



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

“Presencia de Amibas de vida libre en la Sub cuenca Valle de Bravo-Amanalco y su relación con algunos parámetros fisicoquímicos”

TESIS

Que para obtener el título de:

Bióloga

Presenta:

Erika Uribe Ríos

Directora de Tesis:

Dra. Patricia Bonilla Lemus

Los Reyes Iztacala, Estado de México 2014



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.

DEDICATORIAS

A Dios porque nunca me ha dejado aun en los momentos de mayor soledad.

A mi madre María Elena Navarrete, quien fuera mi motor de vida y aliento para seguir adelante, TE AMO y sé que estas siempre cerca de mí.

A mi tío Ricardo, quien ha sido más que un padre, guía por mucho tiempo en este camino llamado vida, me alentó a terminar mis estudios.

A Octavio, gracias por darme la libertad de ser quien soy.

A Max, por su apoyo, comprensión y paciencia para la terminación de este ciclo y gracias por acompañarme en una nueva etapa TQ.

A la Profesora Patricia Bonilla Lemus por ser una guerrera y ejemplo, así como darme un poco de su tiempo, apoyo y dedicación, pero sobre todo por su paciencia para concluir este proyecto.

A Sarai (Dixis), amiga incondicional, por enseñarme a creer en mí, por demostrarme que la vida es lo que nosotros queremos de ella y por apoyarme siempre.

AGRADECIMIENTOS

AMIGOS:

A Judith por enseñarme a sonreírle a la vida a pesar de ser días nublados.

A mis amigos los Muppets; Ara, Gus, Johnny, Super Leo, Dous, al Animal, gracias por cada momento de alegría y apoyo en la carrera.

A Elizabeth Oviedo por su paciencia, regaños y consejos, pero sobre todo por cuidar, querer, amar y procurar a uno de mis dos grandes pilares (Ricardo).

A mi mejor amiga "Erika Silva" que aunque ya no nos vemos como antes, siempre está presente en los buenos y malos momentos.

A mi confidente, Abraham Santamaría que día a día me presiona con la tesis y me apoya a pesar de estar mal.

A los amigos que conocí al final de la carrera; Mayte, Copo, Sandra y Benjamín, que a diario me animaban sin necesidad de saber si estaba mal y que aunque ya no nos vemos, fueron ese aliento que apoyo mi salida de la universidad.

A mis sinodales por su tiempo y empuje para la culminación de este trabajo.

"EL AUTÉNTICO AMIGO ES EL QUE SABE TODO SOBRE TI Y SIGUE SIENDO TU AMIGO"

PROYECTO CyMA

A Chio gracias por hacer amena la estancia en el Laboratorio, a don Luis gracias por su apoyo, sus buenos consejos y por aguantarme tanto tiempo, a mi Asesora por ser un estupendo ser humano y ante todo aguantarme.

A las Maestras Ma. del Rosario Sánchez Rodríguez y Elizabeth Ramírez Flores por sus enseñanzas.

Un agradecimiento especial al Dr. Javier Carmona Jiménez de la Facultad de Ciencias, UNAM, por las facilidades brindadas para los muestreos y realización de este trabajo.

Al Laboratorio de Biogeoquímica Acuática del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM y al Laboratorio de Calidad del agua del Proyecto de Conservación y Mejoramiento del Ambiente de la FES-Iztacala, por las facilidades proporcionadas.

A la Dra. Gloria Vilaclara Fatjo de la FESI y al Dr. Martín Merino Ibarra del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología.

A DGAPA-PAPIIT IN209107. 2006-2009. Por el apoyo financiero para la realización del proyecto de investigación: "Caracterización de las comunidades algales y su empleo como indicadoras de la calidad del agua en afluentes de la presa Valle de Bravo".

"A todos, gracias por su cariño, confianza y apoyo para que este capítulo se cerrara".

CONTENIDO

I. RESUMEN.....	3
II. INTRODUCCIÓN.....	5
III. MARCO TEÓRICO	6
III.1 AMIBAS DE VIDA LIBRE (AVL).....	6
III.2. IMPORTANCIA MÉDICA.....	9
III.2.1. MENIGOENCEFALITIS AMIBIANA PRIMARIA (MEAP)	9
III.2.2. ENCEFALITIS AMEBIANA GRANULOMATOSA (EAG)	9
III.2.3. QUERATITIS AMEBIANA (QA).....	10
III.2.4. INFECCIONES NASOFARÍNGEAS Y CUTÁNEAS.....	10
III.3. AGUAS SUPERFICIALES.....	11
IV. ANTECEDENTES.....	12
V. JUSTIFICACIÓN	15
VI. OBJETIVOS	17
VI.1. OBJETIVO GENERAL	17
VI.2. OBJETIVOS PARTICULARES	17
VII. ÁREA DE ESTUDIO	18
VII.1. HIDROLOGÍA	18
VII.2. CLIMA.....	21
VIII MATERIAL Y MÉTODOS	23
VIII.1. TRABAJO DE CAMPO.....	23
VIII.2. TRABAJO DE LABORATORIO	24
VIII.3. AISLAMIENTO Y CULTIVO DE AVL	25
VIII.4. CULTIVO AXÉNICO	25
VIII.5. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA.....	25
VIII.6. PRUEBA DE TOLERANCIA A LA TEMPERATURA	26
VIII.7. PRUEBA DE PATOGENICIDAD.....	26
IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
IX.1. PRESENCIA DE GÉNEROS DE AVL.....	38
IX.2. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PATOGENICIDAD.....	39
IX.3. PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS.....	40

IX.3.1. TEMPERATURA	40
IX.3.2. pH	41
IX.3.3. SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES (SST)	42
IX.3.4. CONDUCTIVIDAD.....	43
IX.3.5. OXÍGENO DISUELTO (OD), DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO ₅) Y DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO).....	43
IX.3.6. DBO ₅ Y DQO	44
IX.3.6. NITRATOS, NITRITOS Y AMONIO.	47
IX.3.7. FOSFATOS	49
IX.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	50
X. CONCLUSIONES	52
REFERENCIAS	53
ANEXO 1.....	58
ANEXO 2.....	60

I. RESUMEN

Las amibas de vida libre (AVL) son ubicuas en la naturaleza, encontrándose en aire, suelo, agua de mar, ríos, piscinas, etc., alimentándose de bacterias y materia orgánica. Y entre éstas, algunas pueden causar enfermedades en el hombre y animales, por lo que se les denomina también amibas anfitoicas. La presente investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de AVL en 6 ríos afluentes a la Subcuenca de Valle de Bravo en el Estado de México y su relación con algunos parámetros fisicoquímicos.

El trabajo se dividió en 2 fases: a) campo, 5 muestreos en 6 ríos durante un año en los que se midieron los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH, Temperatura y Oxígeno disuelto (OD), b) laboratorio, Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), Demanda Química de Oxígeno (DQO), alcalinidad, nitritos (N-NO₂), nitratos (N-NO₃), amonio (N-NH₄), fosfatos (P-PO₄), conductividad y Sólidos Suspendidos Totales (SST).

Se llevó a cabo el aislamiento y cultivo de las AVL en medios específicos y se realizaron las pruebas de tolerancia a la temperatura y patogenicidad. La identificación morfológica se realizó usando las claves de Page (1988). Se identificaron 28 especies pertenecientes a 15 géneros, los géneros con mayor presencia fueron *Acanthamoeba*, *Vahlkampfia* y *Platyamoeba*, solamente un aislamiento del género *Acanthamoeba* resultó con baja virulencia.

El mayor número de aislamientos se obtuvo en Pipioltepec probablemente debido a que es una de las zonas más cercanas al embalse y concentran mayor cantidad de materiales producto de los asentamientos urbanos presentes a lo largo de los ríos.

La mayor riqueza específica de AVL se obtuvo durante la época de lluvias y el número de aislamientos por sitio de muestreo a excepción de La Alameda, fue muy similar

A excepción de los ríos Pipioltepec y Amanalco que muestran cierto grado de contaminación, el agua del resto de los ríos analizados tienen buena calidad fisicoquímica.

Estadísticamente se encontró correlación positiva moderada entre la presencia de AVL con los SST, probablemente debido a que los sólidos están constituidos por materia orgánica e inorgánica, y al haber incremento de tales partículas también aumenta la población bacteriana, que es el principal alimento de las AVL.

II. INTRODUCCIÓN

Según una de las estimaciones más aceptadas, poco más del 97% del volumen de agua existente en nuestro planeta es agua salada y está contenida en océanos y mares; mientras que apenas algo menos del 3% es agua dulce o de baja salinidad. Del volumen total de agua dulce, estimado en unos 38 millones de km³, poco más del 75% está concentrado en casquetes polares, nieves eternas y glaciares; el 21% está almacenado en el subsuelo, y el 4% restante corresponde a los cuerpos y cursos de agua superficial (CONAGUA, 2011). Estos últimos se encuentran en tierra firme y están integrados por dos grandes ecosistemas; los lóticos formados por corrientes de agua como arroyos y ríos, y los lénticos constituidos por aguas tranquilas, tales como lagos, estanques y humedales, entre otros.

La Presa de Valle de Bravo, al aportar el 38% del agua del Sistema Cutzamala (equivalente a 6 m³ por segundo), es la más grande y relevante del mismo; además su belleza escénica ha permitido un notable desarrollo turístico para la Cuenca. Sin embargo, la conducción inadecuada de las actividades humanas, han tenido como resultado la degradación y contaminación de los recursos agua, suelo y bosque, lo que ha disminuido tanto la cantidad como la calidad del agua (CCVBA, 2008).

Debido a esto, dentro de la contaminación acuática ocasionada por microorganismos patógenos, la bacteriana parece ser la más común; aunque también se pueden dar por brotes de virus, como el de hepatitis A y E y en cuanto a los brotes bacterianos el más común es por *Salmonella*, pero se sabe muy poco acerca de otros grupos microbianos, como es el caso de los protozoos (Urbina, 2007).

Entre los anteriores, se encuentran las Amibas de Vida Libre (AVL), que son protozoos cosmopolitas que habitan ambientes húmedos como el suelo y el agua, aunque también se pueden encontrar en el aire, vehículo que utilizan como medio de dispersión. En los ecosistemas acuáticos desempeñan un papel muy importante en el mantenimiento de flujo de energía y el reciclado de los nutrientes. Su

eficiencia en el uso de los recursos los convierte en un enlace fundamental entre los organismos desintegradores y aquellos pertenecientes a niveles tróficos superiores. Algunas AVL son patógenas por sí mismas pero también pueden actuar como vectores de bacterias patógenas como *Legionella pneumophila* y *Vibrio* spp. (Bonilla *et al.*, 2004).

A la fecha se han descrito las especies patógenas *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris*, *Sappinia pedata* y algunas del género *Acanthamoeba* (Bonilla y Ramírez, 2011). En comparación con otras enfermedades causadas por protozoos, las infecciones causadas por AVL destacan por su amplia distribución, extrema virulencia y falta de tratamiento efectivo (Bonilla *et al.*, 2004).

En la mayoría de los casos, tales infecciones se pueden transmitir por contacto con aguas contaminadas con estas amibas, existen poblaciones humanas que son altamente susceptibles a las infecciones oportunistas por pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y otras formas de inmunosupresión (Limón, 2007).

III. MARCO TEÓRICO

III.1 AMIBAS DE VIDA LIBRE (AVL)

Las AVL son protozoos pertenecientes a los súper grupos Amoebozoa y Excavata (Adl *et al.*, 2005). Algunas de ellas reciben la denominación de anfizoicas, ya que son capaces de vivir en el ambiente y actuar como parásitos en el ser humano. Se les puede encontrar en suelo, agua y aire, medio que utilizan para dispersarse. En su ciclo de vida las AVL presentan 2 fases trofozoíto y quiste, además de un estadio flagelar que solo presenta *Naegleria* (Page, 1988).

Las AVL son un grupo heterogéneo de organismos unicelulares eucariontes, que poseen pseudópodos como carácter distintivo. Su cuerpo tiene forma irregular

puede estar desnudo o protegido por conchas externas o internas, así como por esqueletos de varios tipos y de diferente composición química.

Algunas especies de AVL termotolerantes, son patógenas (Martínez y Visvesvara, 1997).

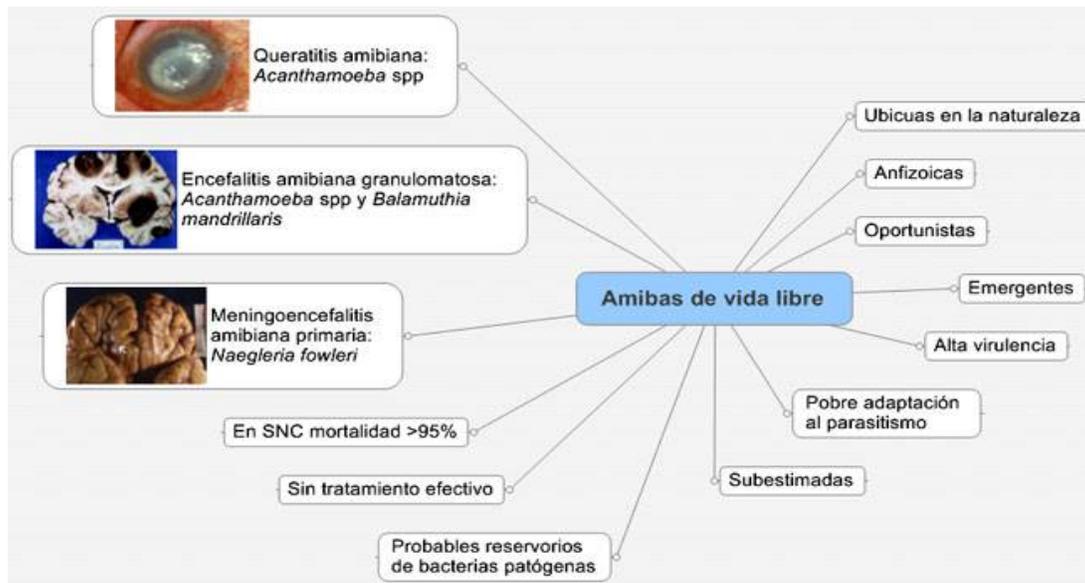


Figura 1. Descripción de AVL y su presencia en el medio.

<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/amibas-vida-libre>

Las AVL patógenas son más frecuentes en cuerpos de agua por arriba de 30°C y aguas naturales de los trópicos y subtrópicos, los factores ambientales favorables para su desarrollo son temperatura entre los 30°C y 45°C, niveles óptimos de oxígeno, pH cercano a la neutralidad, disponibilidad de alimento (bacterias y/o materia orgánica) y pueden estar presentes aun en presencia de un valor mínimo de humedad. Algunas amibas del género *Acanthamoeba*, pueden soportar amplias variaciones ambientales (Bonilla *et al.*, 2004).

A la fecha se han descrito las especies patógenas *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris*, *Sappinia pedata* y algunas del género *Acanthamoeba* (Bonilla y Ramírez, 2011).

Naegleria fowleri vive principalmente en el suelo y ambientes acuáticos calentados natural o artificialmente, aunque también se puede establecer en cuerpos de agua con temperaturas menores (Bonilla y Ramírez, 2011).

Amibas del género *Naegleria* se han aislado de agua de grifo, piscinas, aguas de desecho, canales de riego, tinas de hidroterapia, lagos artificiales y efluentes calientes de plantas termoeléctricas. Algunas investigaciones han propuesto que el incremento brusco de temperatura, más que una temperatura elevada constante, es lo que favorece la predominancia de las naeglerias patógenas (Pernin y Pélandakis 2001.) Los factores ambientales favorables para el desarrollo de este género son intervalos de temperaturas de 30°C y 45°C, niveles óptimos de oxígeno, pH cercano a la neutralidad, alimento suficiente (bacterias y materia orgánica) y humedad; en temperaturas bajas, probablemente se enquistan y permanecen en el fondo de los cuerpos acuáticos, junto con los sedimentos (Bonilla *et al.*, 2004).

Del hábitat de *Balamuthia mandrillaris* se conoce muy poco, no está claro si *Balamuthia* se comporta como organismo oportunista o si es un patógeno primario letal, que no depende del estado del hospedero. En humanos el único aislamiento obtenido que tiene relación directa con un caso clínico, se hizo de una maceta del jardín de la casa donde residía el individuo afectado (Seas y Bravo, 2006), aunque Galarza (2006), considera que probablemente *Balamuthia mandrillaris* también se puede encontrar en agua.

Sappinia pedata ha sido reportada en un solo caso clínico en un paciente masculino (Schuster y Visvesvara, 2004), pero se ha encontrado en suelo, agua dulce, composta y heces de humanos, alces, bisonte y ganado pero no había sido asociada con alguna patología.

Acanthamoeba es la amiba con mayor distribución en la naturaleza, probablemente debido a la gran resistencia de sus quistes. Como consecuencia de su distribución cosmopolita el contacto con el ser humano es constante y ha sido aislada de piscinas, agua embotellada, agua de mar, estanques, lagos de agua dulce y salada, ríos, ductos de ventilación, agua residual, sedimentos, vegetales, en lentes de contacto y de la atmósfera indicando la naturaleza ubicua de estos organismos (Marciano-Cabral, 2003; Schuster y Visvesvara, 2007).

III.2. IMPORTANCIA MÉDICA

Se ha establecido que algunas AVL producen enfermedades en el hombre y son considerados agentes infecciosos tanto patógenos primarios como oportunistas cuyo diagnóstico ha sido difícil desde el punto de vista clínico y morfológico

III.2.1. Menigoencefalitis Amibiana Primaria (MEAP)

Naegleria fowleri, causa una infección aguda que afecta al sistema nervioso central, afectando principalmente a niños y jóvenes con historial de haber realizado actividades acuáticas en cuerpos naturales de agua durante el verano o piscinas calentadas de modo artificial (Bonilla y Ramírez, 2008; Oddo, 2006).

Los síntomas comienzan con fiebre leve y malestar general, que progresan rápidamente, con cefalea y fiebre, seguida por vómito, rigidez de nuca y signos de irritación meníngea. El paciente fallece en menos de 10 días de iniciados los síntomas (Bonilla y Ramírez, 2011; Oddo, 2006).

III.2.2. Encefalitis Amebiana Granulomatosa (EAG)

Los agentes causales de la encefalitis granulomatosa subaguda y crónica son *Acanthamoeba spp.* y *Balamuthia mandrillaris*.

La infección causada por *Balamuthia* es de tipo insidioso (semanas, meses) de curso más sub-agudo o crónico. (Schuster y Visvesvara, 2004)

La infección del SNC asociada a *Acanthamoeba* involucra en la mayor parte de los casos a personas inmunocomprometidas, con HIV+/SIDA, quimioterapia,

enfermedades crónicas, debilitantes, diabetes, lupus sistémico, cáncer, desnutrición y alcoholismo entre otras. También influye el empleo excesivo de esteroides y antibióticos.

Las principales manifestaciones clínicas de en ambos casos son; dolor de cabeza, cambios de personalidad, fiebre leve, convulsiones, hemiparesia, nivel deprimido de la conciencia y coma (Bonilla y Ramírez, 2011), el cuadro clínico puede confundirse con tuberculosis cerebral encefalitis viral, cáncer y con un absceso cerebral. Su diagnóstico es difícil, el reporte de EAG ha sido en su mayoría *post mortem*. No obstante, es posible realizar un diagnóstico rápido buscando trofozoítos en el LCR o trofozoítos y quistes del tejido cerebral (Bonilla, 2004). El curso de la enfermedad es subagudo o crónico, de 7 a 120 días. De los casos de EAG solo uno ha sido atribuido a *S. pedata* (Oddo, 2006).

III.2.3. Queratitis Amebiana (QA)

Es una inflamación crónica en la córnea que puede causar la pérdida del ojo, las amibas invaden el estroma corneal, debido a un traumatismo menor o abrasión de la córnea. Se caracteriza por severo dolor ocular con fotofobia, generalmente unilateral, visión borrosa y congestión de la conjuntiva. Los principales factores de riesgo son el uso de lentes de contacto suaves, uso de soluciones salinas caseras, exposición a aguas contaminadas y traumatismos menores del ojo. La QA se confunde frecuentemente con queratitis causada por hongos o por *Herpes simplex*. Los pacientes pueden requerir de uno o más trasplantes de córnea para reparar el daño y en el peor de los casos se tienen que realizar la enucleación (Bonilla *et al.*, 2004; Bonilla y Ramírez, 2011; Martínez y Visvesvara, 1997).

III.2.4. Infecciones Nasofaríngeas y Cutáneas

Estas infecciones son causadas por *Acanthamoeba* y *Balamuthia*, se desarrollan cuando las amibas ya sea en forma de quiste o trofozoíto se introducen en alguna

lesión en piel o fosas nasales (Bonilla y Ramírez, 2008). Cada vez más se reconoce la incidencia de acantamebosis cutánea en ausencia de afección del SNC. Las úlceras no cicatrizan de manera espontánea en pacientes con SIDA. Esta lesión cutánea primaria puede preceder por semanas o meses al cuadro neurológico y se asemeja a la leishmaniosis cutánea (Peralta y Ayala 2009).

III.3. AGUAS SUPERFICIALES

Los ríos son un claro ejemplo de aguas superficiales. Se definen como corrientes naturales de agua que fluyen por un lecho, desde un lugar elevado a otro más bajo. La gran mayoría de los ríos desaguan en el mar o en un lago, aunque algunos desaparecen debido a que sus aguas se filtran en la tierra o se evaporan en la atmósfera (CNA, 2010).

Se constituyen como una importante fuente de suministro de agua tanto para usos agrícolas como domésticos. Dado que el agua es un recurso vital para la supervivencia humana y juega un papel preponderante en todas sus actividades como son: riego, agua potable, generación de energía eléctrica y otros usos. Asimismo, la disponibilidad del recurso también se encuentra relacionada con la calidad del mismo, asegurando que el agua sea adecuada para el uso al que se quiera destinar (CONAGUA, 2009).

En México existen cerca de 42 ríos principales que transcurren en tres vertientes: occidental o del océano Pacífico, oriental o del océano Atlántico (Golfo de México y Mar Caribe) e interior, cuyos ríos desembocan en lagunas interiores (INEGI, 1995). En la vertiente del Pacífico destacan las cuencas de los ríos Yaqui, Fuerte, Mezquital, Lerma-Santiago y Balsas; en la costa del Golfo de México, las cuencas de los ríos Bravo, Pánuco, Papaloapan, Grijalva y Usumacinta (AGUA, 2010).

Dentro del territorio mexiquense, la cuenca se integra por las siguientes subcuencas: R. Cutzamala, R. Zitácuaro, R. Tuxpan, R. Ixtapan, R. Temascaltepec

y R. Tilostoc. Los principales embalses en la cuenca son la presa Valle de Bravo y la presa Villa Victoria. El uso al que se destina la captación del agua superficial en estos cuerpos receptores está destinado principalmente al suministro de energía eléctrica para el Sistema Hidroeléctrico Miguel Alemán. Cabe mencionar que en esta área se ha proyectado el "Plan Cutzamala", cuyo objetivo es suministrar de agua potable a la Ciudad de México con 24 m³/seg (INEGI, 2009).

El lago de Valle de Bravo es un lago artificial producto de la construcción de una presa en 1947 como parte del sistema Hidroeléctrico "Miguel Alemán"; de ahí que también reciba el nombre de presa Miguel Alemán o presa Valle de Bravo, aporta el 38% del agua del sistema Cutzamala (equivalente a 6 m³ de agua por segundo), es la más grande y relevante del mismo además, su belleza escénica ha permitido un relevante desarrollo turístico para la Cuenca, tiene una capacidad de 457 millones de metros cúbicos y abarca una superficie de 2,900 hectáreas.

La presa ha disminuido la capacidad de almacenamiento a 21% desde su construcción en 1947, debido al azolve producto de la erosión (CONAGUA, 2008). Por otro lado, la conducción inadecuada de las actividades humanas en la cuenca ha tenido como resultado la degradación y contaminación de los recursos del agua, suelo y bosques, lo que ha disminuido tanto la cantidad como la calidad del agua (CAV08).

IV. ANTECEDENTES

- Los primeros reportes sobre la patogenicidad de las AVL se publicaron en 1965 cuando Fowler y Carter en Australia y Butt en 1966 en Florida, Estados Unidos de Norteamérica, describieron los primeros casos de MEAP, en humanos, causada por *Naegleria fowleri*. En 1973, Willaert publicó casos de MEAP ocurridos generalmente en verano y cuya fuente de contagio fue la inmersión en albercas, charcas, lagos y aguas termales.

- En México en 1993, Rivera y colaboradores estudiaron la presencia de AVL en albercas para fisioterapia en la Ciudad de México, encontrando especímenes de los géneros *Acanthamoeba*, *Vahlkampfia*, *Hartmannella* y *Naegleria*.
- Campos (2007) determinó la distribución temporal de las AVL en manantiales del acuífero del Valle de Cuernavaca en el estado de Morelos, obteniendo amibas de los siguientes géneros: *Hartmannella*, *Naegleria*, *Vannella*, *Vahlkampfia*, *Rosculus*, *Dactylamoeba*, *Platyamoeba* y *Filamoeba*. El género más frecuente en ambos manantiales fue *Hartmannella*.
- En el 2007, Limón realizó la caracterización de AVL presentes en aguas subterráneas del acuífero de Zacatepec, Morelos identificando a *Hartmannella vermiformis* en un 41.50 % de las muestras. Esta especie no ha sido reportada como patógena pero estuvo asociada a un caso de encefalitis, aunque no se pudo probar su participación en el caso clínico. De las amibas con potencial patógeno se identificó a *Acanthamoeba polyphaga* (6.80%) y a *Acanthamoeba royreba* (2.04%).
- En el 2009, Gómez Zarza realizó la identificación de 29 especies de AVL pertenecientes a 16 géneros diferentes presentes en aguas subterránea del acuífero de Cuautla, Morelos, reportando a *Hartmannella vermiformis* como la más frecuente. También identificaron a *Acanthamoeba castellanii* y *Acanthamoeba polyphaga* en bajos porcentajes.
- En el laboratorio de Conservación y Mejoramiento del Ambiente (CyMA) de la FES Iztacala-UNAM; desde 1982 se han realizado estudios en agua potable (Bonilla *et al.*, 2010) diferentes cuerpos de agua naturales y termales de uso

recreativo y piscinas de varios estados de la República Mexicana (Distrito Federal, Estado de México, Hidalgo, Michoacán, Morelos y San Luis Potosí) (Ramírez y Bonilla, 1995, Bonilla *et al.*, 2000).

- En el 2006, Urbina realizó un trabajo sobre el efecto de la temperatura en la distribución de AVL en un sistema de aguas termales alimentadas por un géiser en el estado de Hidalgo, México, encontrando que la capacidad que tienen algunas AVL de ser termotolerantes favorece su proliferación en aguas termales. Este estudio mostró la presencia de *Naegleria* (38 %), *Vahlkampfia* (22 %) y *Acanthamoeba* (16 %). La mayoría de las AVL se desarrollaron entre 33°C y 40°C y los géneros *Acanthamoeba* y *Naegleria* por arriba de los 45°C es decir son termotolerantes.
- En el 2006, Pérez *et al.* realizaron un estudio de la calidad del agua en la cuenca de Valle de Bravo - Amanalco, mostrando que el cuerpo de agua se encuentra en estado eutrófico, favoreciendo la proliferación de comunidades microbianas y de otros organismos, demostrando que las actividades que se realizan cuenca arriba se reflejan en la calidad del agua de la presa de Valle de Bravo.
- En un estudio previo realizado por Bonilla y colaboradores (2006), se demostró la presencia de AVL en el embalse de Valle de Bravo, por lo que es importante determinar su presencia en algunos de los principales ríos que vierten su caudal en el citado embalse ya que el agua que ahí se acumula es utilizada con fines recreativos y como agua potable como destino final.
- En el 2010 Neria Pedral, realizó un estudio sobre el grado de la contaminación por bacterias coliformes totales y fecales de los ríos de la

Subcuenca de Valle de Bravo- Amanalco, donde obtuvo que dichas bacterias se encontraban presentes en los 6 afluentes estudiados y que tenían mayor presencia en aquellos ríos con poblaciones cercanas.

Es importante mencionar que en junio de 2012 se publicó la NOM-245-SSA1-2010, para aguas recreativas, incluyendo por primera vez en México, a las amibas de vida libre potencialmente patógenas, *Naegleria* y *Acanthamoeba*.

V. JUSTIFICACIÓN

La contaminación de los cuerpos de agua es producto de las descargas de aguas residuales sin tratamiento, ya sea de tipo doméstico, industrial, agrícola, pecuario o minero. A finales del año 2001, más de 70% de los cuerpos de agua del país presentaba algún indicio de contaminación (CNA, 2003). Las cuencas que destacan por sus altos índices de contaminación son la del Lerma-Santiago, la del Balsas, las aguas del Valle de México y el sistema Cutzamala (CNA, 2004).

Debido al aumento poblacional, la calidad del agua se ha visto afectada, por lo cual se ha prestado atención a la estimación de poblaciones microbianas ya que pueden indicar la presencia de organismos patógenos.

El presente estudio pretende ampliar el conocimiento acerca de la presencia de microorganismos como las AVL las cuales han cobrado gran importancia debido a su potencial patógeno sobre el hombre, su amplia distribución y las alteraciones físicas y químicas de las aguas afluentes a la presa de Valle de Bravo, lo cual se refleja al incluirlas en la NOM-245-SSA1-2010 sin embargo, aún no se conocen con exactitud aspectos sobre su ecología y son pocos los trabajos realizados con AVL en aguas superficiales.

Es por lo anterior que es necesario e importante determinar la presencia de AVL en los tributarios del embalse de Valle de Bravo ya que el agua que ahí se acumula, se utiliza con fines recreativos y después es potabilizada para consumo humano.

VI. OBJETIVOS

VI.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la presencia de AVL en los ríos: Amanalco, Pipioltepec, Ojo de Agua, Alameda, San Lucas y los Arcos, afluentes a la Subcuenca Valle de Bravo-Amanalco y su relación con algunos parámetros fisicoquímicos.

VI.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Aislar e identificar las AVL presentes en aguas de los Ríos Amanalco, Pipioltepec, Ojo de Agua, Alameda, San Lucas y los Arcos de la Subcuenca Valle de Bravo-Amanalco.
- Determinar la patogenicidad de las AVL pertenecientes a los géneros *Acanthamoeba* y *Naegleria* en animales de experimentación.
- Determinar los siguientes parámetros fisicoquímicos del agua de los ríos en estudio: pH, Temperatura, Oxígeno disuelto (OD), demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), demanda química de oxígeno (DQO), alcalinidad, nitritos (N-NO₂), nitratos (N-NO₃), amonio (N-NH₄), fosfatos (P-PO₄), conductividad y Sólidos Suspendidos Totales (SST).
- Comparar los resultados fisicoquímicos obtenidos con los límites permisibles en la NOM 127-SSA1-1994; los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (1989) y con la Ley Federal de Derechos disposiciones; aplicables en materia de aguas nacionales (DOF, 2007).
- Comprobar estadísticamente la relación entre AVL y los parámetros fisicoquímicos obtenidos.

VII. ÁREA DE ESTUDIO

El Territorio Municipal de Valle de Bravo se localiza al poniente del Estado de México, y es parte de la Región XV, según la nueva regionalización de la actual Administración del Estado, a la que pertenecen los Municipios de Amanalco, Donato Guerra, Ixtapan del Oro, Otzoloapan, Santo Tomás de los Plátanos, Villa de Allende, Villa Victoria, Zacazonapan y como cabecera de región Valle de Bravo, es decir, que a esta región la integran 9 Municipios. Las coordenadas geográficas del Municipio son: de longitud oeste mínima, 99° 57' 34" y máxima 100° 15' 54", y de latitud norte mínima, 19° 04' 37" y máxima 19° 17' 28". Su Cabecera Municipal alcanza los 1,830 m sobre el nivel del mar, con una latitud de 19° 11' 45" norte y una longitud de 100° 08' oeste. Sus límites municipales son: al norte con el Municipio de Donato Guerra, al sur con el Municipio de Temascaltepec, al este con los Municipios de Amanalco y Temascaltepec y al oeste con los Municipios de Ixtapan de Oro, Santo Tomás y Otzoloapan. Por otro lado, Valle de Bravo cuenta con una superficie territorial de 421.95 kilómetros cuadrados (Plan de Desarrollo 2009-2012).

VII.1. HIDROLOGÍA

El Municipio de Valle de Bravo se encuentra dentro de la Cuenca del Río Balsas, constituida por 5,458 embalses, entre los que destacan la presa de Valle de Bravo y la de Villa de Colorines. Los principales ríos que se localizan en el Municipio son: El río Amanalco, río de González y del Molino, como principal aportador del Río Balsas, y otros con menor caudal como los Gavilanes, los Saucos por mencionar algunos. Como ríos de caudal permanente se mencionan los siguientes: González, Amanalco y el Molino, también existen arroyos de caudal intermitente durante la temporada de lluvias. En el Municipio existen tres presas que son: Tiloxtoc, Colorines y Valle de Bravo, esta última presa tiene una extensión de 21 kilómetros cuadrados y forma parte del Sistema Hidroeléctrico "Miguel Alemán", que proveía de energía eléctrica al centro del país; actualmente pertenece a la comisión nacional del agua y se utiliza para abastecer de agua potable a la Zona Metropolitana de la

Ciudad de México; esta presa es alimentada principalmente por los ríos: Malacatepec, Amanalco González y otros arroyos de menor caudal. Por otro lado, según el Plan de Desarrollo Urbano Municipal vigente se reporta una infraestructura hidráulica cuantificada en 101 manantiales, tres ríos, 21 arroyos, tres presas, seis bordos, 7 acueductos y tres pozos profundos.

Para llevar a cabo el presente trabajo se seleccionaron ríos pertenecientes a dos microcuencas (Figs. 2-8):

1. "Los Hoyos" que comprende los ríos: Ojo de Agua, la Alameda y los Arcos.
2. "Amanalco" que comprende los ríos San Lucas, Pipioltepec y Amanalco.

Las dos microcuencas desembocan en la presa de Valle de Bravo. Para tener un resultado significativo del grado de contaminación se seleccionó un río del origen, un intermedio y el último cerca de la desembocadura de cada una de las microcuencas.

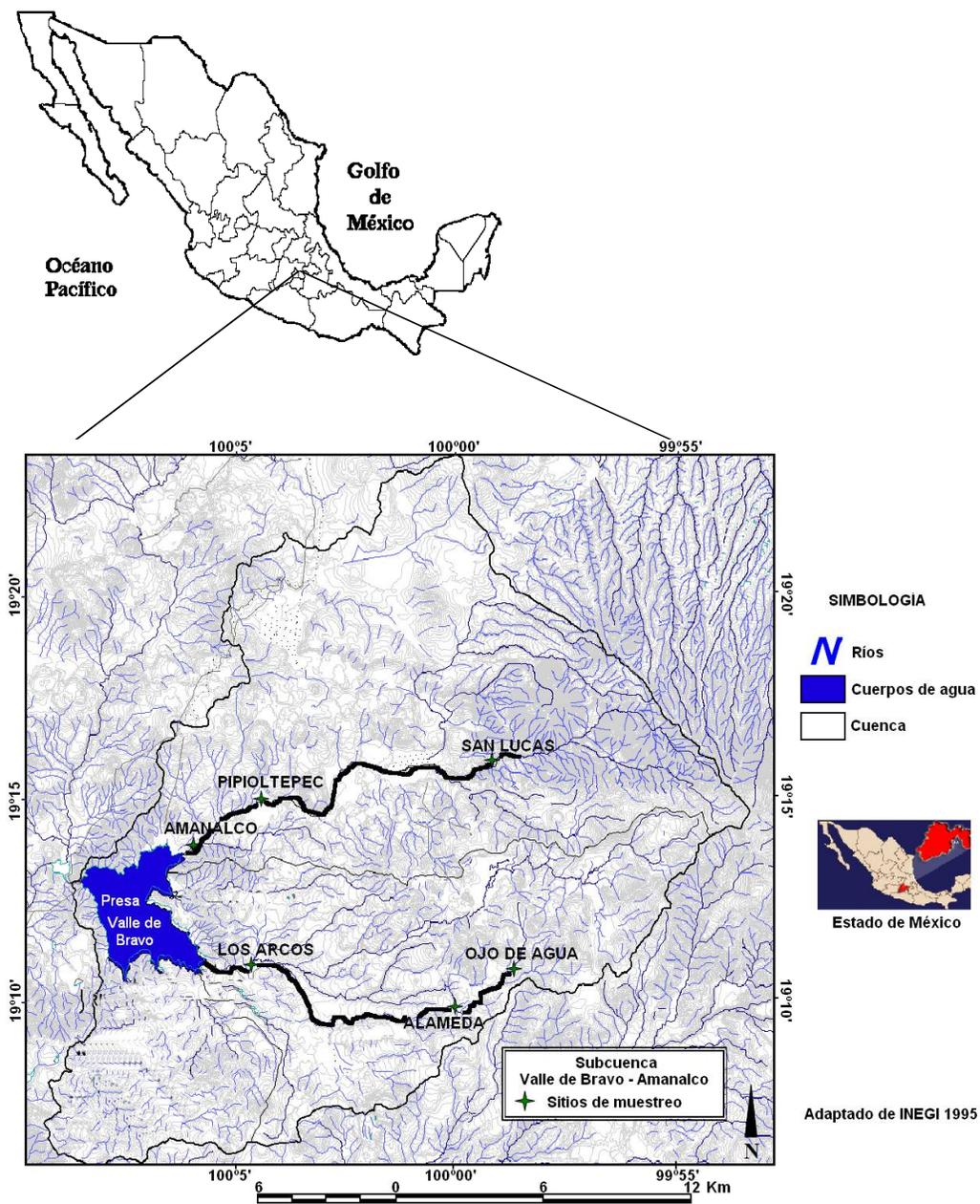


Figura 2. Área de estudio

VII.2. CLIMA

El clima en el Municipio es templado subhúmedo con lluvias en verano, las lluvias se presentan de junio a septiembre y se prolongan, en ocasiones hasta octubre. El clima templado con invierno benigno, en tanto la temperatura promedio anual es de 18 °C, la máxima de 32.0 °C, y la mínima de 1.3 °C. El promedio de días lluviosos durante el año es de 103, el promedio de días despejados en un año es de 202, el promedio de días nublados en un año es de 60 y el promedio de precipitación anual es de 1,024.7 mm. Los meses más calurosos son: marzo, abril y mayo. La dirección de los vientos en general, es de poniente a oriente. Se llegan a registrar lluvias en noviembre y diciembre, las heladas se inician a mediados de diciembre y se prolongan hasta febrero las lluvias son más abundantes en verano en esta época, la precipitación pluvial es ascendente de junio a julio con un volumen de 260.7 mm a 271.2 mm (Plan de Desarrollo 2009-2010).



Figura 3. San Lucas



Figura 4. Pipioltepec



Figura 5. Amanalco



Figura 6. La Alameda



Figura 7. Los Arcos



Figura 8. Ojo de Agua

VIII MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se dividió en dos fases:

VIII.1. TRABAJO DE CAMPO

Se realizaron un total de 5 muestreos en los ríos: Amanalco, Pipioltepec, los Arcos, Ojo de Agua, la Alameda y San Lucas, en los meses de Mayo, Septiembre, Noviembre del 2008, Febrero y Mayo del 2009.

En cada sitio de muestreo, se determinaron *in situ* los siguientes parámetros fisicoquímicos del agua: temperatura del agua (°C) con un termómetro; pH, con un potenciómetro, oxígeno disuelto (OD) con un Oxímetro YSI-85 y la conductividad (corregida a 25°C, k_{25}) con un Conductímetro marca Conductronic PC-18.

Las muestras de agua para análisis fisicoquímicos; NO_2 , NO_3 , NH_4 , PO_4 , alcalinidad, fueron filtradas *in situ* con un filtro de membrana de nitrocelulosa de 0.22 y 0.45 μm (Millipore, U.S.A.), y fijadas con una gota de cloroformo, se transportaron al laboratorio, conservándolas a baja temperatura para su posterior análisis*.

Las muestras para DBO_5 y DQO, y SST se tomaron en botellas de plástico de 1500 ml y se conservaron a una temperatura de 4°C en la oscuridad. Fueron transportadas para su análisis al laboratorio de Calidad del agua de la FES-I. Los análisis FQ se realizaron usando métodos estándar (ASTM, 1989).

*Datos proporcionados por el Laboratorio de Biogeoquímica Acuática del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM y por el Laboratorio de Calidad del Agua del Proyecto de Conservación y Mejoramiento Ambiental (CyMA) de la FES- Iztacala, UNAM.

Para las muestras biológicas se colecto agua en bolsas estériles de 250 ml y se conservaron a temperatura ambiente para su posterior análisis en el laboratorio.

VIII.2. TRABAJO DE LABORATORIO

Las muestras para análisis de nutrimentos fueron llevadas al Laboratorio de Biogeoquímica Acuática del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM donde se determinaron los siguientes parámetros:

Tabla 1. Técnicas utilizadas con un analizador de flujo Segmentado Skalar System (ASTM, 1976).

PARÁMETRO	TÉCNICA
Fosfatos	Reducción del ácido molibdofosfórico a fosfomolibdeno
Nitritos	Diazotización de sulfamida
Nitratos	Reducción por Cadmio
Amonio	Reacción de Berthelot
Alcalinidad Total	Titulación con indicador

Las muestras de agua para análisis Físicoquímicos; DBO₅, DQO y sólidos suspendidos totales, fueron transportados al laboratorio de Calidad del Agua del Proyecto de Conservación y Mejoramiento del Ambiente (CyMA) de la FESI; en donde de acuerdo con Robles *et al.* (2008) se determinaron los siguientes parámetros:

Tabla 2. Técnicas realizadas en la FESI (Robles *et al.*, 2008).

PARÁMETRO	TÉCNICA
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	Reflujo con dicromato
Sólidos Suspendidos Totales	Gravimétrico
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅)	Dilución

Las muestras biológicas fueron llevadas al laboratorio de Microbiología Ambiental del Proyecto CyMA de la FES-Iztacala, en donde se procedió con el análisis microbiológico.

VIII.3. AISLAMIENTO Y CULTIVO DE AVL

Cada muestra de agua se homogenizó y se tomó una alícuota de 50 ml, la cual se centrifugó a 2500 rpm durante 15 min, el concentrado se dispersó en cajas Petri previamente preparadas con medio de agar no nutritivo con *Enterobacter aerogenes* (NNE) (Rivera *et al.*, 1987) (Anexo 1).

Las cajas inoculadas se incubaron a 30 °C y se revisaron después de 48 hrs y posteriormente cada 24 hrs para detectar el crecimiento amibiano usando un microscopio invertido con objetivos de 10× y 20× modelo Zeiss.

VIII.4. CULTIVO AXÉNICO

Una vez purificada la amiba en el medio monoxénico NNE, se cortaron algunos cuadros del agar donde hubiera buen crecimiento amibiano y se colocaron en los medios axénicos Chang y Bactocasitona (Anexo1) incubándolos a la temperatura de aislamiento.

VIII.5. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA

Las amibas se identificaron con la ayuda de las claves de Page (1988) y Pussard y Pons (1977), con base en las características morfológicas del trofozoíto y del quiste, temperatura de crecimiento y prueba de flagelación. Para realizar el diagnóstico morfológico de las amibas se realizó un lavado de la superficie del medio NNE con solución salina o agua destilada estéril tomando unas gotas de esta suspensión y colocándola en un portaobjetos o a partir de cultivo axénico. La preparación se observó por microscopía de contraste de fases con un microscopio Zeiss K7 a 40× y 100× (Toledo, 2007; Limón, 2007).

VIII.6. PRUEBA DE TOLERANCIA A LA TEMPERATURA

Las amibas cultivadas en medios axénicos se inocularon por duplicado y se incubaron a 37 °C y a 42 °C por un período de 48 hrs para observar el desarrollo de amibas (Rivera *et al* 1987).

Las amibas pertenecientes a los géneros *Naegleria* y *Acanthamoeba*, que mostraron tolerancia a altas temperaturas, fueron separadas y se les realizó la prueba de patogenicidad en ratones.

VIII.7. PRUEBA DE PATOGENICIDAD

El ensayo se realizó en grupos de cinco ratones blancos, machos de la cepa CD-1, de tres semanas de edad. La prueba se realizó inmediatamente después de la axenización para evitar que las amibas perdieran virulencia. La inoculación se realizó por vía intranasal. Los trofozoítos en cultivo axénico de aproximadamente 5 días (fase exponencial), se ajustaron a una cuenta de $1 \times 10^3 - 1 \times 10^6$ /ml. El volumen inoculado nasalmente fue de 20 μ l a través de los orificios nasales del ratón.

Los ratones fueron monitoreados en un período de 30 días, registrando los cambios que se produjeran en su comportamiento. Los animales fueron sacrificados en el día 30, introduciéndolos en una cámara de éter. Se les extrajo una parte de cerebro, del pulmón, del hígado y del riñón, se colocaron en medio NNE y se incubaron a la temperatura en la que la cepa había crecido, por un período de 48 hrs, con el fin de determinar si hubo desarrollo amebiano en los órganos.



Fig. 9. Extracción del lóbulo del cerebro

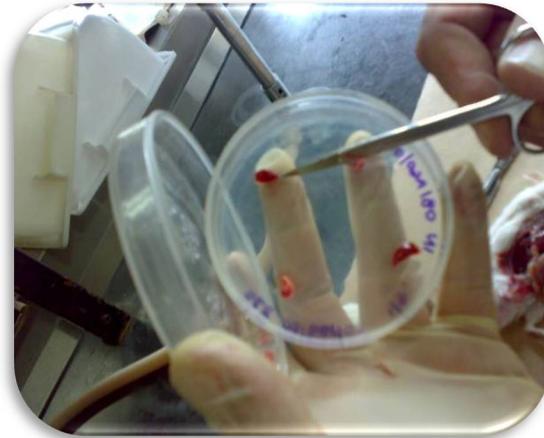


Fig. 10. Colocación de órganos en medio NNE

IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En total se identificaron 28 especies pertenecientes a 15 géneros detectados en los ríos afluentes a la presa de Valle de Bravo – Amanalco (Tabla 3). El número de especies identificadas en este trabajo fue semejante al reportado por Gómez en el 2009 en el acuífero de Cuautla Morelos quien registró 29 especies pertenecientes a 16 géneros. Esto es interesante ya que los datos de Gómez corresponden a un acuífero cuya calidad generalmente es mejor que la de las aguas superficiales.

En el presente estudio se esperaba mayor número de AVL debido a que son aguas superficiales y en el área hay asentamientos urbanos lo cual genera una cantidad mayor de materia orgánica, que es una de las principales formas de alimentación de las AVL. Sin embargo, la riqueza específica es muy semejante a lo reportado por Gómez (2009). Esto sugiere que a pesar de que existen entradas de aguas residuales a los ríos estudiados, la capacidad de dilución, autodepuración y las temperaturas relativamente bajas de los ríos impide que haya una alta proliferación de AVL.

Cabe hacer la mención que de acuerdo a la nueva clasificación propuesta por Smirnov en el 2011 se aplicaron cambios en los datos dentro de esta tesis.

Tabla 3. Riqueza específica de Amibas de Vida Libre.

GÉNERO	ESPECIE
<i>Vahlkampfia</i>	<i>ustiana</i> Page, 1974
	<i>russelli</i> Singh, 1952
	<i>aberdonica</i> Page, 1974
	<i>enterica</i> Page, 1974
	<i>avara</i> Page, 1967
<i>Paratetramitus</i>	<i>jugosus</i> Page, 1967
-	<i>gruberi</i> Schardinger, 1899
<i>Guttulinopsis</i>	<i>vulgaris</i> Olive, 1901
	<i>nivea</i> Raper, Worley y Kessler, 1977
<i>Rosculus</i>	<i>ithacus</i> Hawes, 1963
<i>Stachyamoeba</i>	<i>lipophora</i> Page, 1975
<i>Vermamoeba</i>	<i>vermiformis</i> Page, 1967 emend. Smirnov et al., 2005
<i>Hartmannella</i>	<i>cantabrigiensis</i> Page, 1974
<i>Vexillifera</i>	<i>bacillipedes</i> Page, 1969
<i>Mayorella</i>	<i>penardi</i> Page, 1972
	<i>cultura</i> Bovee, 1971
<i>Vannella</i>	<i>platypodia</i> Glässer, 1912
	<i>lata</i> Page, 1988
<i>Platyamoeba</i>	<i>placida</i> Page, 1968
	<i>stenopodia</i> Page, 1969
<i>Echinamoeba</i>	<i>silvestris</i> Page, 1975
<i>Korotnevella</i>	<i>stella</i> (Schaeffer, 1926) Goodkov, 1988
<i>Acanthamoeba</i>	<i>polyphaga</i> Puschkarew, 1903
	<i>triangularis</i> Pussard y Pons, 1977
	<i>quina</i> Pussard y Pons, 1977
	<i>castellanii</i> Douglas, 1930
	<i>sp.</i> Volkonsky, 1931
	<i>mauritanensis</i> Pussard y Pons, 1977

se obtuvo un total de 127 aislamientos en los 6 ríos. Pipioltepec presentó el mayor número de aislamientos (30), seguido de San Lucas con 24, Ojo de Agua y los Arcos con 23 así como de Amanalco 22.

Pipioltepec, es uno de los sitios que se encuentra en la parte baja de la cuenca y cuenta con más asentamientos cercanos a los afluentes. El sitio de Ojo de Agua es uno de los más alejados al embalse sin embargo, existe un criadero de peces muy cercano a este afluente, en Las Alamedas se observó baja presencia de AVL, probablemente debido a que presentaba poco flujo y posteriormente fue desviado el cauce (Fig. 11).



Fig.11. Distribución espacial de AVL en ríos afluentes a la presa Valle de Bravo

Las amibas pertenecientes al género *Naegleria*, morfológicamente probablemente correspondan a *N. gruberi* y resultaron ser no patógenas en ratones de experimentación. También se realizó la prueba de patogenicidad de las acantamoebas y solamente murió uno de los ratones inoculados y la cepa amibiana se aisló del riñón. Esto puede significar que la cepa posee baja virulencia.

A continuación se describen y analizan la relación de la presencia de especies de AVL con los parámetros muestreados por mes.

En la tabla 4 se muestra la riqueza específica de AVL aisladas, durante el muestreo de mayo del 2008.

Tabla 4. Riqueza de especies de AVL en Mayo 2008

PIPIOLTEPEC	AMANALCO	LA ALAMEDA	OJO DE AGUA	SAN LUCAS	LOS ARCOS
-	<i>Platyamoeba placida</i>	nm	<i>Acanthamoeba sp.</i>	<i>Platyamoeba placida</i>	<i>Vahlkampfia ustiana</i>

nm: no muestreado

En Pipioltepec no se registró presencia de AVL, posiblemente debido a algún error en la toma de la muestra. En el cauce de La Alameda no se tomaron muestras debido a que no presentaba flujo; de los otros 4 ríos solo se obtuvo un aislamiento. En la figura 12, se observan los promedios de los parámetros fisicoquímicos temperatura, pH y OD con relación a la presencia de AVL.

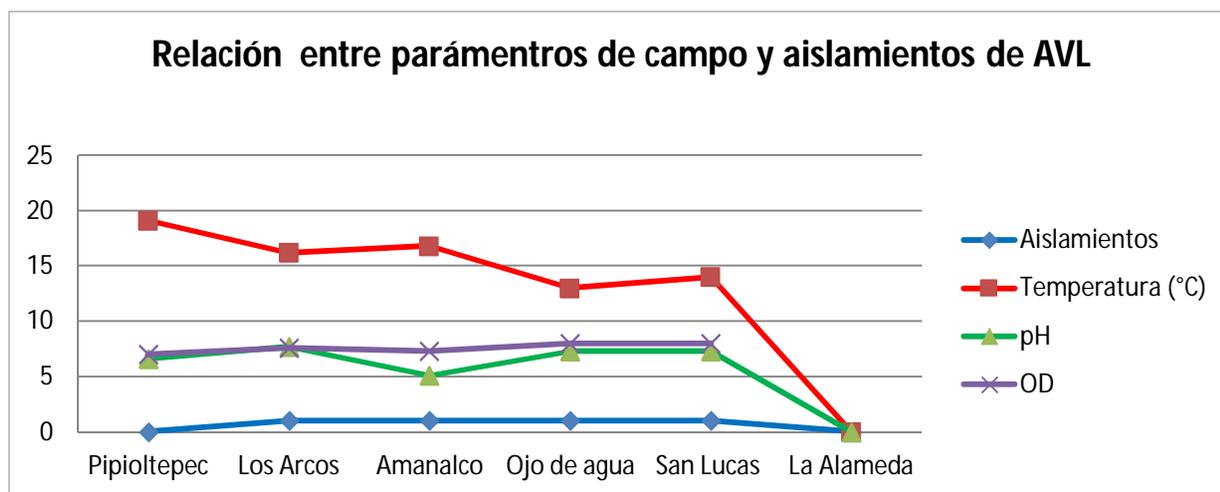


Figura 12. Relación entre parámetros de campo y aislamientos en Mayo de 2008.

En general, los parámetros pH y OD estuvieron en los valores reportados como adecuados para la presencia de las amibas de vida libre, pH cercanos a la neutralidad, oxígeno disuelto mayor de 2 mg/L y aunque en temporada de secas la temperatura del agua oscilo entre los 14 y 19 °C, temperatura que no favorece la presencia de las amibas patógenas, ya que proliferan a temperaturas mayores de 30 °C (Bonilla *et al.*, 2004)

En la tabla 5, se muestra la riqueza específica en los 6 ríos estudiados durante Septiembre 2008. Se identificaron 21 especies de las cuales en Pipioltepec se

observó la mayor riqueza de AVL con 11 especies y por el contrario, en San Lucas solo se identificaron 3 especies, esto puede deberse a que este río se encuentra en las partes altas de la Subcuenca, donde la población humana es escasa y por lo tanto existe menor contaminación. Los géneros que se presentaron con mayor frecuencia fueron *Naegleria* y *Vahlkampfia*, esta última tiene registro de presentarse de manera frecuente en época de lluvias en los cuerpos de agua naturales en la Huasteca Potosina, México (Bonilla *et al.*, 2000).

Tabla 5. Riqueza de especies de AVL en septiembre 2008

PIPIOLTEPEC	AMANALCO	LA ALAMEDA	OJO DE AGUA	SAN LUCAS	LOS ARCOS
<i>Acanthamoeba</i> sp.	<i>Naegleria gruberi</i>	<i>Vahlkampfia enterica</i>	<i>Vahlkampfia aberdonica</i>	<i>Rosculus ithacus</i>	<i>Guttulinopsis nivea</i>
<i>Vahlkampfia aberdonica</i>	<i>Guttulinopsis vulgaris</i>	<i>Vexillifera bacillipedes</i>	<i>Naegleria gruberi</i>	<i>Mayorella penardi</i>	<i>Vermamoeba vermiformis</i>
<i>Platyamoeba placida</i>	<i>Mayorella cultura</i>	<i>Vannella platypodia</i>	<i>Guttulinopsis vulgaris</i>	<i>Guttulinopsis vulgaris</i>	<i>Vexillifera bacillipedes</i>
<i>Vannella platypodia</i>	<i>Vannella platypodia</i>	<i>Vahlkampfia avara</i>	<i>Vexillifera bacillipedes</i>		<i>Stachyamoeba lipophora</i>
<i>Paratetramitus jugosus</i>		<i>Rosculus ithacus</i>			
<i>Echinamoeba silvestris</i>					
<i>Guttulinopsis vulgaris</i>					
<i>Korotnevella stella</i>					
<i>Naegleria gruberi</i>					
<i>Vahlkampfia russelli</i>					
<i>Mayorella cultura</i>					

En Pipioltepec se registró el mayor número de aislamientos y como se observa en la figura 13, los parámetros fisicoquímicos estuvieron dentro de los rangos reportados como adecuados para el desarrollo de las AVL (temperatura, 17.3°C, pH 7.1 y OD por arriba de 7 mg /L) (Bonilla *et al.*, 2004). También es importante recalcar que Pipioltepec, Amanalco y los Arcos son los puntos más bajos del afluente y el muestreo fue realizado en época de lluvias generando un mayor

arrastre de sedimentos y materia orgánica que es la fuente primaria para su alimentación.

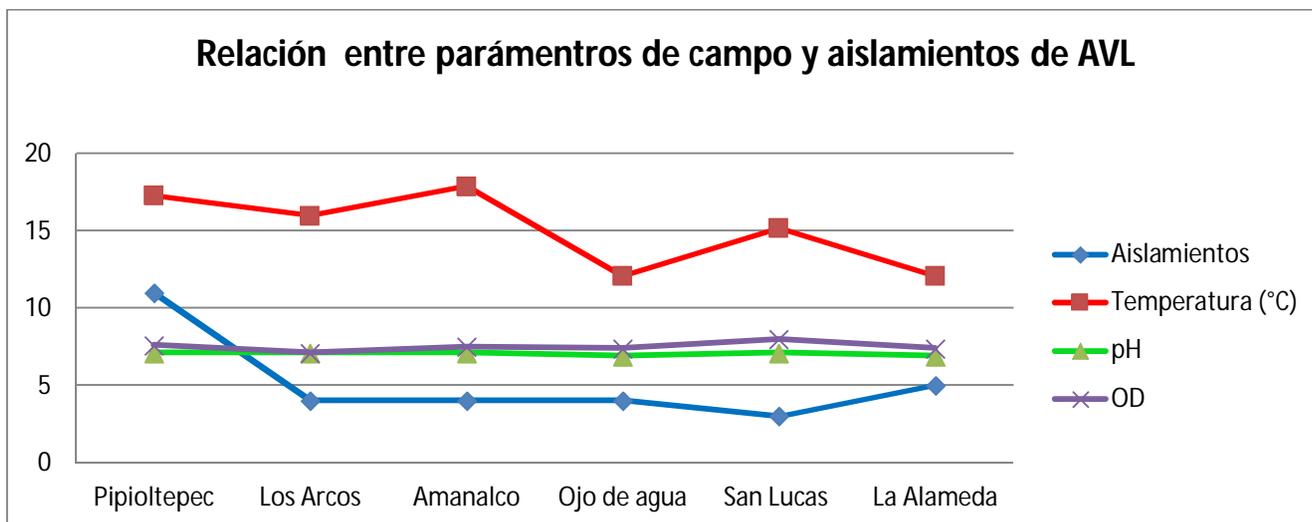


Figura 13. Relación entre parámetros de campo y aislamientos en el mes de Septiembre 2008.

En el muestreo correspondiente al mes de Noviembre del 2008 (Tabla 6) los resultados muestran un total de 16 especies identificadas de AVL, entre las cuales los géneros más frecuentes fueron *Acanthamoeba*, presente en 5 de los 6 ríos, *Vermamoeba* y *Guttulinopsis* en 4 y *Rosculus* en 3.

Tabla 6. Riqueza de especies de AVL en Noviembre 2008.

PIPIOLTEPEC	AMANALCO	LA ALAMEDA	OJO DE AGUA	SAN LUCAS	LOS ARCOS
<i>Acanthamoeba quina</i>	<i>Naegleria gruberi</i>	No hubo AVL	<i>Acanthamoeba polyphaga</i>	<i>Acanthamoeba polyphaga</i>	<i>Guttulinopsis nivea</i>
<i>Rosculus ithacus</i>	<i>Guttulinopsis vulgaris</i>		<i>Naegleria gruberi</i>	<i>Naegleria gruberi</i>	<i>Vermamoeba vermiformis</i>
<i>Vermamoeba vermiformis</i>	<i>Acanthamoeba polyphaga</i>		<i>Guttulinopsis vulgaris</i>	<i>Guttulinopsis nivea</i>	<i>Vexillifera bacillipedes</i>
<i>Vexillifera bacillipedes</i>	<i>Vahlkampfia ustiana</i>		<i>Vexillifera bacillipedes</i>	<i>Vexillifera bacillipedes</i>	<i>Acanthamoeba castellanii</i>
	<i>Vahlkampfia aberdonica</i>		<i>Vermamoeba vermiformis</i>	<i>Vannella lata</i>	<i>Naegleria gruberi</i>
	<i>Vexillifera bacillipedes</i>		<i>Platyamoeba placida</i>	<i>Vermamoeba vermiformis</i>	<i>Mayorella penardi</i>
	<i>Platyamoeba placida</i>		<i>Rosculus ithacus</i>	<i>Platyamoeba placida</i>	<i>Vannella platypodia</i>
			<i>Vannella platypodia</i>		<i>Rosculus ithacus</i>

En el mes de Noviembre las temperaturas oscilaron entre los 9.6°C y 15.3°C, menores en comparación con el mes de septiembre 2008, así como el pH que de estar cerca a la neutralidad el mes anterior empieza a descender hasta 5.3, lo cual en conjunto pudo haber provocado la baja presencia de AVL. La Alameda es el único sitio que no presentó aislamientos esto pudo deberse al inicio de la desviación del cauce del río.

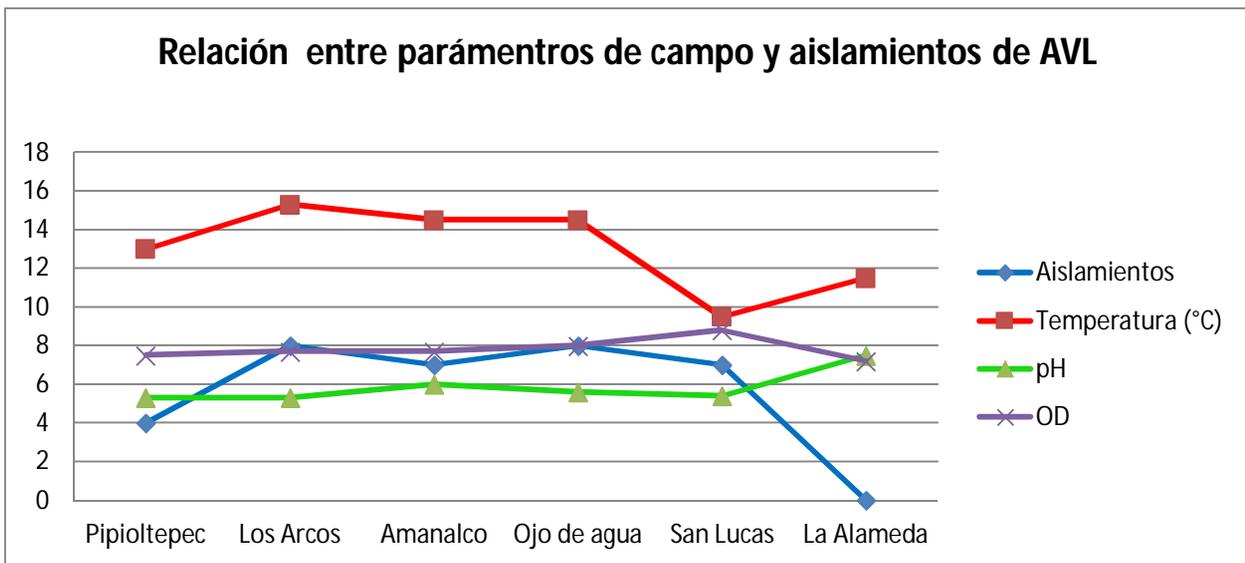


Figura 14. Relación entre parámetros de campo y aislamientos en el mes de Noviembre 2008.

En la figura 14, se observa que a pesar de que el pH y las temperaturas estuvieron relativamente bajas, no inhibieron la presencia de las especies identificadas, las cuales han sido descritas como habitantes comunes en agua dulce (Page, 1988; Ramírez y Bonilla, 1995).

En el muestreo de Febrero 2009 (Tabla 7) se aislaron 15 especies. Las más abundantes pertenecen a los géneros *Vahlkampfia*, *Vermamoeba* con 4 aislamientos y *Rosculus ithacus*, todos identificados en más de 3 de los 6 ríos.

Tabla 7. Riqueza de especies de AVL en Febrero 2009.

PIPIOLTEPEC	AMANALCO	LA ALAMEDA	OJO DE AGUA	SAN LUCAS	LOS ARCOS
<i>Vahlkampfia avara</i>	<i>Vahlkampfia avara</i>	No hubo AVL	<i>Vexillifera bacillipedes</i>	<i>Hartmannella cantabrigiensis</i>	<i>Guttulinopsis vulgaris</i>
<i>Naegleria gruberi</i>	<i>Rosculus ithacus</i>		<i>Platyamoeba placida</i>	<i>Naegleria gruberi</i>	<i>Vermamoeba vermiformis</i>
<i>Vermamoeba vermiformis</i>	<i>Vermamoeba vermiformis</i>		<i>Rosculus ithacus</i>	<i>Vahlkampfia avara</i>	<i>Vexillifera bacillipedes</i>
<i>Vannella platypodia</i>	<i>Stachyamoeba lipophora</i>		<i>Vannella platypodia</i>	<i>Vahlkampfia aberdonica</i>	<i>Acanthamoeba quina</i>
<i>Platyamoeba placida</i>				<i>Vermamoeba vermiformis</i>	<i>Naegleria gruberi</i>
<i>Paratetramitus jugosus</i>					<i>Rosculus ithacus</i>
<i>Rosculus ithacus</i>					
<i>Cochliopodium minus</i>					

En la figura 15, se muestra que la temperatura osciló entre los 10 y 17.2 °C. El pH estuvo dentro de los rangos de acidez (4.26 - 5.23) y el O.D. fue se mantuvo en 7 mg/L, sin embargo hubo un error en la medición de este parámetro en 4 sitios, por lo cual en la gráfica se observa en ceros. Es probable que el grado de acidez del agua de los ríos, haya influido en la baja presencia de amibas.

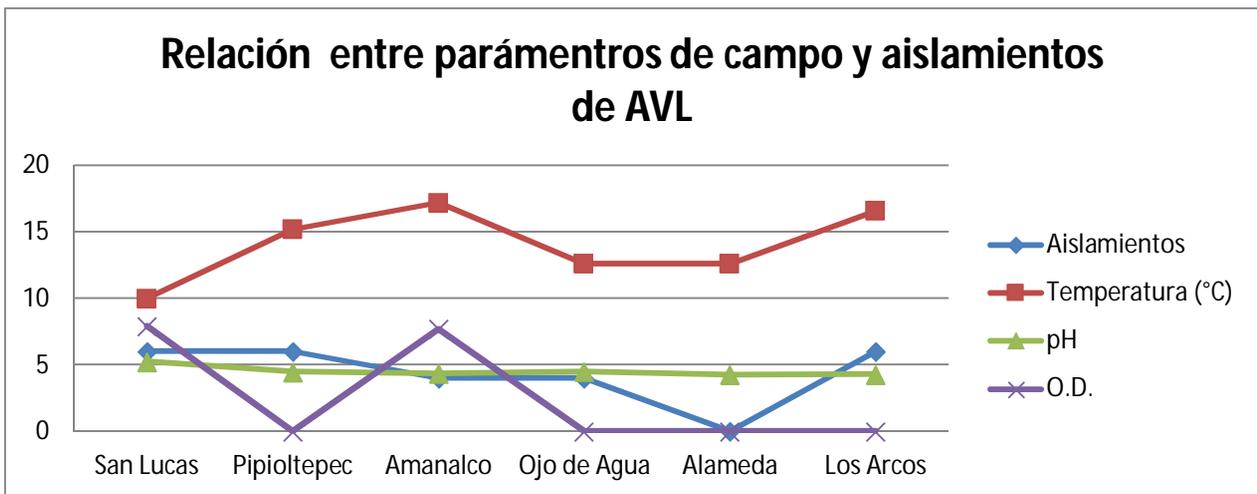


Figura 15. Relación entre parámetros de campo y aislamientos en el mes de Febrero 2009.

En el muestreo correspondiente al mes de mayo de 2009 (tabla 8) se identificaron 15 especies. Las más frecuentes pertenecen a los géneros *Acanthamoeba*, *Rosculus* y *Vexillifera*. Del primer género se identificaron especies con potencial patógeno, aunque no mostraron patogenicidad en ratones de laboratorio. Los AVL pertenecientes a los géneros *Rosculus* y *Vexillifera* no han sido reportados como patógenos.

Tabla 8. Riqueza de especies de AVL en el mes de Mayo de 2009.

<i>PIPIOLTEPEC</i>	<i>AMANALCO</i>	<i>LA ALAMEDA</i>	<i>OJO DE AGUA</i>	<i>SAN LUCAS</i>	<i>LOS ARCOS</i>
<i>Acanthamoeba sp.</i>	<i>Naegleria gruberi</i>	<i>Vexillifera bacillipedes</i>	<i>Vahlkampfia aberdonica</i>	<i>Rosculus ithacus</i>	<i>Vermamoeba vermiformis</i>
<i>Vahlkampfia enterica</i>	<i>Vannella lata</i>	<i>Vannella platypodia</i>	<i>Acanthamoeba sp.</i>	<i>Vannella platypodia</i>	<i>Vexillifera bacillipedes</i>
<i>Naegleria gruberi</i>	<i>Acanthamoeba sp.</i>	<i>Rosculus ithacus</i>	<i>Guttulinopsis vulgaris</i>	<i>Guttulinopsis vulgaris</i>	<i>Vahlkampfia enterica</i>
<i>Vannella lata</i>	<i>Rosculus ithacus</i>	<i>Guttulinopsis nivea</i>	<i>Rosculus ithacus</i>	<i>Naegleria gruberi</i>	<i>Naegleria gruberi</i>
<i>Rosculus ithacus</i>	<i>Vannella platypodia</i>	<i>Vermamoeba vermiformis</i>	<i>Guttulinopsis vulgaris</i>	<i>Acanthamoeba sp.</i>	
<i>Vexillifera bacillipedes</i>			<i>Platyamoeba placida</i>	<i>Vexillifera bacillipedes</i>	
<i>Guttulinopsis vulgaris</i>				<i>Cochliopodium minus</i>	
<i>Vermamoeba vermiformis</i>					

En la figura 16 se observa que el mayor número de aislamientos (8) se obtuvo en Pipioltepec, seguido de San Lucas. Aunque las condiciones fisicoquímicas no son las más favorables para las AVL, tampoco fueron tan adversas y permitieron la presencia de las identificadas en ese muestreo.

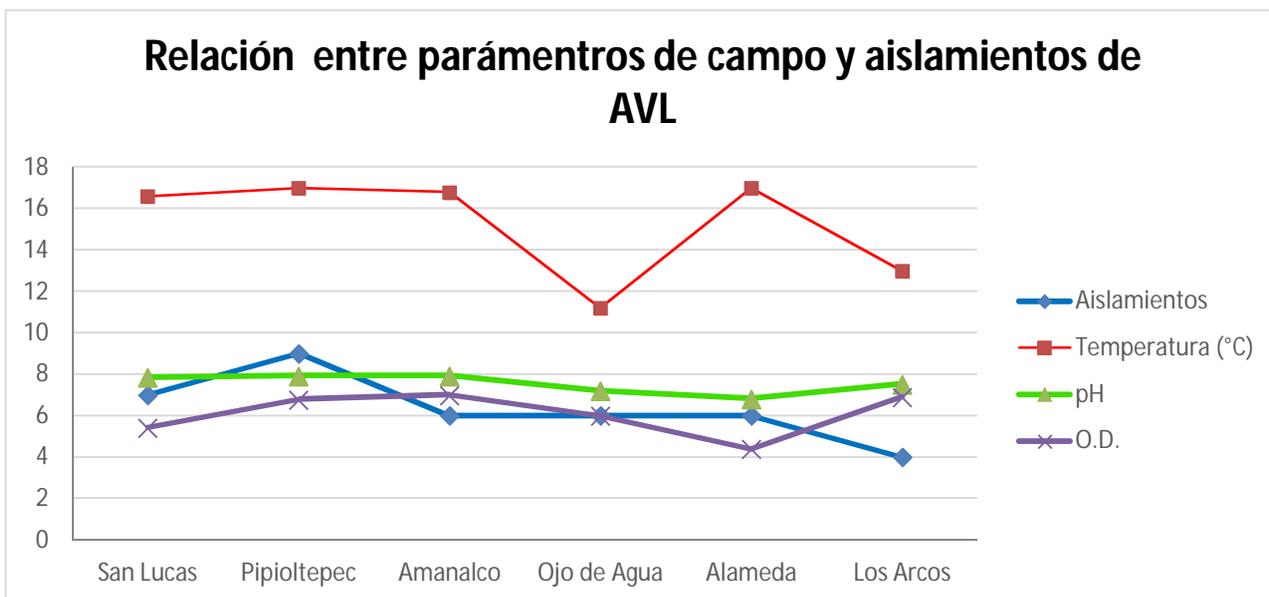


Figura 16. Relación entre parámetros de campo y aislamientos en el mes de Mayo 09.

IX.1. PRESENCIA DE GÉNEROS DE AVL

En la figura 17, se presenta el porcentaje total de los géneros de AVL encontradas en los ríos analizados en un período de un año en donde se observó que *Acanthamoeba*, *Vahlkampfia* y *Platyamoeba* fueron los géneros con mayor número de aislamientos en el estudio.

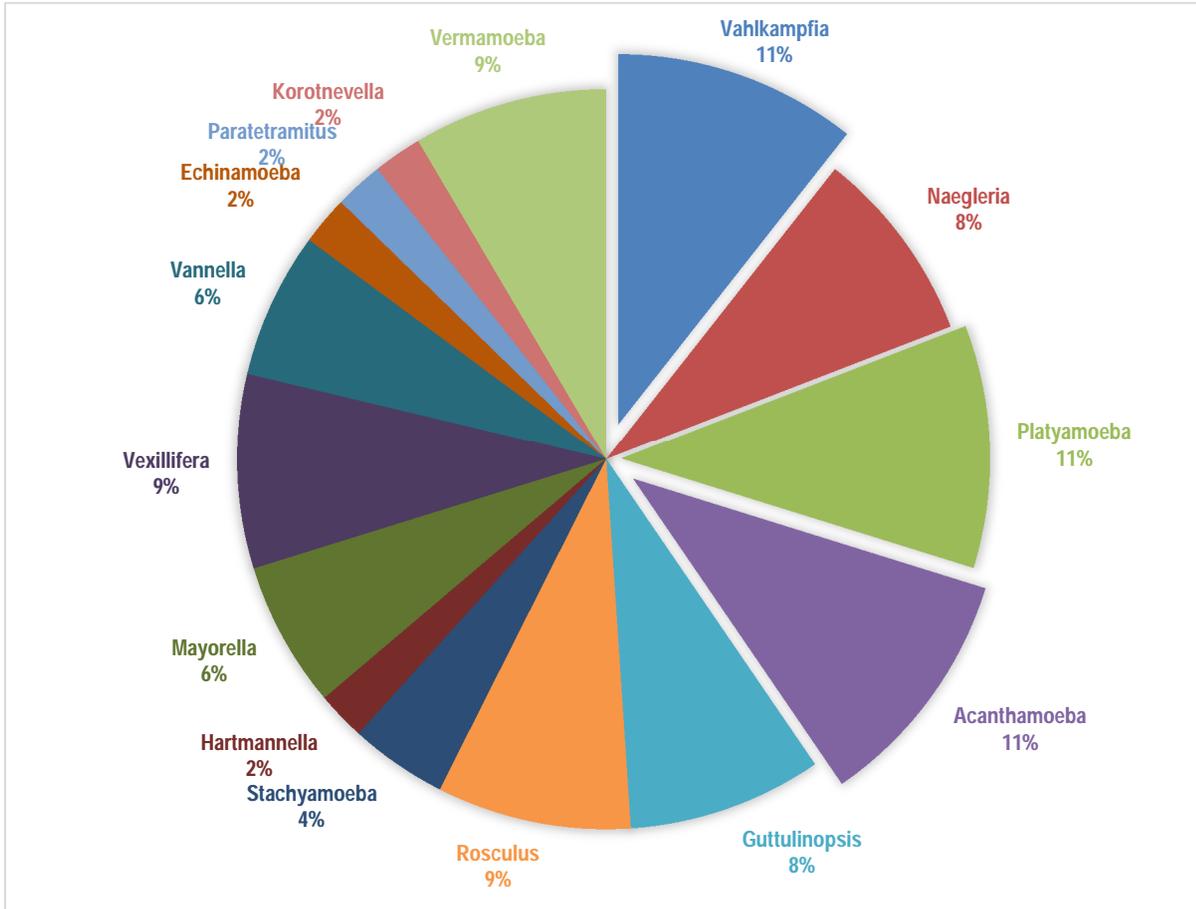


Figura 17. Géneros presentes en los ríos afluentes a la Subcuenca Amanalco-Valle de Bravo.

IX.2. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PATOGENICIDAD

Se probó la patogenicidad de 5 cepas, 4 pertenecientes al género *Acanthamoeba* y una a *Naegleria gruberi*, de las cuales solo un ratón inoculado con *Acanthamoeba* murió el día 16, y después de extraer los órganos, se recuperaron trofozoítos solamente del riñón. Lo anterior muestra que a pesar de haber realizado varios aislamientos de los géneros *Acanthamoeba-Naegleria*, el mayor número de ellas no son patógenas, lo cual es muy bueno desde el punto de vista de salud pública. Sin embargo, el hecho que una de ellas haya mostrado ser invasiva debe tomarse en cuenta.

Estudios previos (Visvesvara *et al.*, 2007) han demostrado que las AVL patógenas son termófilas, es decir, que se desarrollan a temperatura mayor a 30°C. Y como se puede ver en los resultados, el rango de temperatura en este estudio va de los 9.5° a los 19 °C, y esto puede explicar que aunque se encuentren los géneros *Naegleria* y *Acanthamoeba*, los aislamientos obtenidos no son patógenos.

IX.3. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS

Para el análisis fisicoquímico se calculó la media y se agruparon en dos períodos: Lluvias (Septiembre y Noviembre del 2008) y secas (Mayo del 2008, Febrero 2009 y Mayo 2009).

IX.3.1. TEMPERATURA

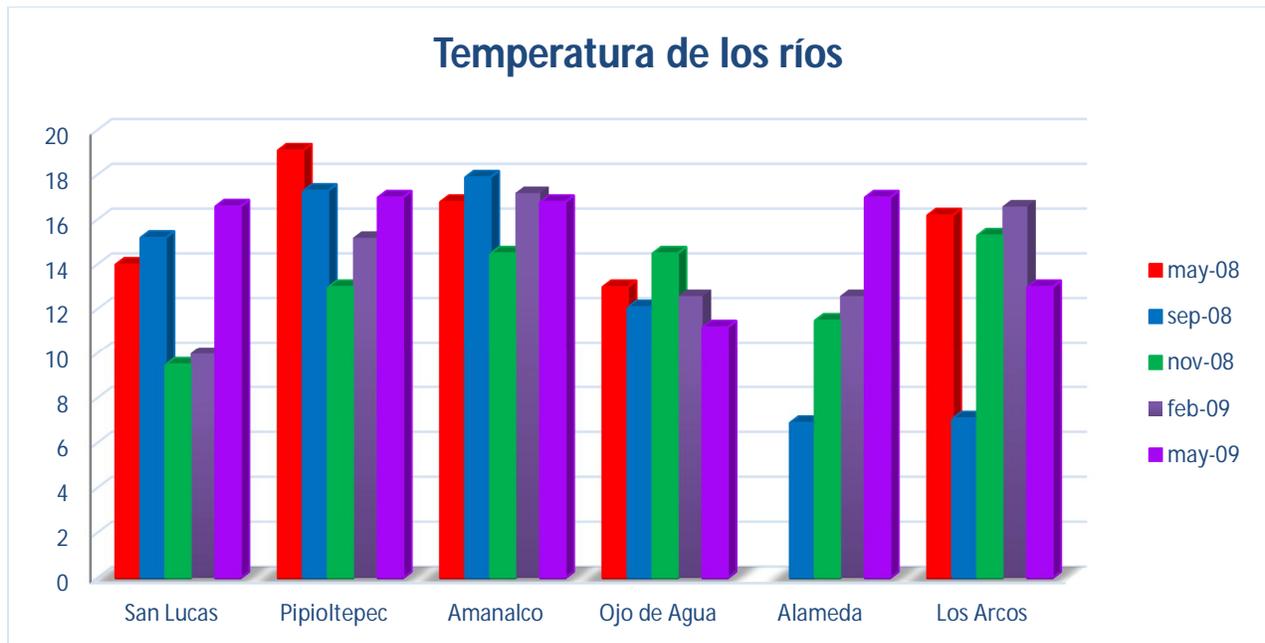


Figura 18. Temperaturas en los sitios muestreados

La temperatura de los ríos estudiados osciló entre los 9.5°C a los 19.0°C. En Amanalco y Pipioltepec se registraron las temperaturas más altas (13°C a 19°C). Se observa que la temperatura del agua de los ríos se vio influida por las estaciones del año ya que en temporada de secas se registraron las temperaturas más altas. En el río La Alameda no hubo registro de temperatura en época de secas de 2009,

debido a que el volumen de agua era muy bajo. Aunque la temperatura promedio de los ríos estuvo por debajo de 20°C, en general no fue limitante para la presencia de AVL.

IX.3.2. pH

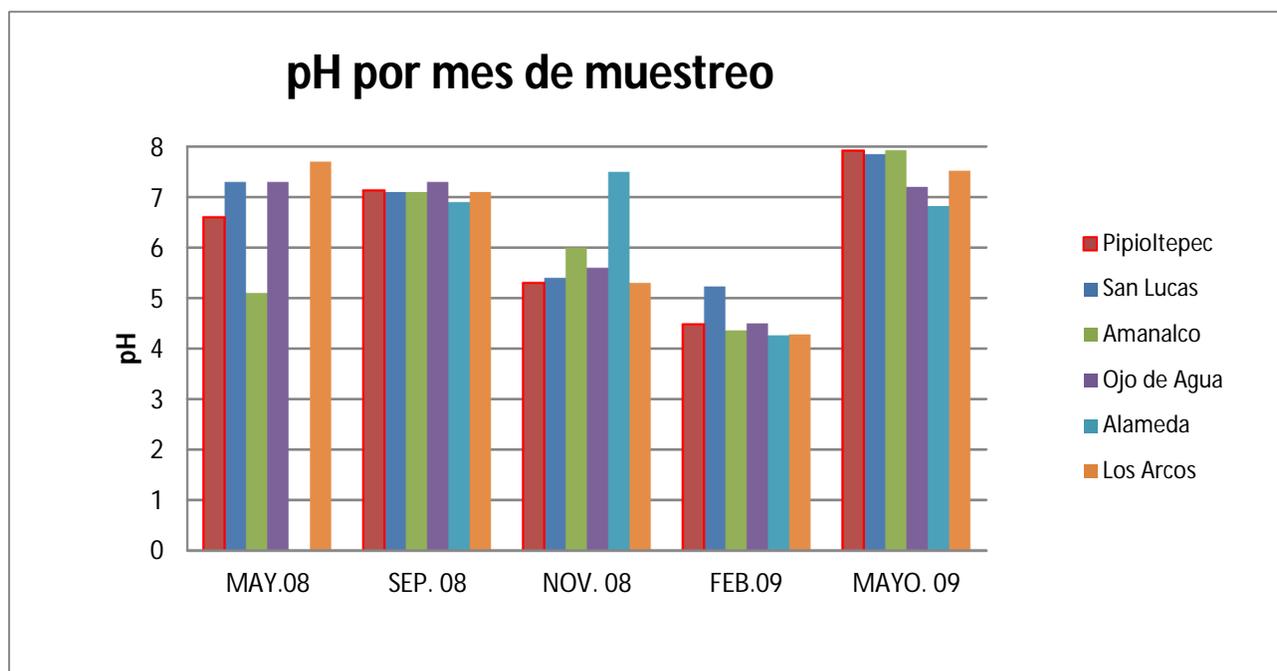


Figura 19. pH registrado en los ríos tributarios

El pH durante este estudio estuvo un rango de 6.2-6.4 en casi todos los sitios, aunque en febrero de 2009 (Tabla 7), hubo una baja importante de pH hasta 4.26, mismo que está por debajo de los límites permisibles conforme a los Valores de la guía para la calidad de agua potable, 1987 y la NOM-127-SSA1-1994, que indican que el pH de la mayoría de las aguas naturales fluctúan entre los 6.5 – 8.5, pero para la presencia de AVL este factor no fue limitante ya que aun con pH ácido se obtuvieron aislamientos amibianos.

IX.3.3. SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES (SST)

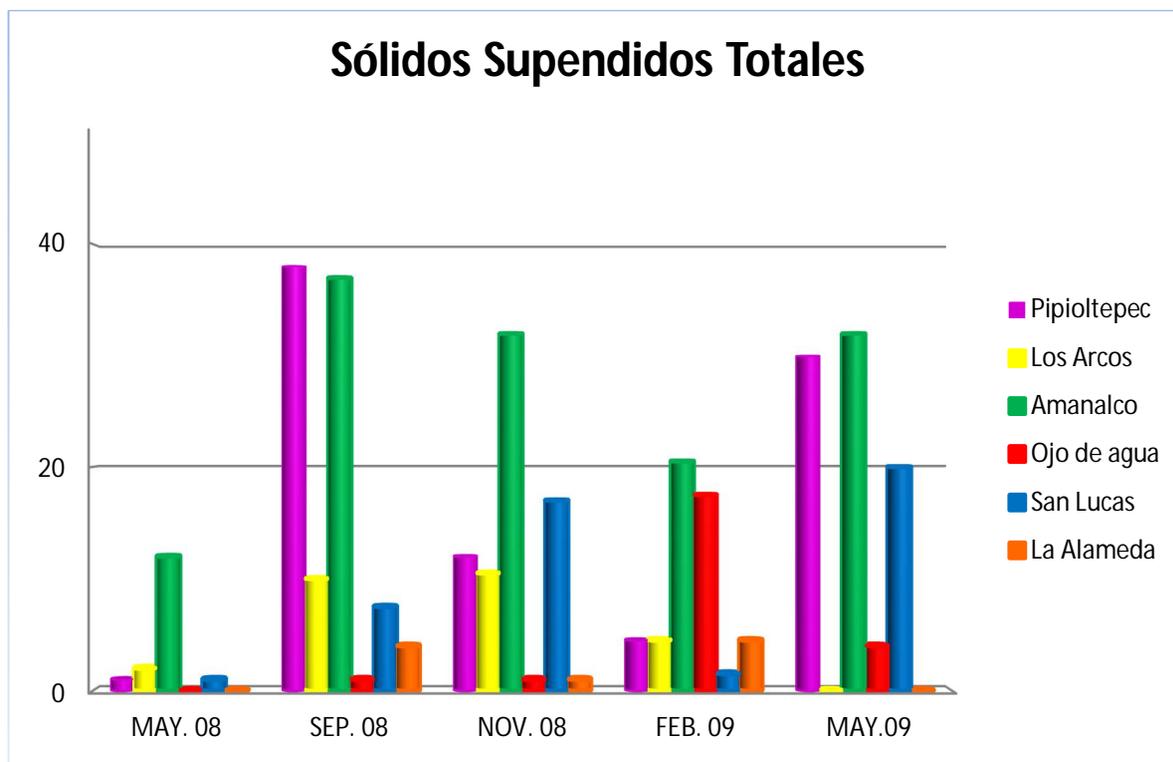


Figura 20. SST registrados en los ríos tributarios.

En la figura 20 se observa que en Pipioltepec y Amanalco se registraron los valores más altos de SST en el mes de septiembre 2008 (época de lluvias), 38 mg L^{-1} y 37 mg L^{-1} respectivamente, lo cual podría indicar que el incremento se debe al arrastre de materia que se genera en ese período. Aun con valores elevados Amanalco no sobrepasó los valores permisibles para fuente de abastecimiento para uso público urbano y Protección a la vida acuática, conforme a la Ley Federal de Derechos y disposiciones aplicables en materia de aguas nacionales la cual marca como límite permisible para ambos casos 50 mg L^{-1} .

La presencia de SST en los ríos puede favorecer a las AVL debido a que incluyen sólidos orgánicos, que son parte del sustrato de las bacterias, las cuales a su vez son el alimento de las AVL.

IX.3.4. CONDUCTIVIDAD

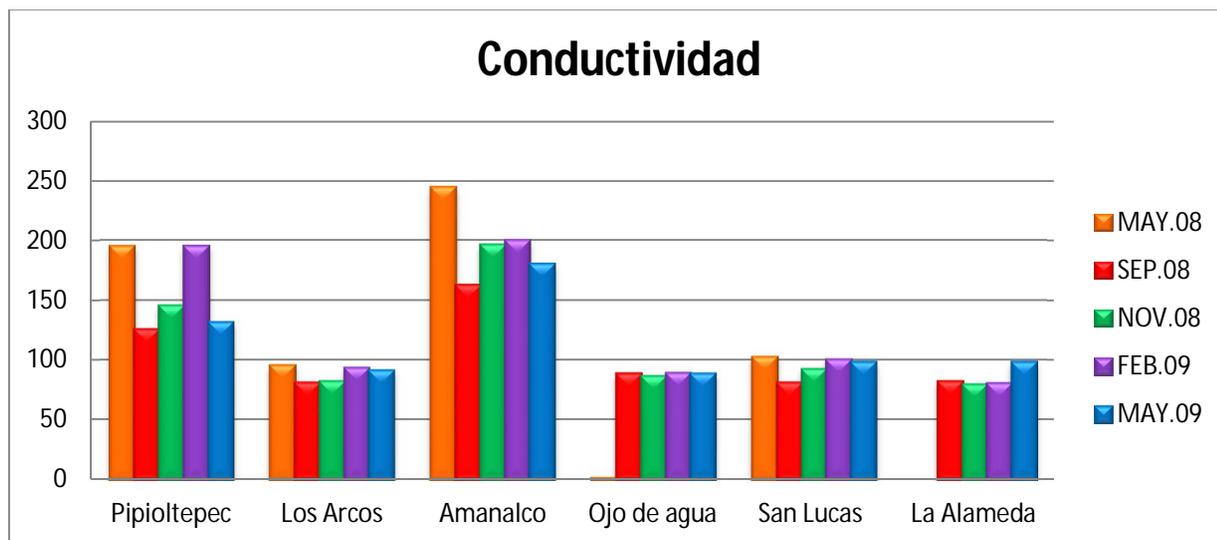


Figura 21. Conductividad de los ríos tributarios

Los registros de conductividad más altos se obtuvieron en Amanalco y Pipioltepec (Fig. 21). Como se sabe la conductividad se ve afectada por las variaciones de temperatura; al aumentar la temperatura se incrementa la conductividad (Robles *et al.*, 2004), lo cual concuerda con que la época de secas (mayo- 08 y feb- 09) y con los ríos que registraron las más altas temperaturas.

Los valores registrados de conductividad se encuentran entre los límites adecuados para la sobrevivencia de las AVL.

IX.3.5. OXÍGENO DISUELTADO (OD), DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO₅) Y DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)

Los niveles de OD pueden usarse como indicadores de contaminación en las aguas superficiales, las concentraciones bajas se asocian a mala calidad de agua, mientras que las altas con una buena calidad, los niveles óptimos para aguas

superficiales varían entre 3 y 12 mg L⁻¹ mientras que los valores que se presentan en aguas contaminadas son menores a 3 mg L⁻¹ (Robles *et al.*, 2004).

El agua de los tributarios analizados en cuanto al OD, son de buena calidad ya que los valores están por arriba de los 3 mg L⁻¹ y en su mayoría se mantuvo en un rango de 7.2 a 7.6 mg L⁻¹ (Fig. 22). El sitio con menor concentración de OD se registró en la Alameda, con 4.4 mg L⁻¹ en mayo 09, estando dentro de los rangos de buena calidad. El OD es menos soluble en altas temperaturas, debido a lo cual, todas las condiciones críticas relacionadas con la deficiencia de OD ocurren durante los meses de temperaturas altas (Robles *et al.*, 2004) como se mencionó con anterioridad, en este estudio las temperaturas más altas se registraron en febrero y Mayo (temporada de secas). Las AVL son microorganismos aerobios y en general los sitios analizados contienen concentraciones adecuadas de OD para las AVL.

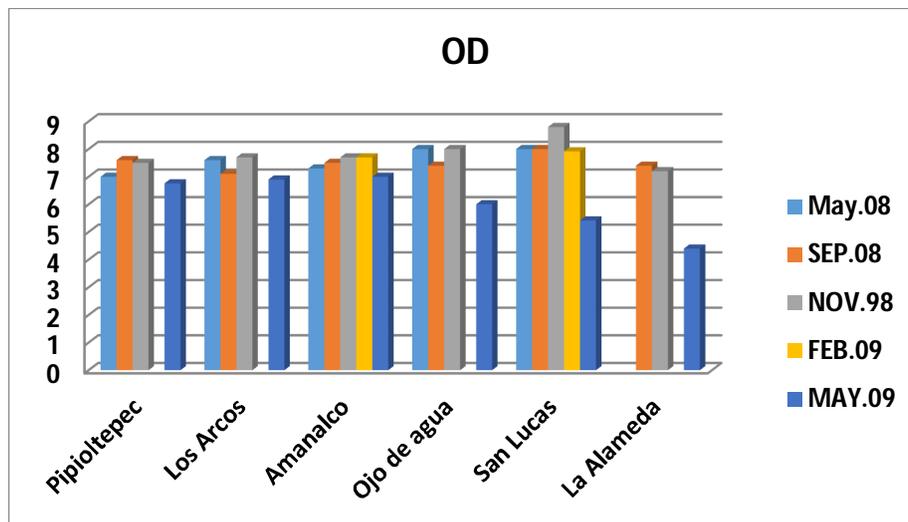


Figura 22. OD de los ríos tributarios

IX.3.6. DBO₅ y DQO

La materia orgánica contenida en aguas superficiales varía según el cuerpo de agua que la contenga y de su entorno, esta concentración en los ríos se mide mediante los parámetros de DBO₅ y DQO. Estos parámetros de calidad del agua son una

clasificación dada por la CONAGUA (escalas de clasificación tabla 9). Valores elevados significa que las aguas contienen mucha materia orgánica en dilución.

CRITERIO (mg/l)	CLASIFICACIÓN	COLOR
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO₅)		
DBO ₅ ≤ 3	EXCELENTE No contaminada	AZUL
3 < DBO ₅ ≤ 6	BUENA CALIDAD Aguas superficiales con bajo contenido de materia orgánica biodegradable	VERDE
6 < DBO ₅ ≤ 30	ACEPTABLE Con indicio de contaminación. Aguas superficiales con capacidad de autodepuración o con descargas de aguas residuales tratadas biológicamente	AMARILLO
30 < DBO ₅ ≤ 120	CONTAMINADA Aguas superficiales con descargas de aguas residuales crudas, principalmente de origen municipal	NARANJA
DBO ₅ > 120	FUERTEMENTE CONTAMINADA Aguas superficiales con fuerte impacto de descargas de aguas residuales crudas municipales y no municipales	ROJO
DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)		
DQO ≤ 10	EXCELENTE No contaminada	AZUL
10 < DQO ≤ 20	BUENA CALIDAD Aguas superficiales con bajo contenido de materia orgánica biodegradable y no biodegradable	VERDE
20 < DQO ≤ 40	ACEPTABLE Con indicio de contaminación. Aguas superficiales con capacidad de autodepuración o con descargas de aguas residuales tratadas biológicamente	AMARILLO
40 < DQO ≤ 200	CONTAMINADA Aguas superficiales con descargas de aguas residuales crudas, principalmente de origen municipal	NARANJA
DQO > 200	FUERTEMENTE CONTAMINADA Aguas superficiales con fuerte impacto de descargas de aguas residuales crudas municipales y no municipales	ROJO
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES (SST)		
SST ≤ 25	EXCELENTE Clase de excepción, muy buena calidad	AZUL
25 < SST ≤ 75	BUENA CALIDAD Aguas superficiales con bajo contenido de sólidos suspendidos, generalmente condiciones naturales. Favorece la conservación de comunidades acuáticas y el riego agrícola irrestricto	VERDE
75 < SST ≤ 150	ACEPTABLE Aguas superficiales con indicio de contaminación. Con descargas de aguas residuales tratadas biológicamente Condición regular para peces. Riego agrícola restringido	AMARILLO
150 < SST ≤ 400	CONTAMINADA Aguas superficiales de mala calidad con descargas de aguas residuales crudas. Agua con alto contenido de material suspendido	NARANJA
SST > 400	FUERTEMENTE CONTAMINADA Aguas superficiales con fuerte impacto de descargas de aguas residuales crudas municipales y no municipales con alta carga contaminante. Mala condición para peces	ROJO

Tabla 9. Escala de clasificación para DQO, DBO₅ y SST según CONAGUA.

La CONAGUA establece que cuando hay valores de DQO menores a 10 mg L⁻¹ el agua es de excelente calidad. Como se aprecia en la gráfica 23 todos los sitios en promedio presentan excelente calidad de agua de acuerdo a esta clasificación, pero en el sitio de Amanalco se observó una concentración de hasta un 12.33 mg L⁻¹, valor que aún se considera como de buena calidad, este valor puede deberse a que en época de lluvias se registra un aumento de materia orgánica debido principalmente a la lixiviación del suelo y su contenido tanto orgánico como inorgánico, a lo cual también contribuye la presencia de asentamientos humanos en esa zona.

En cuanto a la DBO la Comisión Nacional del Agua señala como aguas de excelente calidad aquellas que estén por debajo o igual a 3 mg L^{-1} . De acuerdo con esta clasificación el agua de los tributarios estudiados se puede considerar como de excelente calidad ya que los valores de la DBO_5 se encontraron entre 0.74 y 2.12 mg L^{-1} (Fig. 23).



Figura 23. Promedio de DQO y DBO_5 en los ríos tributarios

IX.3.6. NITRATOS, NITRITOS Y AMONIO.

La Norma Oficial Mexicana NOM 127-SSA-1994 de agua para uso y consumo humano marca como límite de nitratos 10.0 mg L^{-1} . Comparando los resultados obtenidos con los límites permisibles se observa que el promedio de los ríos analizados están dentro del rango permisible, el contenido más alto en nitratos se mostró fue en la época de secas del 2009 (febrero y mayo del 2009) con 5.17 y 4.075 mg L^{-1} respectivamente y Aunque los valores estuvieron por debajo del límite permisible, se debe tener cuidado con este parámetro ya que el exceso del ión nitrato en el agua de consumo es un peligro potencial para la salud (De la Vega, 2007).

Para los Nitritos la Norma NOM-127-SSA-1994 marca como límite permisible, 1.0 mg L^{-1} en agua para uso y consumo humano, como se observa en la figura 24 todos los muestreos tanto en época de lluvias como secas estuvieron por debajo del límite en un rango de 0.016 a 0.045 mg L^{-1} , aunque en la temporada de secas se observó una concentración con valor máximo de 0.045 mg L^{-1} .

Según estudios realizados por la Comisión Nacional del Agua (CNA, 2001) la concentración de nitritos en la presa de Valle de Bravo es en promedio de 0.006 a 0.008 mg L^{-1} (internet 3). Robles *et al.*, (2004) mencionan que la presencia de trazas (cantidades muy pequeñas) de nitritos en abastecimientos de aguas superficiales puede indicar contaminación.

El amoniaco como ion amonio, es el contaminante nitrogenado que se encuentra con mayor frecuencia en el agua, ya que además de ser un producto natural es un producto industrial clave (Robles *et al.*, 2004). En las aguas superficiales hay poco amonio, por lo general es de aproximadamente 0.05 a 0.1 mg L^{-1} a menos que haya una fuerte contaminación con materia orgánica tal como las aguas negras, que se acumula en las capas inferiores mal aireadas que dan un valor de amonio de 0.1 a 1.0 mg L^{-1} principalmente como resultado de la descomposición de la materia

orgánica que hay en los sedimentos (Campbell, 1987). En este estudio se obtuvieron valores promedio de 0.015 a 0.207 y aunque son valores relativamente altos se encuentran dentro del rango aceptable de aguas superficiales.

Cabe mencionar que en 2007, Ojeda, reportó para el agua de Valle de Bravo una concentración de amonio de agosto a marzo de 1.4 mg L⁻¹ y un descenso de abril a julio de 0.03 mg L⁻¹. En el presente estudio las concentraciones de amonio no variaron con respecto a los meses y su concentración fue baja registrando en la época de secas (Febrero y Mayo) un valor de amonio promedio de 0.037 mg L⁻¹ y en temporada de lluvias 0.034mg L⁻¹.

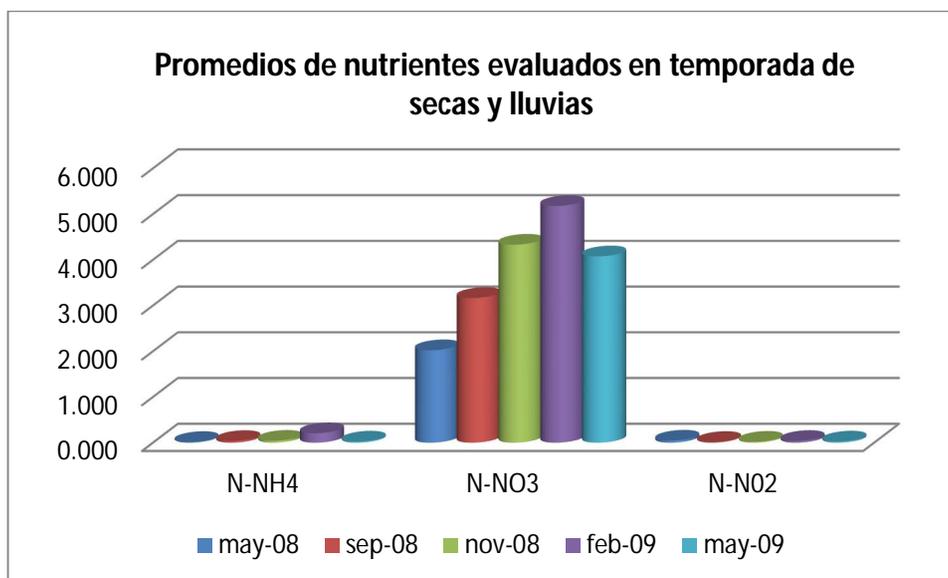


Figura 24. Concentración promedio de compuestos nitrogenados

De acuerdo con lo anterior, las concentraciones de los compuestos nitrogenados se registraron por debajo de los límites de las normas para aguas superficiales y estuvieron dentro de los límites aceptables para el desarrollo y presencia de las AVL

IX.3.7. FOSFATOS

El fósforo en forma natural en el medio ambiente se encuentra casi en su totalidad en forma de fosfato y es esencial para toda forma de vida.

En los tributarios estudiados (fig. 25) se registraron valores de fosfatos desde 0.0291 mg L⁻¹ (Pipioltepec septiembre-08), hasta 7 mg L⁻¹ en Pipioltepec, seguido de Ojo de agua con 6.359 mg L⁻¹ en el mes de mayo 08, es decir, por arriba del límite permisible que es de 0.1 mg L⁻¹ (DOF, 2005), cabe señalar que la CONAGUA en el 2003 realiza la medición sistemática de la calidad del líquido a través de su Red Nacional de Monitoreo (210 ubicados en cuerpos de agua superficiales), detectando que en más de 70% de los sitios de monitoreo, la concentración de fósforo total fue superior a 0.1 mg/l.

De acuerdo con Campbell (1987), parte del fósforo se pierde en las aguas profundas y en sedimentos, donde se deposita la mayoría de los organismos muertos, por lo que al bajar el flujo de agua en temporada de secas (febrero y mayo) aumenta la concentración de fósforo y por tanto la concentración de fosfatos, ocurriendo lo contrario en época de lluvias, que al aumentar la cantidad de agua en los tributarios en los meses de septiembre y noviembre disminuyó la concentración de fosfatos.

Por lo tanto se podría suponer que los acarreos externos de fosfatos en los cuerpos de agua por lo general son ocasionados por dinanismos antropogénicos, procedentes de actividades agrícolas, así como del vertimiento de detergentes no biodegradables y procesos de erosión.

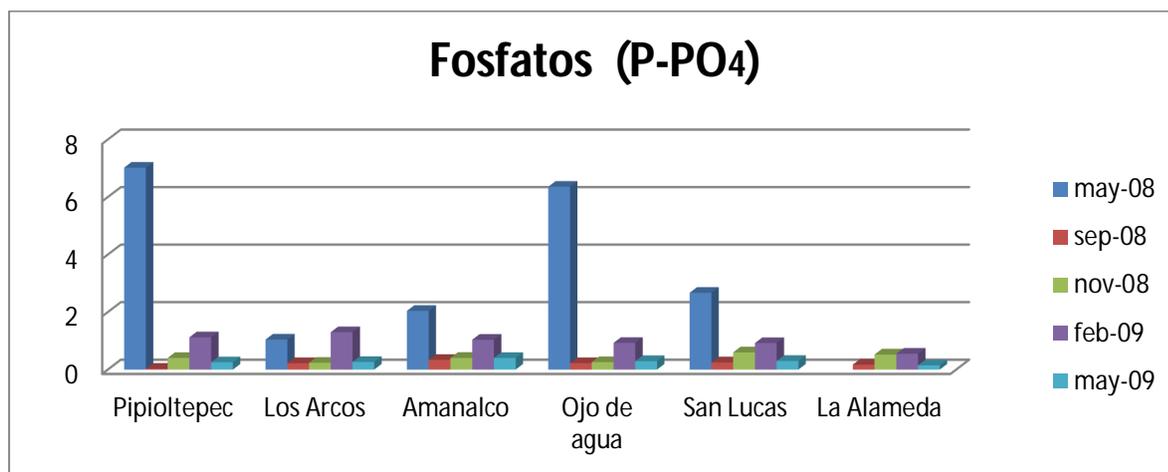


Figura 25. Concentración promedio de fosfatos

IX.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se realizó el Coeficiente de Correlación de Pearson (Durán *et al.*, 2004) para conocer la relación de AVL con algunos parámetros fisicoquímicos del agua de ríos tributarios de la Sub cuenca de Valle de Bravo-Amanalco.

El coeficiente de Correlación de Pearson es un índice que mide el grado de correlación entre distintas variables relacionadas linealmente. Sus valores oscilan entre 0 y 1 (tabla 10) (Durán *et al.*, 2004).

Tabla 10. Grado de asociación del valor obtenido de r.

Valor absoluto de r	Grado de asociación
0.8-1.0	Fuerte
0.5-0.8	Moderada
0.2-0.5	Débil
0.0-0.2	Insignificante

Después de realizar el análisis estadístico en cada uno de los 6 sitios muestreados, en Pipioltepec y Amanalco se encontró una correlación moderada entre la presencia de AVL con SST ($r = 0.7987$ y $r = 0.75$ respectivamente) y una asociación inversa moderada con los fosfatos ($r = -0.7946$ y $r = -0.86$ respectivamente,) lo cual podría sugerir que la relación con los SST se deba a que están constituidos por materia orgánica e inorgánica (Jiménez, 2001) y que el incremento de estas partículas contribuya con el aumento de la población bacteriana, en consecuencia con la presencia de AVL, ya que las bacterias constituyen su principal fuente de alimento (Chapelle, 1993; Novarino *et al.*, 1997; Ramírez *et al.*, 2001). Por otro lado, Pipioltepec y Amanalco son los tributarios de las partes bajas hacia el embalse de Valle de Bravo, por lo cual trae consigo un mayor arrastre de sedimentos y restos de fertilizantes producto de cultivos de las comunidades asentadas en las partes altas de los tributarios.

X. CONCLUSIONES

- Las AVL más frecuentes pertenecen a los géneros *Acanthamoeba*, *Vahlkampfia* y *Platyamoeba*.
- A excepción de La Alameda, el número de aislamientos de AVL por sitio de muestreo, fue muy similar.
- La mayor riqueza específica de AVL se obtuvo durante la época de lluvia (noviembre 2008)
- A excepción de los ríos Pipioltepec y Amanalco que muestran cierto grado de contaminación, el agua del resto de los ríos analizados conforme a las normas aplicables y la CONAGUA tienen buena calidad fisicoquímica.
- La mayoría de las AVL presentes en los ríos de la subcuenca de Valle de Bravo no son patógenas, solo un aislamiento de *Acanthamoeba* fue invasivo en ratón.
- Desde el punto de vista de salud pública es conveniente tomar precauciones, debido a la presencia de algunas amibas potencialmente patógenas como es el caso de *Acanthamoeba*.

La contaminación de los ríos y arroyos se da principalmente por el ingreso de materia orgánica y nutrientes. Este tipo de contaminación puede ocasionar riesgo sanitario y pérdida de la biodiversidad de ecosistemas y especies. Por ello es importante una evaluación permanente de la calidad del agua, que permita preservar estos sistemas y así, conciliar los objetivos de conservación con los de desarrollo económico.

REFERENCIAS

- Adl et al., 2005. The New Higher Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists. *J. Eukaryot. Microbiol.* 52(5):399-451.
- ASTM 1989-98. 2004. Standard Specification for Laboratory Equipment Control Interface
- Bonilla P., Ramírez E., Calderón A., Gallegos E., Rodríguez S., Ortiz R., y Hernández D. 2000. Occurrence of pathogenic and free-living amoebae in aquatic system of the Huasteca Potosina, Mexico. *In aquatic ecosystems of México: status and scope.* Eds. M. Munawar, S. Lawrence, I. Munawar and D. Malley. Ecovision World Monograph series. Backhuys publishers, Leiden, the Netherlands.
- Bonilla, P., Ramírez E., Ortiz., Eslava C. 2004. La ecología de las amibas de vida libre en ambientes acuáticos. *En: Microbiología Ambiental.* Irma Rosas, Alejandro Cravioto, Exequiel Ezcurra. Instituto Nacional de Ecología. UNAM México. 67-78pp.
- Bonilla, P., Gaytán M., Vilaclara G., Merino M., Ramírez E., Ortiz R., Castillo S. y Ramírez-Zierold J. 2006. Estimación de la contaminación microbiológica del embalse Valle de Bravo. XXV Coloquio de Investigación. FES Iztacala.
- Bonilla P. y Ramírez E. 2008. Amibas de vida libre asociadas a patologías en seres humanos. *Parasitología Médica.* 2ª Ed. Becerril M. A. Mc Graw Hill Interamericana. 22-30.
- Bonilla-Lemus P., Ramírez-Bautista G.A., Zamora-Muñoz C., Ibarra-Montes, M.R., Ramírez-Flores, E., Hernández-Martínez, M.D. 2010. *Acanthamoeba* spp. in domestic tap water in houses of contact lens wearers in the metropolitan Area of Mexico City. *Exp Parasitol*, 126: 54-58.
- Bonilla P. y Ramírez E. 2011. Amibas de vida libre con potencial patógeno. *Parasitología Médica.* 3ª Ed. Becerril M. A. Mc Graw Hill Interamericana. 31-42.
- CNA, 2005. Descripción del medio natural de la cuenca Valle de Bravo, Estado de México. www.cna.gob.mx

- Clasificación para Calidad e Interpretación de concentración de la DBO₅ en cuerpos de agua Comisión Nacional del Agua. 2012
- Chapelle, H.F. 1993. *Groundwater Microbiology and Geochemistry*. John Wiley & Sons, Inc., New York
- Cortes M. R. S. 2004. "Evaluación de la calidad bacteriológica y fisicoquímica de la presa de Valle de Bravo". Tesis de licenciatura en Biología FES Iztacala. UNAM. México.
- Durán, D.A. y Cisneros, C.A., Vargas, V.A. 2003. *Bioestadística*. FESI-UNAM. México. 136-144. pp.
- Gobierno del Estado de México (GEM) y Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM). 2006. Programa de Ordenamiento Ecológico de la Cuenca de Valle de Bravo-Amanalco. www.edomexico.gob.mx/sma/se/
- Goyenola G. 2007. Guía para la utilización de las Valijas Viajeras. Red de Monitoreo Ambiental Participativo de Sistemas Acuáticos, RED MAPSA. http://www.imasd.fcien.edu.uy/difusioneducambpropuestasredcurso_2007/cartillastematicasConductividad.pdf.
- Gudiño G.D. 2003. "Estudio cuantitativo de las amibas de vida libre presentes en un sistema de tratamiento del agua residual del tipo del método de la zona de la raíz (MZR) en el poblado de Matilde, Hgo. Tesis de Licenciatura en Biología FES Iztacala. UNAM. México.
- Guzmán Q. A., Palacios V. O. L., Carrillo G. R., Chávez M. J., Nikolskii G. L. 2007. La contaminación del agua superficial en la cuenca del río Texcoco, México. *Agrociencia*. 41: 385-393.
- Jiménez, B.E., 2001. *La contaminación ambiental en México. Causas, efectos y Tecnología apropiada*. Editorial Limusa S.A. de C.V. 926 p.
- La comisión de cuenca Valle de Bravo-Amanalco 2008. www.cuencaamanalcovalle.org
- Ley de Aguas Nacionales publicada en el Diario Oficial de la Federación el 2007, última reforma publicada en DOF el 07-06-2013

- Limón T. J. L., 2007. "Caracterización de amibas de vida libre presentes en agua subterránea del acuífero de Zacatepec Morelos". Tesis de licenciatura en Biología FES Iztacala. UNAM. México.
- Morales S.C. 1999. "Análisis del comportamiento y variabilidad de los parámetros fisicoquímicos y calidad del agua del río Acaponeta, (1990-1993) Nayarit". Tesis de Licenciatura. Biología. FES Iztacala. UNAM.
- Neria P. J. 2010. "Estimación del grado de contaminación por bacterias coliformes totales y fecales de los ríos de la Sub cuenca de Valle de Bravo – Amanalco." Tesis de Licenciatura. Biología. FES Iztacala. UNAM.
- Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.
- NOM-245-SSA1-2010. Requisitos sanitarios y calidad del agua que deben cumplir las albercas. Junio 25 de 2012.
- Novarino, G., Warren, A., Butler, H., Lambourne, G., Boxshall, A., Bateman, J., Kinner, N.E., Harvey, R.W., Mosse, R.A., Teltsch, B., 1997. Protistan communities in aquifers: a review, FEMS Microbiology Review, 20: 261-275.
- Page F. C. 1988. A new key to freshwater and soil Gymnamoebae with instructions for culture. Publicado por Freshwater Biological Association.
- Pérez-Irezabal J., Martínez, I., Barron, J., 2006. Queratitis por *Acanthamoeba*. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica; 24: 146-52.
- Pérez G., Espinosa, A.C., Alba, P., Mazari-Hiriart, M. 2006. Calidad del agua en la Cuenca Valle de Bravo-Amanalco, una propuesta para su manejo. Instituto de Ecología, UNAM.
- Pernin, P. Pélandakis, M., 2001. About some aspects of the ecology and biodiversity of the *Naegleria* amoebae. John Libbey Eurotext. París, Francia. p. 81-85.
- Ramírez E., y Bonilla P. 1995. Epidemiología de las amibas en México. Rev. Información Científica y Tecnológica. 17:15-17pp.

- Ramírez, E., Campoy, E., Matus, D., Robles, E., Bonilla, P., Warren, A. y Ortiz, R. 2001. Free-Living amoebae inorganically-contaminated aquifer in Mexico. Proceedings of IXth International Meeting of the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae. John Libbey. Eurotex, Paris, pp. 109-116.
- Rivera, F., Roy-Ocotla, G., Rosas, I., Ramírez, E., Bonilla, P., Lares, F., 1987. Amoebae isolated from the atmosphere of Mexico City and environs. Environ Res, 42: 149-154.
- Rivera, F., Ramírez E., Bonilla P., Calderón A., Gallegos E., Rodríguez S., Ortíz R., Zaldivar B., Ramírez P., y Duran A. 1993. Pathogenic and free living amoebae isolated from swimming pools and physiotherapy tubs in México. Environ Res, 62: 43-52.
- Robles, V., E. 2004. Contaminantes físicos y químicos del agua: sus efectos en el hombre y el medio ambiente, FES Iztacala, UNAM.
- Robles, V., E. Análisis de aguas, FES Iztacala, UNAM, Primera reimpresión, 2008. 147-150,153-158p
- Schuster, F. L. 2002. Cultivation of pathogenic and opportunistic free-living amebas, Clin. Microbiol. Rev., 15 (3):342-354.
- Schuster F L, Visvesvara G S. 2004. Free-living amoebae as opportunistic and nonopportunistic pathogens of humans and animals. Int J Parasitol, 34: 1001-2.
- Smirnov, A. V., Chaob, E, Nassonovac, E., S., Cavalier-Smith, T. 2011 A Revised Classification of Naked Lobose Amoebae (Amoebozoa: Lobosa), Elsevier -Protist, Vol. 162, 545-570,
- Toledo T. E. 2007. "Presencia y distribución de amibas y ciliados en CU". Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. UNAM. México.
- Urbina M. C. 2006. "Efecto de la temperatura la distribución de amibas de vida libre en un sistema de aguas termales alimentados por un geiser en el estado de Hidalgo. Tesis de licenciatura en Biología, FES Iztacala UNAM.

- Visvesvara G.S, Moura H, Schuster F.L. 2007. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri* and *Sappinia diploidea*. FEMS Immunol Med Microbiol. 50: 1–26.
- www.ine.gob.mx. Evaluación de la calidad del agua, Enrique Mejía Maravilla.

ANEXO 1

Medios de cultivo

Medio Monoxénico

Agar no nutritivo con *Enterobacter aerogenes* (NNE)

NaCl	0.12g
MgSO ₄ H ₂ O	0.004g
CaCl ₂ H ₂ O	0.004g
Na ₂ HPO ₄	0.142g
KH ₂ PO ₄	0.136g
Bactoagar	15.0g
Agua destilada	1000ml

El medio NNE se prepara mezclando los componentes deshidratados y después agregando el agua destilada que se calienta hasta la ebullición. Se esteriliza a 121°C durante 15 min y cuando se ha enfriado un poco se vacían de 15 a 20 ml de agar en cajas Petri previamente esterilizadas. Cuando el agar solidifica, se inocula una preparación de bacterias *Enterobacter aerogenes* inactiva. Las bacterias se obtienen cosechándolas a partir de cultivos puros en soluciones de agua destilada e inactivándola en baño de agua a 70°C por 30 min.

En las placas de agar se siembran aproximadamente 0.5 ml de solución de bacterias inactivadas la cual se distribuye homogéneamente por toda la superficie del medio con varilla acodada las placas de NNE se dejan reposar una hora aproximadamente y se guardan en el refrigerador hasta su uso.

Medio Axénico**Medio PBSGM (Chang modificado)**

Peptona Biotriptasa	16.6 g
Dextrosa	2.7 g
Na ₂ HPO ₄	1.5 g
KH ₂ PO ₄	0.9
Agua destilada	1000 ml

Los ingredientes se mezclan en seco y se disuelven en el agua destilada. Se envasan 2.7 ml del medio en tubos con tapón de rosca y se esterilizan a 121°C durante 15 minutos. Ya frío el medio, a cada tubo se le agrega 0.3 ml de suero neonato de bovino con antibióticos. Se guarda en el congelador.

Preparación del suero neonato de bovino para el medio PBSGM

El suero se descongela y se pone a baño María a 56°C durante 30 minutos para descomplementarlo. Se prepara una mezcla de antibióticos a base de penicilina G sal sódica y kanamicina de la siguiente manera.

Penicilina G 1 000 000 U en 2ml de agua destilada.

Kanamicina 1 g en solución 3 ml

Volumen total 5 ml

Agregar 1.0 ml de la mezcla de antibióticos por cada 100 ml de suero descomplementado. Para obtener una concentración final de 200 µg de cada antibiótico en 3.0 ml de medio PBSGM.

Anexo 2

TABLA DE LA LEY FEDERAL DE DERECHOS Y DISPOSICIONES APLICABLES EN MATERIA DE AGUAS NACIONALES (DOF, 2007)

Para la aplicación de los valores contenidos en la tabla de lineamientos de calidad del agua, se deberá considerar lo siguiente:

USO 1: Fuente de abastecimiento para uso público urbano.

USO 2: Riego Agrícola.

USO 3: Protección a la vida acuática: Agua dulce, incluye humedales.

USO 4: Protección a la vida acuática: Aguas costeras y estuarios.

TABLA
Lineamientos de Calidad del Agua

PARAMETROS	USOS			
Unidades en mg/L si no se indican otras	1	2	3	4
Parámetros Inorgánicos				
Alcalinidad (como CaCO ₃)	400.0	-	(I)	(I)
Aluminio	0.02	5.0	0.05	0.2
Antimonio	0.1	0.1	0.09	-
Arsénico	0.05	0.1	0.2	0.04
Asbestos (Fibras/L)	3000	-	-	-
Bario	1.0	-	0.01	0.5
Berilio	0.005	0.5	0.003	0.1
Boro	1.0	0.7 (II)	-	0.009(III)

TABLA Lineamientos de Calidad del Agua

PARAMETROS	USOS			
Unidades en mg/L si no se indican otras	1	2	3	4
Parámetros Inorgánicos				
Cadmio	0.01	0.01	0.004	0.0002
Cianuro (como Comisión Nacional del Agua-)	0.02	0.02	0.005(III)	0.005
Cloruros (como Cl-)	250	150	250	-
Cobre	1.0	0.20	0.05	0.01
Cromo Total	0.05	0.1	0.05	0.01
Fierro	0.3	5.0	1.0	0.05
Fluoruros (como F-)	1.4	1.0	1.0	0.5
Fósforo Total	0.1	-	0.05	0.01
Manganeso	0.05	0.2	-	0.02
Mercurio	0.001	-	0.0005	0.0001
Níquel	0.01	0.2	0.6	0.002
Nitratos (NO ₃ -como N)	5.0	-	-	0.04
Nitritos (NO ₂ -como N)	0.05	-	-	0.01
Nitrógeno Amoniacal (como N)	-	-	0.06	0.01
Oxígeno Disuelto	4.0	-	5.0	5.0
Plata	0.001	-	0.06	0.002
Plomo	0.05	0.5	0.03	0.01
Selenio (como Selenato)	0.01	0.02	0.008	0.005

PARAMETROS	USOS			
	1	2	3	4
Unidades en mg/l si no se indican otras				
Parámetros Físicos				
Color (unidades de escala Pt-Co)	75.0	-	15.0	15.0
Grasas y Aceites	10.0	-	10.0	10.0
Materia Flotante	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Olor	Ausente	-	-	-
Potencial Hidrógeno (pH)	6.0 - 9.0	6.0 - 9.0	6.5 - 8.5	6.0 - 9.0
Sabor	Característico	-	-	-
Sólidos Disueltos Totales	500.0	500.0 (IV)	-	-
Sólidos Suspendidos Totales	50.0	50.0	30.0	30.0
Sólidos Totales	550.0	-	-	-
Temperatura (°C)	CN + 2.5	-	CN + 1.5	CN + 1.5
Turbiedad (Unidades de Turbiedad Nefelométricas)	10	-	-	-