. H5N1 High Pathogenicity Avian Influenzavirus Survival in Different Types of Water. Avian Diseases 54:734-737.

Downing J.A. y McCauley E. 1992. The Nitrogen:Phosphorus Relationship in Lakes. Limnol. Oceanogr., 37(5), 936-945, by the American Society of Limnology and Oceanography, Inc.

Espinosa A.C., Mazari-Hiriart M., Espinosa R., Maruri-Avidal L., Méndez E., Arias C.F. 2008. Infectivity and Genome Persistence of Rotavirus and Astrovirus in Groundwater and Surface Water. Water Research. No 42, 2618-2628.

Espinosa A. C., Arias C. F., Sánchez-Colón S. y Mazari-Hiriart M. 2009. Comparative Study of Enteric Viruses, Coliphages and Indicator Bacteria for Evaluating Water Quality in a Tropical High-Altitude System. Environmental Health (2009) 8:49.

Feng P., Weagant S.D. y Grant M.A. 2002. Bacteriological Analytical Manual (BAM). Chapter 4. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. FDA. USA.

Fong T.T. y Lipp E.K. 2005. Enteric Viruses of Humans and Animals in Aquatic Environments: Health Risks, Detection, and Potential Water Quality Assessment Tools. Microbiology and Molecular Biology Reviews, June 2005, p. 357–371 Vol. 69, No. 2.

Furuya Y., Regner M., Lobigs M., Koskinen A., Müllbacher A. y Alsharifi M. 2010. Effect of Inactivation Method on the Crossprotective Immunity Induced by Whole 'Killed' Influenza A Viruses and Commercial Vaccine Preparations. Journal of General Virology, 91, 1450–1460.

Güitron A. 2005. En: Los Retos del Agua en la Cuenca Lerma-Chapala. Aportes para su Estudio y Discusión. Sergio Vargas y Eric Mollard (editores). IRD-IMTA. Jiutepec, Morelos. México.

Hernández C.A. 2010. Elaboración de una Guía Electrónica para la Identificación de las Aves Acuáticas de Importancia Epizootiológica para Influenza Aviar en México. Tesis. FMVZ-UNAM. 210 pp.

Hijnen W.A.M., Beerendonk E.F. y Medema G.J. 2006. Inactivation Credit of UV Radiation for Viruses, Bacteria and Protozoan (Oo)cysts in Water: A review. Water Research Volume 40, Issue 1, January 2006, 3-22.

Hinshaw, V.S., Webster, R.G., Turner, B. 1980. The Perpetuation of Orthomyxoviruses and Paramyxoviruses in Canadian Waterfowl. Can. J. Microbiol. 26, 622–629.

IB-UNAM-CNAR. 2005. Instituto de Biología. "*Hyla eximia* - IBUNAM:CNAR:AR94". UNIBIO: Colecciones Biológicas. 2005-09-27. Universidad Nacional Autónoma de México. Consultada en: 2011-5-3. Disponible en:<http://unibio.unam.mx/collections/specimens/urn/IBUNAM:CNAR:AR94>

ICTVdB - The Universal Virus Database, version 3. Página visitada el 25 de noviembre de 2009. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdb/>

LICA. 1984. Estudio para la Restauración del Hábitat de las Aves Acuáticas Migratorias. LICA. SEDUE. SE. México.

INEGI. 2000. XII Censo General de Población y Vivienda.

INH-DER. 2008. Inventario Nacional de Humedales. Documento Estratégico Rector. SEMARNAT-CONABIO-INEGI. México. 57 pp.

Ip H., Flint P., Franson J.C., Dusek R.J., Derksen D.V., Gill R.E., Ely C.R., Pearce J.M., Lancot R.B., Matsuoka S.M., Irons D.B., Fischer J.B., Oates R.M., Petersen M.R., Fondell T.F., Roque D.A., Pedersen J.C. y Rothe T.C. 2008. Prevalence of Influenza A Viruses in Wild Migratory Birds in Alaska: Patterns of Variation in Detection at a Crossroads of Intercontinental Flyways. *Virology Journal* 5:71. BioMed Central.

Ito T, Okazaki K, Kawaoka Y, Takada A, Webster RG, Kida H. 1995. Perpetuation of Influenza A Viruses in Alaska Waterfowl Reservoirs. *Arch Virol* 1995, 140:1163-1172.

James W.F., Dechamps A., Turyk N. y McGinley P. 2007. Contribution of *Potamogeton crispus* Decay to the Phosphorus Budget of McGinnis Lake, Wisconsin. ERDC-APCRP. U.S. Army Engineer Research and Development Center Geotechnical and Structures Laboratory 3909 Halls Ferry Road Vicksburg, MS 39180-6199. USA.

Kramer G., Carrera E. y Zavaleta D. 1995. Waterfowl Harvest and Hunting Activity in Mexico. Pp: 182-215. In: 60th North American Natural Resources and Wildlife Conference. EUA.

Kratzer C.R. y Brezonik P.L. 1981. A Carlson-type trophic state index for nitrogen in Florida lakes. *Water. Res. Bull.* 17: 713-715.

Lang A.S., Kelly A. y Runstadler J.A. 2008. Prevalence and Diversity of Avian Influenzaviruses in Environmental Reservoirs. *Journal of General Virology*, 89, 509–519.

Lopez B.E.M., Iturbe J.L.G., Lopez R.C. y Olea O.C. 2006. Physicochemical Analysis of Rainwater and Suspended Matter from Toluca City and Salazar, state of Mexico. *International Journal of Environment and Pollution*. Volume 26, Number 1-3, pp: 187 – 200.

López J.A.S., Hernández E.A.A., Morales E.J.R., Domínguez A.L. y Vázquez L.M.G. 2007. Lista Florística del Campus Universitario el Cerrillo de la Universidad Autónoma del Estado de México. *Revista Ciencias Agrícolas INFORMA*. Revista Anual, pp 55-65. UAEM. Toluca. México.

Lowe E. F., Brooks J. E., Fall C. J., Gerry L. R. y Hall G. B. 1984. U.S. EPA Clean Lakes Program, Phase I Diagnostic-Feasibility Study of the Upper St. Johns River Chain of Lakes. Volume 1 - Diagnostic Study. Technical Publication SJ 84-15. Environmental Specialists Department of Water Resources St. Johns River Water Management District P. O. Box 1429 Palatka, Florida.

MAPA. 2003. (23714) REAL DECRETO 1697/2003, de 12 de diciembre, por el que se crea la Comisión Nacional de Biovigilancia. MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. BOE núm. 310. Sábado 27 diciembre 2003. España.

Maranger R. y Bird D.F. 1995. High Concentrations of Viruses in the Sediments of Lac Gilbert, Québec. *Microbial Ecology*. Volume 32:2, pp 141-151.

Montelongo M.J. 1998. La Influenza Aviar en México Durante el Periodo Comprendido de Mayo de 1994 a Agosto de 1995. Tesis. FMVZ-UAEM. Toluca. Estado de México.

Munster V.J., Baas C., Lexmond P., Waldenström J., Wallensten A. 2007. Spatial, Temporal, and Species Variation in Prevalence of Influenza A Viruses in Wild Migratory Birds. *PLoS Pathog* 3(5).

National Geographic Society. 2006. *Field Guide to the Bird of North America*. 5ta. ed. National Geographic Society, Washinton, D. C.

Nazir J., Haumacher R., Ike A., Stumpf P., Böhm R. y Marschang R.E. 2010. Long-Term Study on Tenacity of Avian Influenzaviruses in Water (Distilled Water, Normal Saline, and Surface Water) at Different Temperatures. *Avian Diseases*, 54(s1):720-724.

NOM-001-SEMARNAT-1996. Norma Oficial Mexicana: LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE CONTAMINANTES EN LAS DESCARGAS DE AGUAS RESIDUALES EN AGUAS Y BIENES NACIONALES. Diario Oficial de la Federación. México, D.F., a 06 de enero de 1997.

NOM-021-SEMARNAT-2000. Norma Oficial Mexicana: ESPECIFICACIONES DE FERTILIDAD, SALINIDAD Y CLASIFICACIÓN DE SUELOS, ESTUDIO, MUESTREO Y ANÁLISIS. Diario Oficial de la Federación. México, D.F., a 31 de diciembre de 2002.

NOM-044-ZOO-1995. Norma Oficial Mexicana: CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA INFLUENZA AVIAR. Diario Oficial de la Federación. México, D.F., a 30 de enero de 2006.

NOM-112-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana: BIENES Y SERVICIOS. DETERMINACIÓN DE BACTERIAS COLIFORMES. TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE. Diario Oficial de la Federación. México, D.F., a 10 de mayo de 1995.

Olsen B., Munster V.J., Wallensten A., Waldenström J., Osterhaus A.D.M.E., Fouchier R.A.M. 2006. Global Patterns of Influenza A Virus in Wild Birds. *Science* Vol 312.

Pancorbo O., Evanshen B. G., Campbell W. F., Lambert S., Curtis S. K. y Woolley T. W. 1987. Infectivity and Antigenicity Reduction Rates of Human Rotavirus Strain Wa in Fresh Waters. *Applied and Environmental Microbiology*. Aug. 1987, Vol. 53, No. 8. pp. 1803-1811.

Pérez-Rojas A., Torres-Orozco R., Morales-Gutiérrez E. y Pérez-Méndez E. 2000. Textura, Composición y Contenido de Materia Orgánica de los Sedimentos Recientes de un Lago Tropical de México. *Hidrobiológica*. 10(1):41-50.

Peterson, R. T. y Chalif E. L. 1989. *Aves de México*. Editorial Diana, WWF. México, D.F.

Proctor, L.M., Fuhrman, J.A. y Ledbetter, M.C. 1988. Marine Bacteriophages and Bacterial Mortality. *EOS* 69, 1111–1112.

- Quezada D.C. 2004. Presencia de Patos pijije, ala blanca (*Dendrocygna autumnalis*) y canelo (*Dendrocygna bicolor*), en Toluca, Estado de México. Huitzil (2004) 5:1-2.
- Quezada D.C. 2009. Composición de la Dieta de Otoño del Pato Mexicano (*Anas diazi*) en el Vaso Sur de las Ciénegas del Lerma, Estado de México. Revista Mexicana de Biodiversidad 80: 193-202.
- Quiroz C.H., García R.J., Molina A.F.I., Díaz V.M. y Trujillo J.P. 2010. Condiciones Abióticas de la Presa “El Abrevadero”, Utilizada para el Cultivo Extensivo de *Oreochromis niloticus* en Morelos, México. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504 Volumen 11 Número 07.
- Ramírez H.U.S., Zárate P.F., García M.E.G., De la torre O.V., Israde I.A. y Meulenert A.R.P. 2007. Disolución de Sílice Biogénica en Sedimentos de Lagos Utilizados como Bioindicadores de Calidad del Agua. E-Gnosis, año/vol 5. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.
- Ramos F. G., Martins F. F., Baur C. V., Machado T. F., Shubo T., Gagliardi J. P., Pereira M. M. 2008. Molecular Detection of Human Astrovirus in an Urban Sewage Treatment Plant in Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. Vol. 103(8):819-823.
- Ritchie B.W., Harrison G.J., Harrison L.R. 1994. Avian Medicine: Principles and Application. Florida:Wingers Publishing.
- Romero L.M.L. 1996. Evaluación de dos Calendarios de Vacunación Contra la Enfermedad de Influenza Aviar en Pollo de Engorda de la Línea Ladian River, en una Zona de Alto Riesgo Sanitario. Tesis. FMVZ-UAEM. Toluca. Estado de México.
- Sano E., Carlson S., Wegley L. y Rohwer F. 2004. Movement of Viruses between Biomes. Applied and Environmental Microbiology. Oct. 2004, p. 5842-5846.
- Senne D.A. 2008. Virus Propagation in Embrionating Eggs. En: Dufour-Zavala L., Swayne D.E., Glisson J.R., Pearson J.E., Reed W.M., Jackwood M.W. y Woolcock P.R. (Editores). A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens, 5th American Association of Avian Pathologists, Athens, Georgia, pp 204-208.
- SEMARNAP-CNA. 1989. Documento elaborado con base en: Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología. Criterios Ecológicos de la Calidad del Agua CE-CCA-001/89. Diario Oficial de la Federación, Miércoles 13 de diciembre de 1989.
- SEMARNAT. 2008. Estrategia para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable de las Aves Acuáticas y su Hábitat en México. Primera edición. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México D.F.
- SEMARNAT. 2009. Página de internet visitada el 01-11-2009. http://www.semarnat.gob.mx/gestionambiental/vidasilvestre/Documents/triptico_ia_semarnat.pdf
- Soriano L.D.G. 2009. Monitoreo de Influenza Aviar en Aves Silvestres en Humedales de la República Mexicana. Tesis de Maestría. ENCB-IPN. México D.F.
- Sosa M.M.C. 2010. Consecuencias Económicas de la Influenza A H1-N1 en Cancún, Quintana Roo: 2009-2010. Tesina. FE-UNAM. México D.F.

- Spackman E., Stallknecht D. E., Slemons R. D., Winker K., Suarez D. L., Scott M., Swayne D. E. 2005. Phylogenetic Analyses of Type A Influenza Genes in Natural Reservoir Species in North America Reveals Genetic Variation. *Virus Research* 114 (2005) 89–100.
- Stallknecht D. E., Shane S. M., Kearney M. T., Zwank P. J. 1990. Persistence of Avian Influenzaviruses in Water. *Avian Diseases*. American Association of Avian Pathologists. Vol. 34, No. 2 (Apr. - Jun., 1990), pp. 406-411.
- Stallknecht D. E., Shane S. M., Kearney M. T., Zwank P. J. 1990. Effects of pH, Temperature, and Salinity on Persistence of Avian Influenzaviruses in Water. *Avian Diseases*. American Association of Avian Pathologists. Vol. 34, No. 2 (Apr. - Jun., 1990), pp. 412-418.
- Stallknecht D.E. y Brown J.D. 2009. Tenacity of Avian Influenzaviruses. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 28 (1), 59-67.
- Stallknecht D.E., Goekjian V.H., Wilcox B.R., Poulson R.L. y Brown J.D. 2010. Avian Influenzavirus in Aquatic Habitats: What Do We Need to Learn? *Avian Diseases* 54(s1):461-465.
- Sturm-Ramirez K. M., Hulse-Post D.J., Govorkova E. A., Humberd J., Seiler P., Puthavathana P., Buranathai C., Nguyen T. D., Chaisingh A., Long H. T., Naipospos T. S. P., Chen H., Ellis T. M., Guan Y., Peiris J. S. M. y Webster R. G. 2005. Are Ducks Contributing to the Endemicity of Highly Pathogenic H5N1 Influenzavirus in Asia? *Journal of Virology*. Vol 79 No 17, p 11269-11279.
- Suttle, C.A., Chan, A.M. y Cottrell, M.T. 1990. Infection of Phytoplankton by Viruses and Reduction of Primary Productivity. *Nature* 347, 467–469.
- Tejeda S., Avila-Pérez P., Zarazúa G., Carapia-Morales I., Díaz-Delgado C. y Lugo J. 2005. 279-296 pp. En: Rivera-Trejo, Gutiérrez-López, Val-Segura, Mejía-Zermeño, Sánchez-Ruíz, Aparicio-Mijares. Díaz-Flores. (Editores) *Distribución de Metales Pesados en Sedimentos: Estudio del Curso Alto del Río Lerma*. Ediciones IMTA-UJAT, Jiutepec, Morelos / Villahermosa, Tabasco, México 318 pp.
- Timmreck T. C. 2002. *An Introduction to Epidemiology*. Epidemiology Series. 3rd edition, Jones & Bartlett Learning Editors, 505 pp.
- Torrella, F. y Morita, R.Y. 1979. Evidence by Electron Micrographs for a High Incidence of Bacteriophage Particles in the Waters of Yaquina Bay, Oregon: Ecological and Taxonomical Implications. *Appl. Environ. Microbiol.* 37, 774–778.
- U. S. Fish and Wildlife Service. 2001. *Mexico Winter Waterfowl Surveys*. U. S. Dep. Int., Portland, Oregon. 23 pp.
- Valentine A.F. y Chapman G.B. 1966. Fine Structure and Host–Virus Relationship of a Marine Bacterium and its Bacteriophage. *J. Bacteriol.* 92, 1535–1554.
- Vásquez C., Ariza A., Pinilla G. 2006. Descripción del Estado Trófico de Diez Humedales del Altiplano Cundiboyacense. *Universitas Scientiarum*. Año/Vol. 11, num 2, julio-diciembre. Bogotá. Colombia. Pp 61-75.
- Vázquez-Rivera H. 2001. *Distribución Temporal de Aves en Cuatro Hábitats y su Relación con las Características de la Vegetación, en Ocoyoacac, Estado de México (tesis de licenciatura)*. Toluca, Estado de México, México: UAEM.

- Vázquez-Rivera H. 2004. Preferencia de Hábitat por la Avifauna presente en la Laguna Chimaliapan, Ciénagas de Lerma, Lerma, Estado de México (tesis de maestría). México, (Distrito Federal) México: UNAM.
- Vera N.L. 1995. Aislamiento del Virus de la Influenza Aviar (cepa a/pollo/Valle de Bravo/1994 H5N2) a partir de Pollo de Engorda en el Municipio de Valle de Bravo, México, en Coinfección con el Virus de la Bronquitis Infecciosa. Tesis de Maestría. FMV-UNAM. México D.F.
- Villarreal C. 2009. Avian Influenza in Mexico. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 2009, 28 (1), 261-265.
- Voet D. y Voet J. 2006. *Bioquímica*. Editorial Panamericana. Tercera Edición. México.
- Webster, R.G., Yakhno, M., Hinshaw, V.S., Bean, W.R., Murti, K.G. 1978. Intestinal Influenza: Replication and Characterization of Influenzaviruses in Ducks. *Virology* 84, 268–278.
- Whitworth D., Newman S. H., Mundkur T. y Harris P. 2007. *Wild Birds and Avian Influenza: An Introduction to Applied Field Research and Disease Sampling Techniques*. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Animal Production and Health, 2007.
- WHO. 2004. *Guidelines for Drinking Water Quality. Third Edition. Volume 1. Recommendations*. Geneva 2004.
- WHO. 2007. *Review of Latest Available Evidence on Potential Transmission of Avian Influenza (H5N1) Through Water and Sewage and Ways to Reduce the Risks to Human Health*. Last updated 10/10/2007. Public Health and Environment. World Health Organization. Geneva 2006.
- Wiebe, W. y Liston, J. 1968. Isolation and Characterization of a Marine Bacteriophage. *Mar. Biol.* 1, 244–249.
- Yates M., Gerba C. P. y Kelley L. M. 1985. Virus Persistence in Groundwater. *Applied and Environmental Microbiology*. Apr. 1985, Vol. 49, No. 4. pp. 778-781.

XVII. Anexo

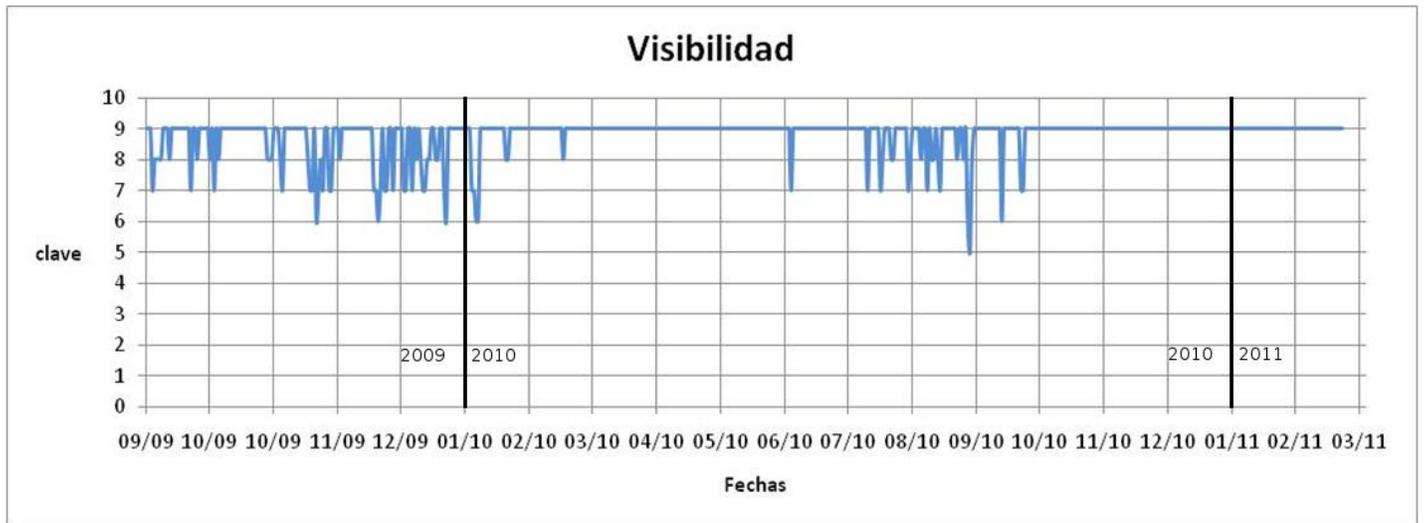


Figura 37. Visibilidad en el Campus Cerrillos de la UAEM. Visibilidad promedio de 8.8 (clave adimensional) durante el estudio. Datos de la Estación Meteorológica 1.

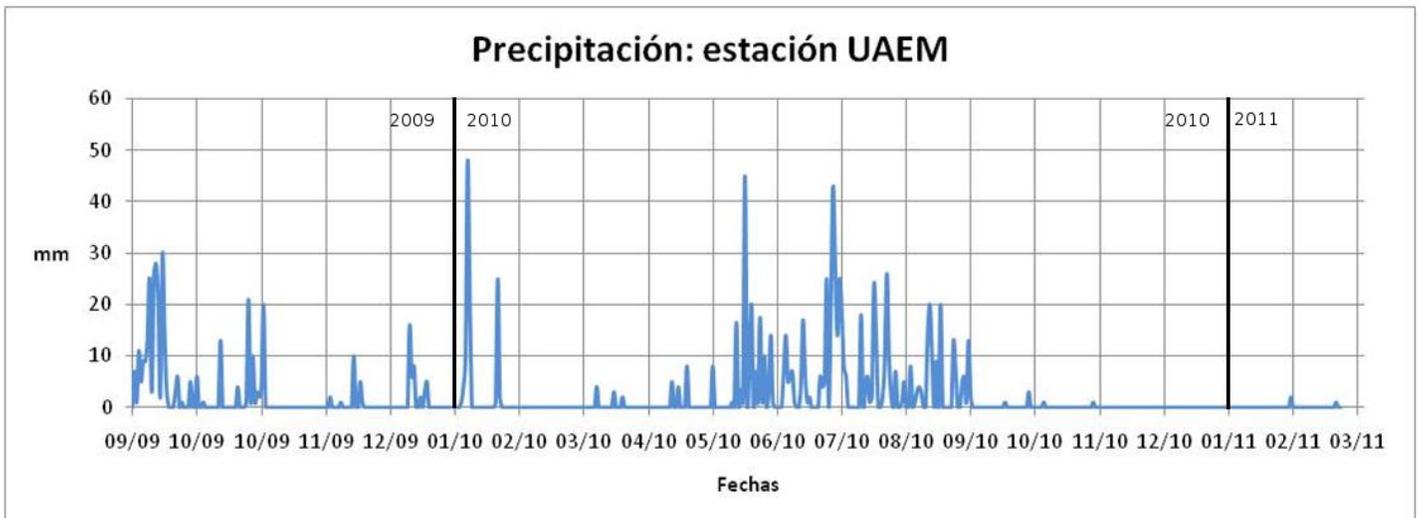


Figura 38. Precipitación en el Campus Cerrillos de la UAEM. Precipitación promedio de 2.2 mm durante el estudio. Datos de la Estación Meteorológica 1.

Fecha	NT [mg/L]	IET-NT	Atributo NT
07/12/09	8.5	85.3	hipereutrífico
11/01/10	10.8	88.8	hipereutrífico
08/02/10	12.1	90.4	hipereutrífico
22/02/10	7.9	84.3	hipereutrífico
08/03/10	6.0	80.3	hipereutrífico
22/03/10	5.7	79.6	eutrófico
05/04/10	6.1	80.5	hipereutrífico
26/04/10	9.1	86.3	hipereutrífico
17/05/10	10.4	88.2	hipereutrífico
31/05/10	13.1	91.6	hipereutrífico
21/06/10	8.0	84.5	hipereutrífico
12/07/10	13.8	92.3	hipereutrífico
02/08/10	9.4	86.8	hipereutrífico
16/08/10	8.4	85.2	hipereutrífico
23/08/10	7.5	83.5	hipereutrífico
30/08/10	6.4	81.2	hipereutrífico
06/09/10	9.0	86.2	hipereutrífico
20/09/10	6.9	82.3	hipereutrífico
04/10/10	6.6	81.7	hipereutrífico
11/10/10	7.1	82.7	hipereutrífico
25/10/10	7.7	83.9	hipereutrífico
09/11/10	10.6	88.5	hipereutrífico
22/11/10	17.9	96.1	hipereutrífico
29/11/10	14.1	92.6	hipereutrífico
06/12/10	6.9	82.3	hipereutrífico
13/12/10	11.1	89.2	hipereutrífico
29/12/10	11.8	90.1	hipereutrífico
10/01/11	6.9	82.3	hipereutrífico
24/01/11	12.6	91.0	hipereutrífico
04/02/11	21.1	98.5	hipereutrífico
14/02/11	6.9	82.3	hipereutrífico
21/02/11	15.8	94.3	hipereutrífico
28/02/11	6.9	82.3	hipereutrífico

Tabla 6. Índice del Estado Trófico en el bordo las Maravillas (NT). Se utilizó la ecuación 3, propuesta para el nitrógeno total (NT) por Kratzer y Brezonik (1981). El resultado fue muy similar al del FT.

$$IET(NT) = 54.45 + 14.43 \ln(NT) \quad (\text{ecuación 3})$$

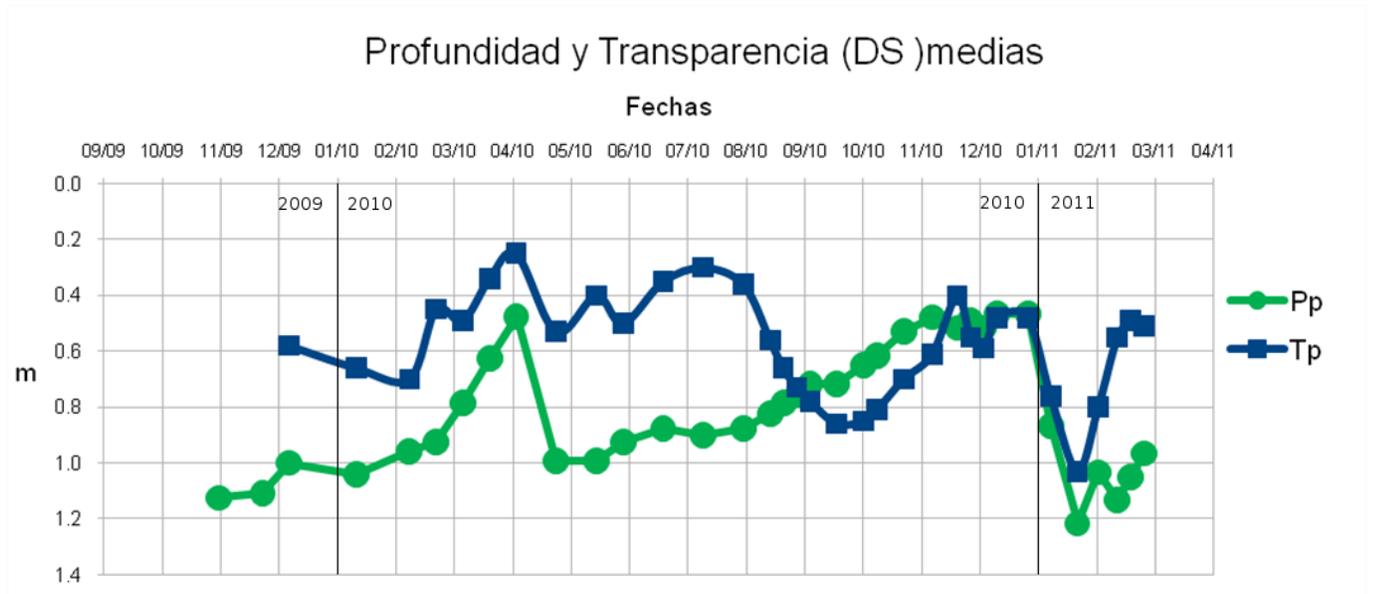


Figura 39. Profundidad y transparencia medias en el bordo las Maravillas. Pp: profundidad promedio, Tp: transparencia promedio.