



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS
DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA
ÁREA DE LABORATORIO CLINICO Y ANATOMIA
PATOLOGICA**

**“BIO-DIVERSIDAD DE AMEBAS DE VIDA LIBRE EN LA
LAGUNA DE CHINCHAYCOCHA EN JUNIN 4140 MSNM
CONTAMINADA POR RELAVES MINEROS”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIADO
TECNÓLOGO MÉDICO EN EL ÁREA DE LABORATORIO
CLINICO Y ANATOMIA PATOLOGICA**

DAVILA ZARATE, FABIOLA ELIZABETH

ASESOR:

**Lic. T.M. HOLGADO GONZALES, MILAGRITOS
SOLEDAD**

Lima, Perú

2017

HOJA DE APROBACIÓN

DAVILA ZARATE FABIOLA ELIZABETH

**“BIO-DIVERSIDAD DE AMEBAS DE VIDA LIBRE EN LA
LAGUNA DE CHINCHAYCOCHA EN JUNIN 4140 MSNM
CONTAMINADA POR RELAVES MINEROS.”**

Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del título de
Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico
y Anatomía Patológica por la Universidad Alas Peruanas.

LIMA – PERÚ

2017

DEDICATORIA

Se dedica este trabajo:

A dios, porque siempre ha guiado mis pasos.

A mis padres, por el gran amor q me brindan,
por los buenos consejos, enseñanzas y
experiencias.

A mi abuelita luisa, por enseñarme a ser
perseverante y responsable cada día.

A Milagritos por ser mi asesora, una
gran amiga, por compartir sus conocimientos
de la carrera

AGRADECIMIENTOS

Agradezco Dios por protegerme e iluminar mi camino día a día. A mis padres, por apoyarme a alcanzar mis metas y a nunca rendirse.

A la Universidad Alas Peruanas Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud, Escuela de Tecnología Médica, por permitir culminar mi carrera profesional en Laboratorio Clínico.

EPIGRAFE: Quien no quiere pensar es un Fanático; quien no puede pensar, es un idiota; Quien no osa pensar es un cobarde. Sir Francis Bacon

RESUMEN

El presente trabajo es un estudio de tipo descriptivo, trasversal que se realizó en la laguna de Chinchaycocha, se determinó la presencia de protozoarios de vida libre (Amebas de Vida Libre), patógenas para la salud humana.

Para realizar dicho trabajo se colectaron 11 muestras de agua y suelo de la laguna de Chinchaycocha, las cuales se sembraron en placas de agar no nutritivo, se determinó la presencia de protozoarios de vida libre, resultando 4 muestras positivas y se identificaron dos géneros *Acantamoeba* sp, y *Leptomyxas* sp.

ABSTRACT

This paper is a study of descriptive, transversal type that took place in the lagoon Chinchaycocha Junín Region of Peru. It has been determined the presence of free-living protozoa (free-living amoebae), potentially pathogenic to human health.

To make this work, 11 samples were collected water and soil of the lagoon Chinchaycocha, which were plated on non-nutrient agar. It has been determined the presence of free-living protozoa by monoxenically cultivate. They were observed four positive samples and two genera *Acanthamoeba sp* and *Leptomyxas sp*.

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 1: Imagen satelital con Google Earth	45
Figura N° 2: a) b) c). Trofozoito de Acanthamoeba, d) Quiste de Acanthamoeba	45
Figura N° 3: a) Algunas amebas y sus “formas flageladas” desde la derecha: Amoeba proteous, 100 um, b) Polycaos tinium 20 um; c) Naegleria gruberi 10um.....	46
Figura N° 4: Mapa físico de la laguna de Chinchaycocha en Junín.....	47
Figura N° 5: Laguna de Chinchaycocha.....	48

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1: Resultado del cultivo de agua y suelo de la Laguna Chinchaycocha	28
Tabla N° 2: Resultado de los Metales	37
Tabla N° 3: Niveles Tróficos del Lago Chinchaycocha	38
Tabla N° 4: Lagunas alto-andinos de Perú.....	44
Tabla N° 5: Características de la Subcuenca	44

INTRODUCCION

Existen AVL (amebas de vida libre) que son protozoos del grupo Rhizopodos del orden amoebida (*Acanthamoeba*) y del orden Schizopyrenida (*Naegleria* y *Balamuthia*) que viven en la naturaleza y están distribuidos mundialmente en diferentes reservorios de agua como pozas, piscinas, estanques, ríos, lagos, ríos, vegetación y suelos. Dentro de este grupo de protozoos, existen 4 amebas importantes, por causar daño al hombre. Entre ellas tenemos, al género *Naegleria*, con la especie patógena al ser humano *Naegleria fowleri*, causante de la meningoencefalitis amebiana primaria (PAM), Otra especie es *Balamuthia mandrillaris*, ameba oportunista, cuyo nombre se debe a que fue aislada a partir de mandriles. En 1990, Visvesvara la ubica dentro del género *Leptomyxid*, siendo reclasificada como *Balamuthia* en 1993. Esta ameba es la causante de la encefalitis granulomatosa y lesiones cutáneas, presentando una patología similar al género *Acanthamoeba*. Los casos que han sido reportados en América Latina (Perú, Argentina y México) están asociados con exposición a aguas de ríos o acequias. El tercer género de importancia es *Acanthamoeba*, causante de diversas infecciones en el ser humano inmunocompetente e inmunosuprimido; no sólo es causante de la encefalitis granulomatosa amebiana, sino también de infecciones oculares, principalmente en individuos usuarios de lentes de contacto. También se ha reportado casos de neumonitis y dermatitis, el ultimo género es *Sappinia diploidea*

Es el patógeno en humanos más recientemente reconocido, fue reportado, en el año 2001 e involucró a un hombre previamente sano de 38 años de edad que desarrolló una meningoencefalitis crónica.

El objetivo del trabajo es determinar que géneros de Amebas de vida libre está en la laguna Chinchaycocha, el cual está contaminado por relaves mineros.

INDICE

CARATULA	01
HOJA DE APROBACION	02
DEDICATORIA	03
AGRADECIMIENTO	04
RESUMEN	06
ABSTRACT	07
LISTA DE FIGURAS	08
LISTA DE TABLAS	09
INTRODUCCION	10
 CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	
1.1. Planteamiento del Problema.....	13
1.2. Formulación del Problema.....	15
1.2.1. Problema General.....	15
1.2.2. Problemas Específicos.....	15
1.3. Objetivos.....	15
1.3.1. Objetivo General.....	16
1.3.2. Objetivos Específicos.....	16
1.4. Hipótesis.....	16
1.5. Justificación.....	16
 CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICAS	
2.1. Bases Teóricas.....	16
2.2. Antecedentes.....	19
2.2.1. Antecedentes Internacionales.....	19
2.2.2. Antecedentes Nacionales.....	20
 CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	
3.1. Diseño del Estudio.....	23
3.2. Población.....	23
3.3. Muestra.....	23
3.4. Operacionalización de Variables.....	23
3.5. Procedimientos y Técnicas.....	23
3.5 Plan de Análisis de Datos.....	25

CAPÍTULO IV: DISCUSION DE RESULTADOS	
4.1.Resultados.....	30
4.2. Discusión.....	31
4.3 Conclusiones.....	32
4.4 Recomendaciones.....	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
ANEXOS.....	42
MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	43

CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema:

Los lagos en el Perú son pocos, pero tenemos a uno de los dos mayores de América del Sur, el Titicaca, con 8.380 km².⁽¹⁾ Este lago de origen tectónico ubicado en la meseta del Altiplano a 4,080 m.s.n.m., es compartido por Perú y Bolivia. El otro, muy importante es el lago Junín o Chinchaycocha, ubicado en la meseta del mismo nombre, en la sierra central, a unos 4,140 m.s.n.m. ⁽¹⁾ El Lago Chinchaycocha, alcanza una extensión de cerca de 32.000 hectáreas. El lago tiene una profundidad máxima de 12 metros (10 km.) frente a Huayre cuando el nivel del lago es 4,082.7 metros sobre el nivel del mar. ⁽¹⁾ La temperatura del lago a diferentes profundidades es: de 17°C a 15 cm. de 15,5°C a 1 m, de 15°C a 3 m, y de 14°C a 6 m, las temperaturas del agua varían en función a la profundidad, teniendo el fondo (profundidad máxima 12m) 10°C. ⁽¹⁾

Desafortunadamente se encuentra en un proceso de degradación ambiental debido a la contaminación por los pasivos de relaves mineros y que van aportando fuertes cantidades de sedimentos disminuyendo seriamente la profundidad del lago, afectando la fauna acuática y vida de los pobladores locales. Tabla N°1

El río Mantaro nace en laguna de **Chinchaycocha** de la provincia y departamento de Junín, atraviesa el territorio de Junín formando el Valle del Mantaro.

La Cuenca del Río Mantaro, tiene su origen en el Nudo de Pasco, en la Laguna Junín o **Chinchaycocha**, la laguna Acacocha, con el nombre de río San Juan, recibiendo además las aguas de las lagunas Acacocha, Punrún, Chinchaycocha y Huarón, entre las Cadenas Central y Occidental de los Andes Centrales.⁽¹⁾

El lago **Chinchaycocha** se encuentra en un estado eutrófico, donde aparecen grandes cantidades de materia orgánica, ello como resultado de vertidos agrícolas, urbanos e industriales, provenientes de las actividades antrópicas de las comunidades aledañas al lago.

Existen problemas de eutrofización y por ello se han realizado monitoreos de calidad de la columna de agua, para lo cual se han implementado estaciones de

control. Los distintos niveles de profundidad, en los cuales se está evaluando el oxígeno disuelto, fosfatos, nitratos, pH, conductividad y DBO.

Así mismo, el lago Chinchaycocha recibe descargas de nutrientes asociadas a escorrentías terrestres, residuos domésticos y residuos de los ganados, como a pesticidas de las actividades de lavado del ganado. Los impactos ambientales potenciales, asociados a la alteración de la calidad del agua y sedimentaria son:

- Cargas de partículas disueltas y coloidales de metales pesados que ingresan al lago Chinchaycocha a través del río San Juan.
- Cargas de derivados de nitrato y de amonio que ingresan al lago Chinchaycocha a través del río San Juan.
- Cargas transportadas por el viento de material rico en metales provenientes de los depósitos cercanos al lago Chinchaycocha.
- Efluvios de nutrientes asociados a los desechos de los animales que se incorporan al sistema del lago de acuerdo al embalse anual y al ciclo de llenado de la cuenca.
- Cargas de nutrientes asociadas con las descargas domésticas de los pueblos aledaños y aquellas asociadas a escorrentías terrestres de los terrenos agrícolas.
- Actividades de lavado del ganado con pesticidas organofosforados y órgano clorados.

El proceso de eutrofización se manifiesta generalmente en una intensa proliferación y acumulación de micro algas, lo que provoca una disminución de la transparencia y cambios en la coloración del agua, así como la disminución de la concentración de oxígeno en el sedimento y la generación de malos olores producto de la descomposición anaeróbica de la materia orgánica. ⁽²⁾⁽³⁾ A pesar que el lago Chinchaycocha esté pasando por un proceso de eutrofización, es importante resaltar que todo ecosistema tiende a un equilibrio, siempre y cuando los contaminantes cesen de ser vertidos constantemente y se e evalué la calidad microbiológica. Tabla N° 2, Fig. N°1.

Evaluación del Estado Trófico del Lago Chinchaycocha:

De acuerdo con Vallentyne (1978), ⁽⁴⁾ de todos los elementos necesarios para el crecimiento de algas, el nitrógeno (N) y el fósforo (P) son los que generalmente

presentan los mayores valores de la relación demanda/suministro; es decir, que su disponibilidad en el ambiente es menor que la demanda que hay de ellos, de tal manera que se consideran los elementos limitantes principales del crecimiento algas. Por su parte, Harris (1986)⁽⁵⁾ menciona que el promedio de la relación N y P en muestras de zooplancton y fitoplancton es de 16N a 1P, mientras que Di Martino (1989)⁽⁶⁾ considera las proporciones 9N a 1P. Para la evaluación primaria del estado trófico se emplearán gráficas de concentraciones de N y P adimensionales, las que representan la desviación de las proporciones atómicas de referencia (9N: 1P) con respecto a las concentraciones medidas en el embalse.

En nuestro país no hay estudios acerca de la diversidad de protozoarios en suelo y cuerpos de agua en zonas alto andinas. Los pocos estudios tienen serias limitaciones debido a la falta de tecnología y laboratorios especializados así como personal especializado en esta área de la ciencia microbiana. En este estudio, pretendemos demostrar la presencia de amebas de vida libre en lagunas alto andinas, considerando a la Laguna de Chinchaycocha una laguna contaminada con relaves mineros y en proceso de eutrofización, queremos establecer la diversidad amebiana de la zona y la tipificación morfológica y si es posible a nivel molecular.

1.2. Formulación del Problema:

1.2.1. Problema General:

¿Qué géneros de amebas de vida libre existen en la laguna Chinchaycocha - Junín a 4,140 msnm, contaminada con relieves mineros?

1.2.2. Problemas Específicos:

¿Existen nuevas especies de amebas de vida libre en la laguna Chinchaycocha- Junín a 4,140 msnm, contaminada con relieves mineros?

¿Cuáles son las características físico-químicas del cuerpo de agua de la laguna Chinchaycocha- Junín a 4,140 msnm, contaminada con relieves mineros?

1.3. Objetivos:

1.3.1. Objetivo General:

Determinar los géneros de amebas de vida libre que existen en la laguna Chinchaycocha - Junín a 4,140 msnm, contaminada con relieves mineros.

1.3.2. Objetivos Específicos:

Identificar nuevas especies de amebas de vida libre en la laguna Chinchaycocha- Junín a 4,140 msnm, contaminada con relieves mineros.

Determinar las características físico-químicas del cuerpo de agua de la laguna Chinchaycocha- Junín a 4,140 msnm, contaminada con relieves mineros.

1.4. Justificación:

El presente trabajo de investigación se basa en conocer la diversidad de amebas de vida libre en los cuerpos de agua de la laguna de Chinchaycocha. Debido principalmente, a que no se conoce la presencia de amebas de vida libre ni de la diversidad de especies que habitan en los cuerpos de agua de las tierras altas de Perú.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Bases Teóricas:

Los protozoarios son organismos eucarióticos unicelulares descritos por primera vez por Antonie Van Leeuwenhoek (1632-1723), quien desarrollo un primitivo microscopio y denomino a este grupo de microorganismos: " animáculo o pequeños animales".

Su tamaño puede oscilar desde 2µm y hasta más de 600 µm (algunos sarcodinos). Corliss (1973) ⁽⁷⁾ atribuye su amplia distribución geográfica a su tremenda capacidad de adaptación a las diferentes condiciones ambientales. Los protozoarios son organismos unicelulares eucarióticos, con uno o más núcleos, son de tamaño variable, de 2mm a 100mm. Por su forma, pueden ser esféricos, ovoides, de simetría bilateral o polimorfa, como las amebas en estadio de trofozoíto, que no tienen forma consistente debido a su citoplasma en movimiento constante. ⁽⁸⁾

Los protozoarios presentan estructuras de locomoción como, flagelos, cilios, pseudópodos y membrana ondulante. Pueden presentar estadio de quiste, que es su forma de resistir las condiciones adversas. ^{(9) (10)}

¿Qué son los protozoos? Los protozoos son eucariotas unicelulares o colonias, incluyendo todos los heterótrofos y móviles. Se trata de un taxón de conveniencia. Aunque los protozoos se considerarán como un único filo de animales eucariotas en las primeras clasificaciones, los tratamientos modernos basados en biología molecular muestran que se distribuyen los protozoos entre muchos **Phyla**. Esto refleja la inmensa diversidad de este conjunto, y que las diferencias entre estos organismos unicelulares son tan profundas como las que separan la phyla de los vegetales y animales. Cavalier-Smith recomienda un reino de protozoos con 13 filos.

La reproducción en los protozoarios puede ser asexual y sexual. La primera es la más simple y se produce por fisión binaria longitudinal (*Trypanosoma*) o transversal (*Balantidium*), tras división del núcleo por mitosis, amitosis o formas intermedias. La reproducción sexual comporta la unión o singamia de dos gametos, masculina y femenina; existen diversas formas de singamia. Los dos

gametos pueden ser iguales (isogamia) o no (anisogamia). Las fases sexuadas y asexuadas del ciclo de un protozoario pueden tener lugar en un huésped o en varios.

Los protozoarios están divididos en siete Phylum: Sarcomastigophora, Apicomplexa, Ciliophora, Microspora, Labyrinthomorpha, Ascetospora y Myxospora, siendo los cuatro primeros de importancia en la parasitología humana. (11)

Las Amebas se caracterizan porque se mueven por medio de prolongaciones citoplasmáticas (pseudópodos), que se proyectan y retraen en respuesta de estímulos externos. Los parásitos comensales obtienen beneficios del huésped que aloja proporcionándoles alimento, y permitiéndoles reproducirse, pero no perjudican ni ayudan al huésped. Las amebas de vida libre son parásitos facultativos, o sea que no necesitan para vivir la presencia obligada de un huésped. Se las encuentra distribuidas por todo el mundo y en su forma libre habitan en aguas dulces, salobres, termales y de mar.

Las amebas de vida libre se pueden encontrar básicamente en tres elementos fundamentales: el suelo, el agua y las condiciones geográficas climáticas.

El primer estudio de amebas de vida libre en zonas frías fue en 1967 por Dillon RD, ⁽¹²⁾ en el cual, el recuento total de especies de los Protozoos, principalmente; ciliados,⁽¹²⁾ 15 años después Brown et al., 1982⁽¹³⁾ describe en la costa este de la Antártica entre el paralelo 77 y 78°S, la presencia 22/70 muestras cultivadas, amebas de vida libre las que crecieron a 30°C. Ninguna de las *Acanthamoeba* o *Naeglerias* aisladas fueron patógenas al modelo de ratón.

Protozoos “Amebas de vida libre” de interés clínico

Las infecciones producidas por amebas de vida libre son raras. Estos microorganismos están incluidos en cuatro géneros: *Acanthamoeba* sp., *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris* y *Sappinia*. En todos los casos, la infección se debe al contacto con suelos o agua contaminada por estos protozoos. Como es habitual en las infecciones parasitarias, las manifestaciones de la infección dependen del estado de inmunocompetencia del hospedador. Así las amebas patógenas de este grupo (excepto *Naegleria fowleri*) ocasionan en el paciente inmunodeprimido encefalitis, con peculiaridades dependiendo del

género implicado (afectación cutánea o sinusal, presencia o no de granulomas). En el paciente inmunocompetente, los dos cuadros clínicos más característicos son la queratitis asociada a lentes de contacto (por *Acanthamoeba sp.*) y la meningoencefalitis amebiana primaria por *Naegleria fowleri* (en buceadores).⁽¹⁴⁾ (Figura N°2)

No se ha demostrado que las amebas aisladas de ambientes fríos como el ártico o la Antártida, o de origen glaciario sean patógenas o potencialmente patógenas a humanos.

2.2. Antecedentes:

2.2.1. Antecedentes Internacionales:

El agua contenida en los lagos, está sometida en mayor o menor grado de contaminación por lo tanto las poblaciones bacterianas difieren en su número y calidad, según la procedencia del agua, su composición de elementos nutritivos y las condiciones biológicas, climatológicas y geográficas. Convirtiéndose en muchas ocasiones en un riesgo para la salud humana, como es el caso de los agentes patógenos transmitidos por el agua, que constituyen un problema de salud mundial (Roldan, 2008).⁽¹⁵⁾

Los estudios acerca de amebas vida libre en tierras altas del planeta son muy escasos. Solo existen contados estudios que muestran que estas amebas son capaces de mantenerse en los climas más fríos y por tiempo extremadamente largos. (Reyes-Batlle 2015)⁽¹⁶⁾

Muy recientemente la tesis de doctorado de Stefan Geisen PhD, ha publicado algunos trabajos sobre el aislamiento de nuevas taxas en zonas montañosas del Tíbet (>4100 msnm), hallando nuevas especies de amebas. Berney et al, 2015⁽¹⁷⁾ aislaron y secuenciaron cuatro cepas, uno perteneciente a *Flamella*, uno relacionado con *Telaepolella tubasferens*, y dos miembros del linaje de cavosteliid protostelolidos. Geisen et al, 2015⁽¹⁸⁾ identificó siete cepas de amebas aisladas del suelo del Tíbet (en la altura (>4100 msnm), Cerdeña y los Países Bajos, todos se asemeja a una similar morfoespecie *Heterolobosea*.⁽¹⁹⁾ Este estudio pretende establecer como primer objetivo determinar la presencia y diversidad biológica de amebas de vida libre. Además, se desea determinar si la

contaminación por residuos mineros genera alguna predominancia de amebas de vida libre en la laguna de Chinchaycocha.

2.2.2. Antecedentes Nacionales:

No se dispone de información referida a la diversidad de amebas de vida libre en zonas del altiplano peruano. Tampoco se dispone de información referente a la calidad microbiológica de los suelos del altiplano peruano, y si esta existe, son simplemente documentos técnicos que no están accesibles.

Los protistas poseen un repertorio de mecanismos que les permite adaptarse a los cambiantes climas del planeta. En relación a la temperatura, pH, presión osmótica del suelo, poseen un rango muy amplio de acción, por ejemplo de 0°C a 50°C, esto implica un amplio rango. Los protozoarios generalmente encontrados en los suelos cultivables incluyen flagelados, ciliados y amebas desnudas. La biomasa de protozoarios es estimada en alrededor de 2 gr/m².⁽²⁰⁾ Esta densidad parasitaria podría ser adecuada a nivel del mar pero, desconocemos la real densidad en las lagunas alto-andinas y ello dependerá de las condiciones climáticas.

Algunos protozoarios como las amebas de vida libre constituyen un grupo de microorganismos importantes que regulan el número de las comunidades bacterianas en el medio ambiente, además regulan el orden establecido sobre los elementos químicos útiles en el suelo como P, N, C, O, y urea. Sin embargo el completo y complejo mecanismo de regulación y sus distintos sistemas metabólicos aún no se conoce por completo, pero si se ha establecido que los cambios climáticos pueden generar cambios importantes en la biomasa de amebas de vida libre y otros protistas.^{(21) (22)}

En los andes de Perú, no hay datos sobre la distribución de protistas en general, ningún estudio se ha llevado a cabo para establecer la presencia y diversidad de amebas de vida libre en suelos montañosos o lagunas alto-andinas.

Carecemos de estudio microbiológicos acerca de la diversidad de bacterias residentes, bacterias predominantes y componentes bacteriano, parasitario en los nichos ecológicos de estas partes del país.

Por otro lado, las mineras han devastado los ecosistemas naturales en los andes centrales, provocando un alto grado de contaminación por residuos mineros. En

estos ambientes por ejemplo, se ha demostrado la contaminación en la laguna de Chinchaycocha la que posee al menos 3 afluentes y estos también están altamente contaminados con metales pesados. ⁽²³⁾

EL 2009 OSINERGMIN publicó un informe en el cual expresaba los objetivos de su actividad. El objetivo es determinar el grado de cumplimiento de las acciones de remediación de los pasivos de origen minero en el río San Juan, Delta Upamayo y parte Norte del Lago Chinchaycocha, por parte de las Empresas Mineras. Este informe detallaba los análisis en varias partes de los afluentes y el mismo lago. ⁽²⁵⁾

- En las muestras de los Sedimentos 1, 2, 3, 4, 6, 7 y 8; las concentraciones de Plomo exceden los máximos recomendados para evitar los efectos biológicos adversos (AET-H).
- En la muestra del Sedimento 4; la concentración de cobre excede los máximos recomendados para evitar los efectos biológicos adversos.
- En las muestras Sedimentos 1, 2, 3, 4, 6, 7 y 8; las concentraciones de zinc exceden los máximos recomendados para evitar los efectos biológicos adversos (AET-H)
- En las muestras de Sedimentos 1 y 4; las concentraciones de arsénico exceden los máximos recomendados para evitar los efectos biológicos adversos (AET-H)
- En las muestras de Sedimentos 1, 2, 3, 4, 6 y 7; las concentraciones de cadmio exceden los máximos recomendados para evitar los efectos biológicos adversos (AET-H)
- En las muestras de 1, 2, 3, 4, 6,7 y 8; las concentraciones de plata exceden los máximos recomendados para evitar los efectos biológicos adversos (AET-H)

Nada se ha hecho en los últimos 50 años para evitar la contaminación de los lagos en nuestro país, además de reaccionar muy tarde en cuanto a contaminación por relaves y residuos mineros en las zonas alto andinas. Este es el caso de la laguna Chinchaycocha.

Sin embargo, si hay alguna información disponible respecto a la presencia de amebas de vida libre en cuerpos de agua en la costa del Perú (Beltran M., et al

1997)⁽²⁵⁾, principalmente algunas piscinas y fuentes de agua. Además, existe una interesante casuística de casos clínicos en la costa de nuestro país. Esta al menos si podremos mencionarla con algunos detalles muy importantes. Beltrán M., et al 1997⁽²⁵⁾, analizaron algunas muestras de piscinas y otras fuentes de agua en Lima-Perú. Obtuvieron 68 muestras de agua, de las cuales 34 fueron de piscinas, 3 de zonas del río Rímac y 7 de lagunas; las muestras se tomaron en frascos estériles en horas de la mañana (en las piscinas se muestreo de fondo y superficie), en el laboratorio fue medido el pH que fluctuó entre 3 y 7. El estudio morfológico y citológico de las AVL se hizo mediante la Clasificación según Page. El 40,9% de las muestras fueron positivas a AVL y de ellas 34,1% fueron de piscinas, predominando las de tamaño mediano con 22,7% y 6,8% correspondiendo al río y 15,9% a lagunas. Los géneros encontrados fueron *Acanthamoeba*, *Hartmannella* y *Vahlkampfia*, Suarez R et al 2002,⁽²⁶⁾ reporta el hallazgo de *Naegleria sp.* en el pantano de Villa. Garaycochea et al., 2008⁽²⁷⁾ describió el hallazgo de 26 cepas de AVL de siete géneros (*Hartmannella*, *Acanthamoeba*, *Mayorella*, *Naegleria*, *Vahlkampfia*, *Vannella* y *Saccamoeba*), *Acanthamoeba* fue la más frecuente (44,2%). Respecto a los casos clínicos, en Lima 1957, se publica el primer caso de abscesos amebianos cerebrales y meningoencefalitis sin compromiso hepático ni pulmonar. Entre los años de 1974 a 1978 Takano J. et al.⁽²⁸⁾ reportan cuatro casos de meningoencefalitis por *Acanthamoeba* en jóvenes procedentes de Piura y Trujillo (costa norte del Perú). Takano J. 1976, Arce y Asato 1979, Narváez J 1996, Galarza C. 2006,⁽²⁸⁾⁽²⁹⁾ reportan casos de encefalitis por *Acanthamoeba*. Sus reportes están basados en estudio de anatomía patológica y según los reportes las características cutáneas muestran ser acorde con *Acanthamoeba*. Sin embargo, no hay evidencia molecular que apoye que haya sido *Acanthamoeba*, además morfológicamente son indistinguibles *Acanthamoeba* de *Balamuthia* en tejido infectado.⁽³²⁾ (Figura N°3)

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Diseño del Estudio:

Estudio Descriptivo, trasversal

3.2. Población:

El lago Junín o también llamado Chinchaycocha, es el segundo lago más grande del país y el más alto. Geográficamente se halla entre las siguientes coordenadas: Coordenadas UTM Latitud: -11.0333 y Longitud: -76.1.

El lago tiene una profundidad máxima de 12 a 15m (Frente a localidad de Huayre). El lago presenta una fuerte contaminación por relaves mineros, en la parte noroeste. La descomposición de vegetación sumergida y la descarga de aguas servidas de los poblados de Junín, Carhuamayo, Ondores, Huayre, Vicco y Ninacaca, disminuyen la cantidad de oxígeno disuelto y adicionan fósforo, el nitrógeno amoniacal también ha aumentado por la materia orgánica que se descompone en el fondo. El lago Chinchaycocha es un cuerpo de agua en proceso de envejecimiento (eutrofización) y en esta situación cualquier adición de compuestos nitrogenados acelera este proceso.

3.3. Muestra:

Para la realización del estudio se tomaron 200 ml de agua y suelo de la laguna la cual se dividió en once partes, cinco del extremo de la laguna y seis del centro de la laguna.

3.3. Operacionalización de Variables:

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICION	FORMA DE REGISTRO
PRINCIPAL:		Microscopio	Binaria	Presencia

Amebas de vida libre	Organismos unicelulares			Ausencia
SECUNDARIAS: Tipos de Amebas de vida libre	Organismos unicelulares	Microscopio	Nominal	Naegleria Acanthamoeba Balamuthia Hartmannella Leptomyxa
pH	Medición de acidez o alcalinidad de una disolución.	Tira reactiva	Continua	> 4,5 ≤ 4.5
Temperatura (aire y suelo)	Es la medida de la energía térmica de una sustancia.	Macroscópica	Continua	0 - 25 25 - 32
Turbidez	Describe la claridad u opacidad del líquido	Macroscópica	Binaria	Presencia Ausencia

3.4. Procedimientos y Técnicas:

Se obtuvieron 11 muestras de agua y suelo de la laguna de Chinchaycocha en frascos estériles, las muestras fueron obtenidas por la mañana, en el lugar de muestreo se anotó la temperatura y en el laboratorio se midió la cantidad y el ph. Se realizó el análisis microscópico con la aplicación de los métodos: directo y concentración por centrifugación, e inoculación en medios de cultivo, se cultivó

a 37 °C durante 5 días, realizando la lectura visualizando al microscopio, se volvió a incubar por 12 días, realizando la segunda lectura, las placas con crecimiento se replicaron y las demás siguieron en incubación durante 20, 40 y 60 días.

PREPARACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO:

A. REACTIVOS:

- Agar
- Cloruro de sodio
- Sulfato de magnesio ($MgSO_4, 7H_2O$)
- Cloruro de calcio ($CaCl_2, 2H_2O$)
- Fosfato de sodio dibasico (Na_2PO_4)
- Fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4)

B. PREPARACION DE REACTIVOS:

Solución fisiológica de Page:

1. Disolver 120mg de cloruro de sodio, 4mg de sulfato de magnesio, 4mg de cloruro de calcio, 142 mg de fosfato de sodio dibasico y 136 mg de fosfato de potásico monobásico en una pequeña cantidad de agua destilada y agregar agua destilada para llevar el volumen total a 1000 ml.
2. Colocar la solución en autoclave a una presión de 1.05 Kg/cm² y 121 °C durante 15 minutos para esterilizarla.
3. Refrigerar la solución, se puede usar durante 6 meses.

C. PREPARACION DE PLACAS

1. Disolver 1.5 g de agar en 100 ml de solución fisiológica de Page mediante calentamiento y llevar a autoclave a una presión de 1.05 Kg/cm² y a 121 °C durante 15 minutos para esterilizarla.
2. Enfriar el medio a 60 °C y, en forma aséptica, verterlo en placas de Petri plásticas. Si se usan placas de 100 x 15 mm verter 20 ml ; si se usan placas de 16 x 15 mm, verter 5 ml.

3. Una vez que el agar gelifica, almacenar las placas en el refrigerador a 4 °C.
4. Cuando se van a usar las placas, retirarlas del refrigerador y colocarlas en la estufa a 37 °C durante 30 minutos.
5. Agregar 0.5 ml de solución fisiológica de Page a un cultivo inclinado de 18 a 24 horas, de *Escherichia coli*. Con una asa bacteriológica raspar delicadamente la superficie del cultivo inclinado sin romper la superficie del agar.
6. Agregar de 2 a 3 gotas de esta suspensión en el medio de la placa de agar; extender la suspensión sobre la superficie del agar con una asa bacteriológica.

D. INOCULACIÓN DE LAS PLACAS

Centrifugar el agua en tubos 12 x 75 mm en forma aséptica, eliminar con pipeta todo el sobrenadante y dejar solo 0.5 ml, mezclar el sedimento, tomar dos gotas sobre el agar extenderla con la asa de siembra e incubar a 37°C.

E. LECTURA DE LAS PLACAS

Examinar las placas al 5^{to} y 12^{vo} día con el objetivo 10x del microscopio, seguir la lectura a los 20, 40, 50 y 60 días.

F. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE AMEBAS DE VIDA LIBRE:

Identificar a las amebas por morfología, tamaño de trofozoito y quiste basándose en el atlas de amebas de vida libre "A New Key to Freshwater and Soil Gymnamoebae" y los trabajos de Alexey Smirnov de San Petersburgo- Rusia.

3.5. Plan de Análisis de Datos:

Para el presente estudio de investigación se utilizara el Sistema Informático SPSS versión 2.0 en español, en el cual se ingresarán los datos productos de la investigación y las diferentes variables. Se utilizará los siguientes estadígrafos:

análisis de doble entrada, correlación de Pearson y test de covarianza. Además de otros análisis estadísticos.

El análisis muestra que se aplicara será el de Morisita (1962) que desarrolló un índice de dispersión con la fórmula siguiente:

$$I_d = n \left[\frac{\sum x^2 - \sum x}{(\sum x)^2 - \sum x} \right]$$

I_d = Índice de dispersión

n = Tamaño de la muestra

X = Suma de los conteos de cuadrantes = $x_1 + x_2 + x_3 + \dots$

X^2 = Suma de los recuentos de cuadrantes al cuadrado $x_1^2 + x_2^2 + x_3^2 + \dots$

La fórmula original de Sorensen será aplicado para la presencia/ausencia de datos, y está definida de la siguiente forma:

$$QS = \frac{2C}{A + B}$$

QS = es el cociente de similitud y varía de 0 a 1

A y B = son el número de especies en las muestras

C = es el número de especies compartidas por las dos muestras

No es posible aplicar el estudio estadístico mencionado debido a que los hallazgos son descriptivos y el bajo nivel de aislamiento en las muestras de agua.

CAPITULO IV: DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados

De las 11 muestras de agua y suelo de la laguna, el ph fluctuó de 3 a 7 predominando 5.5 a 6.5. Donde hubo crecimiento en cuatro muestras, encontrando los géneros de *Acanthamoeba*/*Leptomyxa* y una no identificada. Siendo el 36.4 % (4) de las muestras fueron positivas a AVL y el 63.6 % (7) fueron negativas a AVL.

Muestra	Temperatura ambiental	Fecha de siembra	Crecimiento	Cepa
L.J.1 Agua	5°C	06/05/16	Negativo
L.J.2 Agua	5°C	06/05/16	Negativo
L.J.3 Agua y suelo	5°C	06/05/16	Positivo (+)	<i>Acanthamoeba</i> <i>/Leptomyxa</i>
L.J.4 Agua y suelo	5°C	06/05/16	Positivo (+)	<i>Acanthamoeba</i>
L.J.5 Agua	5°C	06/05/16	Negativo	
L.J.6 Agua	5°C	06/05/16	Positivo (+)	<i>Acanthamoeba</i> <i>/ otras sp</i>
L.J.7 Agua	5°C	06/05/16	Negativo

L.J.8 Agua	5°C	06/05/16	Negativo
L.J.9 Agua	5°C	06/05/16	
L.J.10 Agua y suelo	5°C	06/05/16	Positivo (+)	<i>Acanthamoeba</i> <i>/ Leptomyxa</i>
L.J.11 Agua y suelo	5°C	06/05/16	Negativo

Tabla N°1 Resultado del cultivo de agua y suelo

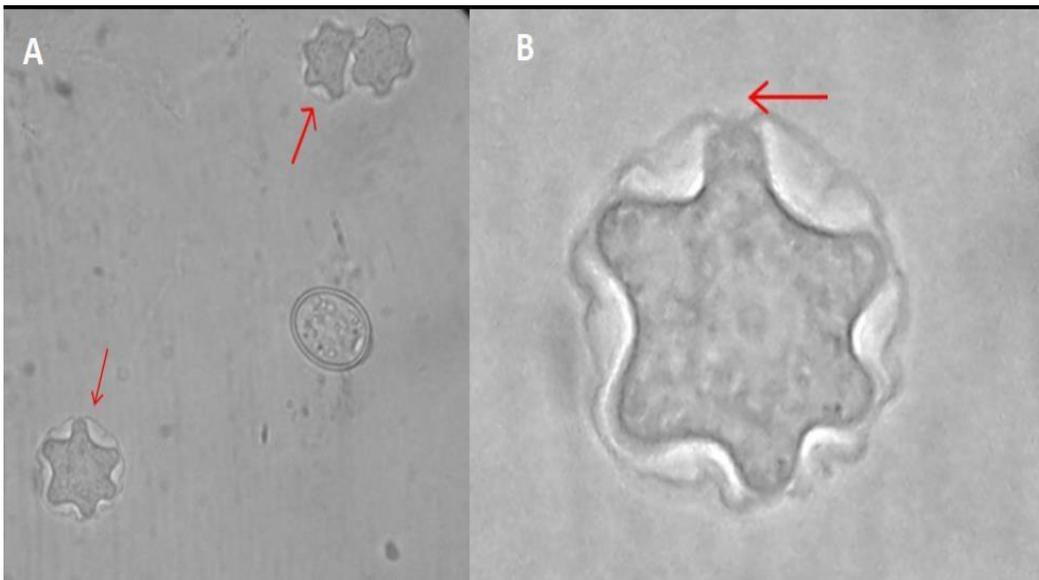
Descripción de las cepas aisladas y clonadas:

- LJ-1: Negativo
- LJ-2: Negativo
- LJ-3: Positivo; Acanthamoeba, Leptomyxa sp.
- LJ-4 Positivo; Acanthamoeba,
- LJ-5 Negativo
- LJ-6 Positivo; Acanthamoeba / otras sp
- LJ-7 Negativo
- LJ-8 Negativo
- LJ-9 Negativo
- LJ-10 Positivo; Acanthamoeba, Leptomyxa
- LJ-11 Negativo

Imágenes de las cepas:

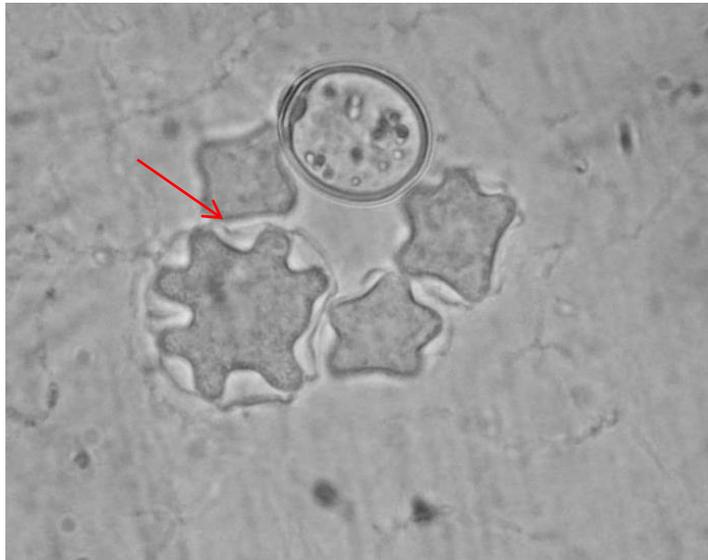
1. LJ-3 *Acanthamoeba* sp.

Se observó el crecimiento de trofozoítos de aproximadamente 24-26 micras y los quistes poligonales característicos del genero *Acanthamoeba*, alrededor de 18 micras.

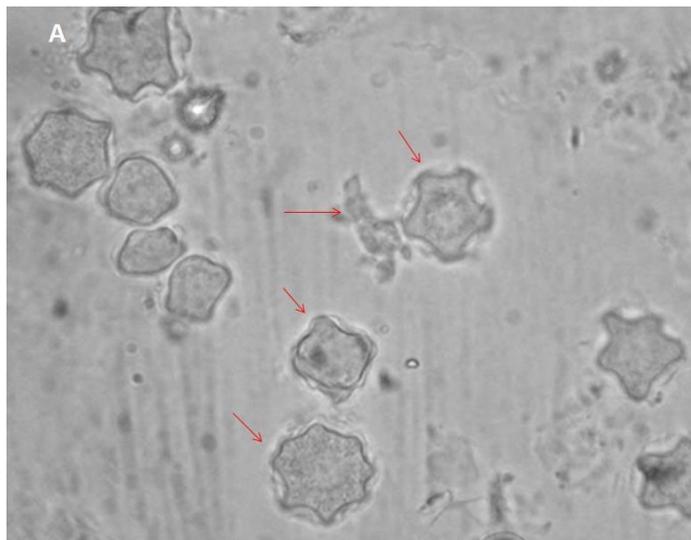


2. LJ-4 Positivo; Acanthamoeba sp.

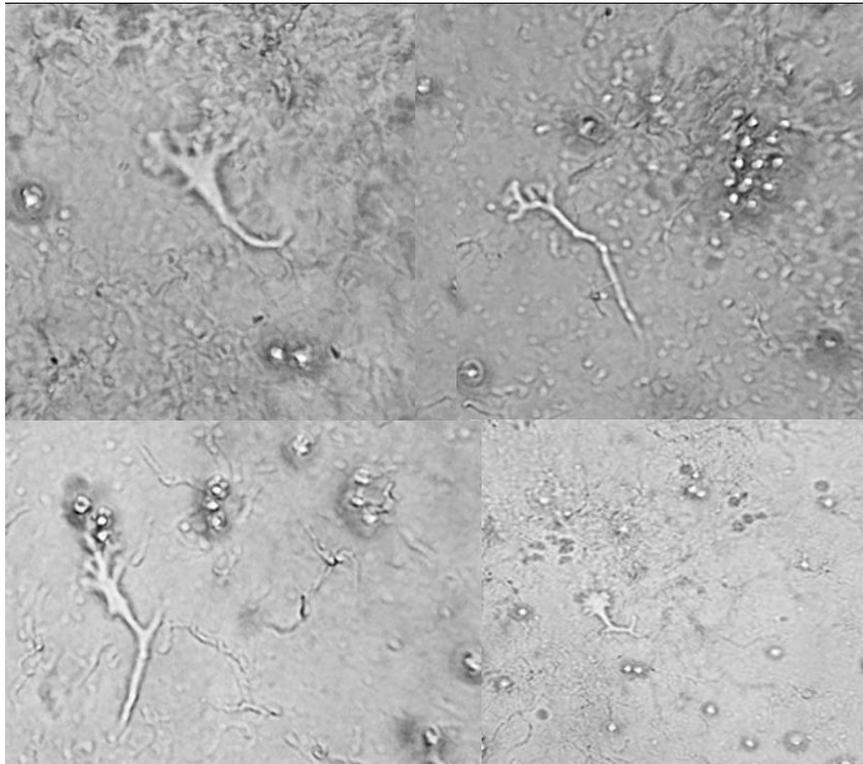
Algunos quistes, parecen ser de otra especie/ genotipo, puede reconocerse por el número de brazos en el quiste, obsérvese la estructura de los quistes.



3. LJ- 10; Se observa quistes de Acanthamoeba sp. Amebas típicas con quiste estrellado.



También observe *Leptomyxas*: Estructuras reticuladas, grandes y con muchos pseudópodos, principalmente en la parte anterior de la ameba. Los trofozoítos aparecen a los 35- 40 días. Las amebas del tipo *Leptomyxa sp.*, de más 100µm de largo y solo unas 15-17 µm de ancho, aunque eso dependerá del estado morfológico de la leptomyxa.



Actualmente, estamos conservando todas las cepas halladas, para su posterior estudio bioquímico de zimogramas y estudio con análisis molecular.

4.2. Discusión

El presente estudio fue realizado con 11 muestras de agua y suelo de la laguna Chinchaycocha contaminados con relaves mineros, demostrando la presencia de amebas de vida libre, resultando 4 muestras positivas, identificando 2 géneros *Acanthamoeba sp.* *Leptomyxa* y una ameba no identificada.

En el estudio realizado por la Lic. Anco, resultaron 8 muestras positivas, lo cual representa el 11.4% de prevalencia, identificando 2 géneros *Acanthamoeba Sp.* y *Letomyxas Sp.*

En el estudio realizado por Beltran en el departamento de Lima, resultaron el 40,9% positivas a AVL, identificando cuatro generos de amebas; Naegleria, Acanthamoeba, Hartmannella y Vahlkampfia.

4.3. Conclusiones

- A pesar de la contaminación por relave minero y metales pesados, existen amebas de vida libre en la laguna de Chinchaycocha,
- La presencia de Leptomyxa a 4100 msnm es una novedad en la región latinoamericana, esta ameba de vida libre es muy poco estudiada.
- Son importante los nuevos hallazgos para esta región debido a que nunca se ha estudiado la flora microbiana parasitaria, específicamente protozoarios de vida libre.

4.4. Recomendaciones

- Se recomienda a las autoridades de Junín elaborar y difundir volantes, sobre la existencia de las amebas, para que las personas no entren a la laguna o utilicen para el consumo el agua.
- Se recomienda seguir con estudios de investigación de nuevas especies en diferentes lagos y ríos del Perú.
- Se recomienda realizar estudios moleculares para establecer el genotipo de las Acanthamoeba.
- Se recomienda establecer los ensayos de patogenicidad.
- Publicar estudios al respecto con análisis genético sobre todo de diversidad genómica.

Discusión del Relave minero

A. Descripción del ambiente climático de la zona en estudio.

La Reserva Nacional de Junín está ubicada en los Andes centrales del Perú. Abarca el lago Junín (**Lago Chinchaycocha**), el segundo en tamaño del país, y sus territorios adyacentes, con una extensión de 53,000 hectáreas. El lago, al desaguar hacia el noroeste da origen al río Mantaro, que constituye uno de los principales tributarios andinos de la cuenca amazónica. El lago conforma un sistema hidrográfico importante, alimentado por 12 ríos y 20 arroyos. En Junín convergen las cordilleras Oriental, Central y Occidental, originando al norte el Nudo de Pasco. La extensa llanura formada se conoce como meseta de Bombón.
(39)

B. Ubicación, extensión y límites

El lago se sitúa en el extremo noroeste de la Pampa de Junín, entre las coordenadas geográficas 10°50'50" S - 75°59'25" O. y 11°09'55" S - 76°15'40" o UTM 8800000-360000 y 8760000-400000. El rango de altitud en la Reserva Nacional es de 4080 a 4125 metros sobre el nivel del mar. (39)

C. Geología y Geomorfología

El origen de la meseta o planicie se remonta a las últimas glaciaciones (durante el Pleistoceno 12 000 a 15 000 años atrás).

D. Edafología

Los principales suelos de la Reserva Nacional de Junín son: Histosoles éutricos que son suelos desarrollados a partir de sedimentos lacustres, con una topografía casi a nivel, pendiente de 0 a 2% y condiciones hidrófilas permanentes. Los phaeozems, suelos desarrollados a partir de materiales provenientes de la descomposición de areniscas, cuarcitas, excepcionalmente

calizas y lutitas. Los litosoles éutricos, suelos desarrollados sobre calizas, lutitas y areniscas calcáreas, materiales volcánicos e intrusivos.

E. Clima

El clima de la región corresponde al piso inferior de la Puna, donde la temperatura oscila entre los 3 y 7 grados centígrados, encontrándose los meses más fríos entre mayo y setiembre. Anualmente llueve un promedio de 940 mm, siendo los meses de diciembre a abril los más lluviosos y los meses de junio a setiembre los que presentan un volumen mínimo de lluvias.

Hidrografía:

a) La cuenca

En el Perú, en la vertiente del Atlántico, la cuenca del río Mantaro es la que contiene el mayor número de lagunas, muchas de las cuales son lagunas mayores de 400 hectáreas. En esta cuenca está ubicado el lago Junín o Chinchaycocha, el segundo en extensión del Perú, sólo superado por el lago Titicaca. Por su variedad de paisajes, tamaño y biodiversidad, se convierte en un ambiente característico de esta provincia.

b) El lago

El lago Junín (Chinchaycocha) pertenece a la cuenca hidrográfica del río Mantaro. Este lago, al desaguar hacia el noroeste da origen a dicho río, el que toma inicialmente el nombre de Upamayo, constituyendo aguas abajo uno de los principales tributarios andinos de la cuenca amazónica.

El lago presenta una fuerte contaminación por relaves mineros en la parte noroeste. La descomposición de la vegetación sumergida y la descarga de aguas servidas de los poblados de Junín y Carhuamayo, disminuyen la cantidad de oxígeno disponible y adicionan fósforo. En el centro del lago, debido a la profundidad y mayor aereación, hay más oxígeno. El nitrógeno amoniacal también aumenta por la materia orgánica que se descompone en el fondo.

Este importante datos nos dice que los que suceda en cualquiera de sus puntos afecta al lago en su totalidad y también a la cuenca del Amazonas.

Desafortunadamente, en nuestro país, muy poco se hace respecto a la conservación de recursos de todo tipo, incluyendo los procariotas y eucariótica. La búsqueda de biodiversidad microbiana esta relegada al final de las prioridades del estado peruano, cuando podría ciertamente explotarse un recurso para la biotecnología. En este estudio hemos hecho un hallazgo importante, debido a que el lago Chinchaycocha está contaminado con relaves mineros desde más de 40 años sin que las autoridades hagan algo por ello.

Lo interesante de este estudio es hallar *Acanthamoeba sp* en un cuerpo de agua con altas concentraciones de metales pesados, además de *Leptomyxas sp* que crecen a las 4 semanas de cultivo.

No existe información al respecto sobre la presencia de amebas de vida libre en zonas alto-andinas en Sudamérica. Este es el primer estudio sobre diversidad amebiana a 4100 msnm en los andes de Perú.

Los únicos estudios respecto a la presencia de amebas de vida libre a más de 4000msnm han sido hechos por el grupo del Dr Stefan Geisen. Muy recientemente la tesis de doctorado de Stefan Geisen PhD, ha publicado algunos trabajos sobre el aislamiento de nuevas taxas en zonas montañosas del Tíbet (>4100 msnm), hallando nuevas especies de amebas.

Berney et al., 2015 ⁽⁴¹⁾ aislaron y secuenciaron cuatro cepas, uno perteneciente a *Flamella*, uno relacionado con *Telaepolella tubasferens*, y dos miembros del linaje de cavosteliid protostelolidos. Geisen et al, 2015 ⁽⁴²⁾ identifico siete cepas de amebas aisladas del suelo del Tíbet (en la altura (>4100 msnm), Cerdeña y los Países Bajos, todos se asemeja a una similar morfoespecie *Heterolobosea*.

Nosotros solo hemos encontrado algunas especies relacionadas a *Leptomyxas*, esto puede ser debido a la tecnología de contraste de fase y de fotografía en nuestro laboratorio.

A continuación se muestra una tabla sobre la contaminación de la laguna con metales pesados.

ESTACION DE MONITOREO	ESTACIONES DE MONITOREO			LGA- Clase VI ⁽¹⁾	ECA- Categoría 4. Lagunas y Lagos ⁽²⁾
	LAGO UPAMAYO 1	LAGO CHINCHAYCOCHA 1	DELTA UPAMAYO 2		
Ph	6.5	6.7	6.8	-	6,5 - 8,5
T (°C)	12.3	13.3	13.2	-	--
Conductividad Eléctrica (uS/cm)	306	313	547	-	
Caudal m ³ /día	--	--	--	-	--
Cianuro WAD (mg/L)	<0.005	<0.005	0.076	0.0005	--
STS (mg/L)	<5	7	69	-	≥25
Pb Total (mg/L)	0.01	0.01	0.03	0.03	0.001
Cu Total (mg/L)	0.012	0.012	0.145	-	0.02
Zn Total (mg/L)	0.067	0.076	0.455	-	0.03
As Total (mg/L)	<0.02	<0.02	<0.02	0.05	0.01
Cd Total (mg/L)	<0.003	<0.003	<0.003	0.004	0.004
Hg Total (mg/L)	<0.0005	<0.0005	<0.0005	0.0002	0.0001
Cr Total (mg/L)	<0.01	<0.01	<0.01	0.05	0.05
Ni Total (mg/L)	<0.002	<0.002	0.006	-	0.025
Se Total (mg/L)	<0.02	<0.02	<0.02	0.01	-
Fe Total (mg/L)	0.39	0.52	2.34	--	-
Ag Total (mg/L)	<0.005	<0.005	<0.005	-	-
Al Total (mg/L)	0.18	0.32	2.64	-	-
Ba Total (mg/L)	0.037	0.036	0.091	-	0.7
Be Total (mg/L)	<0.001	<0.001	<0.001	-	-
Ca Total (mg/L)	45.64	44.77	84.03	-	-
Ce Total (mg/L)	<0.05	<0.05	<0.05	-	-
Co Total (mg/L)	<0.005	<0.005	<0.005	-	-
K Total (mg/L)	1.12	1.14	2.16	-	-
Li Total (mg/L)	0.008	0.008	0.011	-	-
Mg Total (mg/L)	8.69	8.51	12.37	-	-
Mn Total (mg/L)	0.066	0.076	2.386	-	-
Mo Total (mg/L)	<0.01	<0.01	0.01	-	-
Na Total (mg/L)	5.06	4.93	7.49	-	-
P Total (mg/L)	<0.1	<0.1	<0.1	-	-
Sb Total (mg/L)	0.01	0.02	0.01	-	-
Sn Total (mg/L)	<0.03	<0.03	<0.03	-	-
Sr Total (mg/L)	0.224	0.219	0.438	-	-
Ti Total (mg/L)	<0.01	<0.01	0.04	-	-
Tl Total (mg/L)	<0.05	<0.05	<0.05	--	-
V Total (mg/L)	<0.005	<0.005	<0.005	--	--
SO4 (mg/L)	54	56	191	--	300
N-Freático m	--	--	--	--	--
Potencial Redox	-61	-58.6	-47	--	--
HCO3- Mg CaCO3/L	103	103	101	--	--

Tabla N°2: Resultado de los Metales

- 1) Clase VI: Aguas para riego de vegetales de consumo crudo y bebida de animales (debido a la presencia de níquel, únicamente para este parámetro se considera el valor límite de la clase V. Resolución Jefatural N°0291-2009-ANA
- 2) ECA: Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua. Categoría

- 3) Conservación del Ambiente Acuático. Lagunas y Lagos. D.S. N° 002-2008-MINAM
- 4) Food and Agriculture Organization (FAO). Rango de control de calidad para aguas de riego.
- 5) Brasil. Clasificación de los cuerpos de agua. Resolución CONAMA N° 357, 17 marzo 2005.

Cuerpos Receptores

- El punto de monitoreo del delta de Upamayo 2 no cumple con el valor límite para el Cianuro WAD de la R.J. ANA- Clase VI.
- El pH cumple con los límites referenciales (ECA- categoría 3, mientras que en el delta de Upamayo 2 el STS excede dichos límites referenciales.
- La concentración de sulfatos no excedió el límite referencial citado del ECA
- Categoría 4.
- El potencial REDOX es fuertemente reductor y la alcalinidad por bicarbonatos alta.

Estado Trófico (*)	Promedio Total Fósforo (*)	Resultados Promedio Fósforo (1)
Oligotrófico	0,008	0,14
Mesotrófico	0,0267	
Eutrófico	0,0844	
Hipertrófico	0,75-1,20	
(*) Fuente: FAO, Eutrofización de las Aguas Superficiales (1) Resultados de Cesel		

Tabla N° 3: Niveles Tróficos del Lago Chinchaycocha

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Memoria descriptiva del estudio hidrológico y de cuencas del departamento de Junín a escala 1:100000. (Revista en internet) 2012 (Consultado 02 de febrero 2016) 2(243). Disponible en :
[http://siar.regionjunin.gob.pe/sites/default/files/archivos/public/docs/medio_fisico - memoria descriptiva hidrologia.pdf](http://siar.regionjunin.gob.pe/sites/default/files/archivos/public/docs/medio_fisico_-_memoria_descriptiva_hidrologia.pdf)
2. Wetzel RG. Limnology Lake and River Ecosystems. Academic Press. 3ª ed. San Diego: Copyright; 1983.
3. Ryding S. Rast W. El control de la eutrofización en lagos y pantanos. 1ª ed. Argentina: Pirámide; 1992.
4. Vallentyne J. Introducción a la Limnología. 1ª ed. Zalapa: Omega; 1978.
5. Harris O. Phytoplankton Ecology Structure Function and Fluctuations. 1a ed. USA: Omega; 1986.
6. Di Martino Rigano V. Di Martino C. Vona V. Esposito S. and Rigano V. Evolutionary Pathways and enigmatic algae: *Cyanidium caldarium*. 1a ed. Japon: Konan University; 1989.
7. Corliss J.O. Protozoan ecology: a note on its current status. 2a ed. London: Amer Zool; 1973.
8. Saredi Nelida. Manual práctico de parasitología médica. 1ª ed. Buenos Aires: Editorial talleres Gráficos Alfa Beta; 2002.
9. A Guide. David J. Patterson. Protozoa of Marine Aquaculture Ponds. 1 a ed. USA: Saunders Compay; 2001.
10. William D. Taylor and Robert W. Sanders. Ecology and Classification of

North American Freshwater Invertebrates. 2a ed. American: Copyright; 2010.

11. Arcos P. Mireya Del Pilar. Ávila De Navia. Sara Lilia. Estupiñan Torres. Sandra Mónica. Gómez Prieto. Aura Cristina. Indicadores Microbiológicos De Contaminación De Las Fuentes De Agua. 2005; 3 Sup: 11.
12. Dillon R. D. The ecology of free-living and parasitic Protozoa of Antarctica. Antarctic Journal of the. 1a ed. U.S.A: Antarctic Journal; 1967.
13. Brown. Amoebae from Antarctic Soil and Water Applied and Environmental Microbiology. 1a ed. Antarctica: Omega; 1982.
14. Schuster FL. Visvesvara GS. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. 23 ed. China : Saunders; 2004.
15. Roldan G. Fundamentos de Limnología Neotropical. 2ª ed. Antioquia: Editorial Universidad de Antioquia; 2008.
16. Reyes Batlle M. Niyyati M. Martín Navarro C. López Arencibia A. Valladares B. Martínez Carretero E. Unusual Vermamoeba Vermiformis Strain Isolated from Snow in Mount Teide Novel Biomed. 1a ed. Canary Islans: Novelty in Biomedicine; 2015.
17. Berney C. Geisen S. Van Wichelen J. Nitsche F. Vanormelingen P. Bonkowski M. Bass D. Expansion of the 'Reticulosphere': Diversity of Novel Branching and Network-forming Amoebae Helps to Define Variosea (Amoebozoa). 1a ed. Copyright; 2015.
18. Geisen S. Weinert J. Kudryavtsev A. Glotova A. Bonkowski M. Smirnov A.

Two new species of the genus *Stenamoeba* (*Discosea*, *Longamoebia*): cytoplasmic MTOC is present in one more amoebae lineage. 1a ed. Europa: Protistol; 2014.

19. Geisen S. Bonkowski M. Zhang J. De Jonckheere JF. Heterogeneity in the genus *Allovalkampa* and the description of the new genus *Parafumarolamoeba*. 1a ed. Europa: Protistol; 2015.
20. Stout J.D. Heal O.W. Protozoa In Soil Biology. 1a ed. New York: Kluwer Academic; 1972.
21. Anderson O. R. Abundance of terrestrial gymnamoebae at a northeastern. 1a ed. USA: Four year study; 1997.
22. Anderson R. Bohlen P. Abundance and diversity of gymnamoebae associated with earthworm (*Lumbricus Terrestris*) middens in a northeastern. 1a ed. USA: Soil Biol Biochem; 1998.
23. Caro C. Quinteros Z. Mendoza V. Plan Maestro de La Reserva Nacional de Junín. Instituto Nacional de Recursos Naturales del Perú. 2000; 1 SUP: 1 – 8.
24. Osinergmin. Informe de supervisión especial participativa, sobre cumplimiento de acciones de remediación de los pasivos de origen minero en el rio san juan, delta upamayo y parte Norte del Lago Chinhaicocha (Revista de internet) 2009 (consultado 5 enero 2016); 001(56). Disponible en:

https://www.osinergmin.gob.pe/seccion/centro_documental/mineria/INFORMES/MONITOREOS-PARTICIPATIVOS/MP-08/2-MONITOREO_SANJUAN_MANTARO.pdf

25. Beltrán M. Uyema N. Amebas de vida libre en muestras de agua de piscinas del departamento de Lima. 1997; 14 SUP: 1 – 5.
26. Suarez R. Espinoza. Villanueva C. Ramos J. Huapaya P. Marquina R. Aislamiento de amebas de vida libre del género *Acanthamoeba* a partir de fuentes de agua en la ciudad de Ica. 2002; 63 SUP: 1 – 6.
27. Garaycochea MC. Beltrán M. Morón C. Patogenicidad de las amebas de vida libre aisladas de fuentes de agua en Lima. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2008; 25 SUP: 1 – 5.
28. Takano J. Cabrera J. Franco F.R. Martinot C. L. Meningoencefalitis amebiana primaria subaguda. México. 1976; 20 SUP: 1 – 7.
29. Arce VR y Asato HC. Encefalitis por *Acanthamoeba castellanii*. 1979; 20 SUP: 1 – 13.
30. Narváez J. Encefalitis amebiana primaria granulomatosa diagnóstico. 1996; 16 SUP: 1 – 5.
31. Galarza C. Gutiérrez E. Uribe M. Ramos W. Ortega A. Ávila J. Hanco J. Espinoza M. Ñavimcopa M. Gámez D. Amebas de vida libre en lesiones cutáneas. 2006; 16 SUP: 36 – 40.
32. Recavarren Arce S. Velarde C. Gotuzzo E. Cabrera J. Amoeba angeitic lesions of the central nervous system in *Balamuthia mandrillaris* amoebiasis. *Hum. Pathol.* 1ª ed. New York And London: Garland Science; 1999.
33. Campos P. Cabrera J. Gottuzo E. Guillén D. Compromiso neurológico en amibiasis de vida libre. 1999; 32 SUP: 1 – 7.

- 34.** Ballona R y Aquije M. Compromiso cutáneo en encefalitis granulomatosa amebiana fatal causada por *Balamuthia mandrillaris*. 1ª ed. Bogota: Edinburgh; 2003.
- 35.** Sánchez J. Casavilca S. Cuellar L. Klinge G. Mengoa C. Meningoencefalitis y osteomielitis por amebas de vida libre. 2004; 32 SUP: 1 - 7.
- 36.** Bravo G. *Balamuthia mandrillaris* amoebic encephalitis: an emerging parasitic infection. 1a ed. Bogota: Edinburgh; 2012.
- 37.** Bravo F. G. Alvarez P. J. Gotuzzo E. *Balamuthia mandrillaris* infection of the skin and central nervous system: an emerging disease of concern to many specialties in medicine. 2011
- 38.** Page FC. Nackte Rhizopoda. In: Nackte Rhizopoda und Heliozoa (Eds. Page F.C. and Siemensma. 1a ed. Bogota: Edinburgh; 1991
- 39.** Parks Watch. Perfil de area natural protegida peru. (Revista en internet) 2006 (consultado 09 Marzo 2016); 2 (39). Disponible en: www.parkswatch.org/parkprofiles/pdf/jnar_spa.pdf
- 40.** Berney C. Geisen S. Van Wichelen J. Nitsche F. Vanormelingen P. Bonkowski M. Bass D. Diversity of Novel Branching and Network-forming Amoebae Helps to Define Variosea (Amoebozoa). 1a ed. Copyright; 2015.

ANEXOS

País Sitios Ramsar Alto-andinos	Altitud (m)	Área
Lago Titicaca (sector peruano)	3810	460,000
Lago Junín	4080-4125	53,000
Laguna del Indio y Dique de los Españoles	4440	502
Bofedales y Laguna de Salinas	4300	17,657

Tabla N°4: Lagunas alto-andinos de Perú

Laguna	Área (Has)	Caudal (lt/s)	Altitud (m.s.n.m)	Coordenada		Uso
Chinchaycocha	27,200	8,460	4,140	(E) 0360057	(S) 8792250	Energético

Tabla N°5: Características de la Subcuenca



Fig.N°1: Imagen satelital con Google Earth.

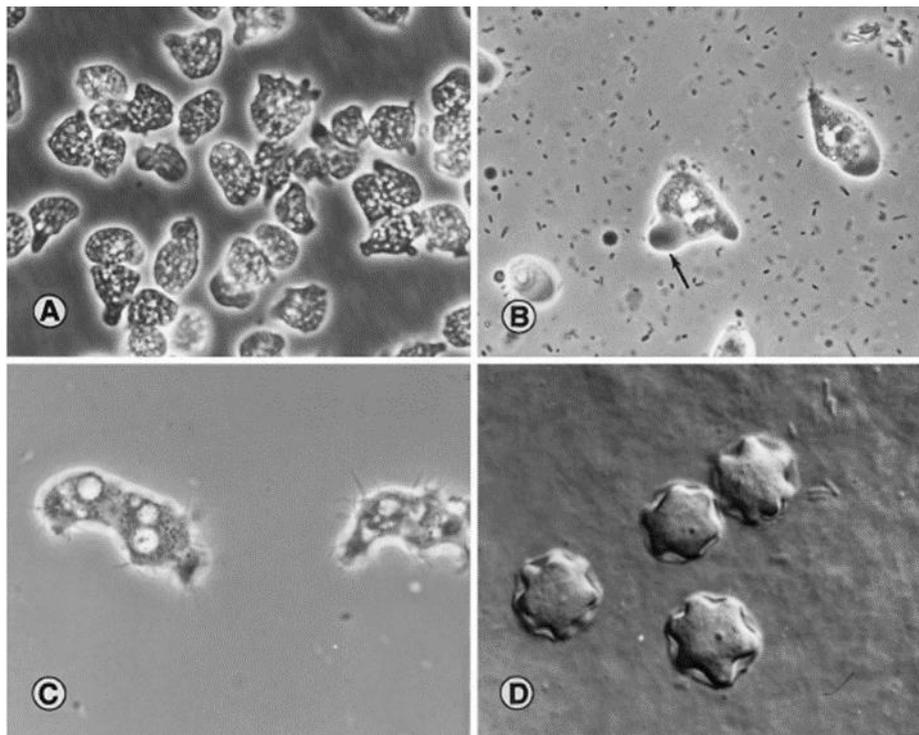


Fig.N°2: a) b) c). Trofozoito de Acanthamoeba, d) Quiste de Acanthamoeba

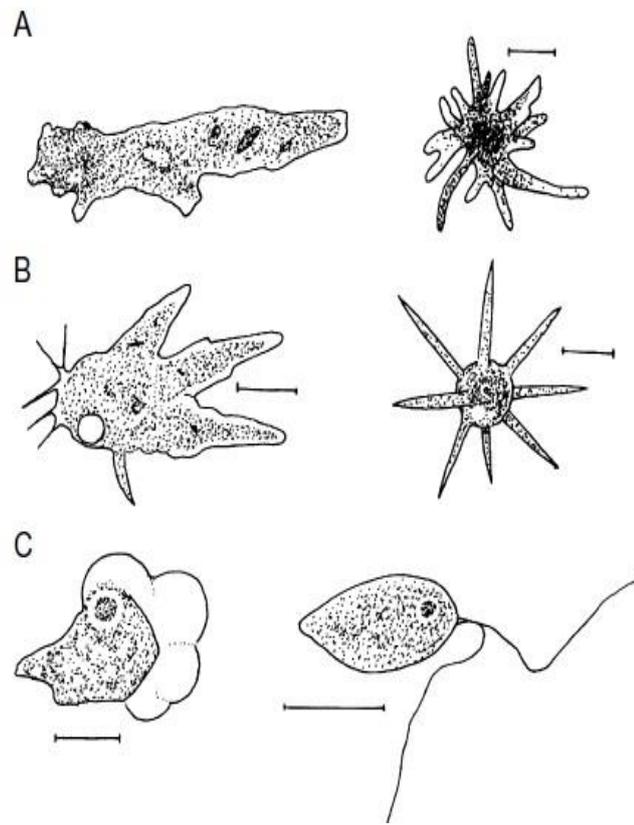


Fig. N°3: a) Algunas amebas y sus “formas flageladas” desde la derecha: Amoeba proteus, 100 um, b) Polycaos tinium 20 um; c) Naegleria gruberi 10um



Fig. N°4: Mapa físico de la Laguna Chinchaycocha en Junín



Fig. N°5: Laguna de Chinchaycocha