



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

**CIANOTOXINAS: EFECTO SOBRE EL ZOOPLANCTON,  
BIOACUMULACIÓN Y TRANSFERENCIA EN LA CADENA  
ALIMENTARIA**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**M. en C. Cesar Alejandro Zamora Barrios**

**TUTORA PRINCIPAL**

**Dra. Nandini Sarma**

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**COMITÉ TUTOR:**

**Dr. Javier Alcocer Durand**

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**Dr. Javier Carmona Jiménez**

Facultad de Ciencias

**Dr. Roberto Rico Martínez**

Universidad Autónoma de Aguascalientes

**Dr. Hugo Virgilio Perales Vela**

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**MÉXICO, CD. , septiembre, 2020**



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.



# **CIANOTOXINAS: EFECTO SOBRE EL ZOOPLANCTON, BIOACUMULACIÓN Y TRANSFERENCIA EN LA CADENA ALIMENTARIA**

## **TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**M. en C. Cesar Alejandro Zamora Barrios**

**TUTORA PRINCIPAL**

**Dra. Nandini Sarma**

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**COMITÉ TUTOR:**

**Dr. Javier Alcocer Durand**

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**Dr. Javier Carmona Jiménez**

Facultad de Ciencias

**Dr. Roberto Rico Martínez**

Universidad Autónoma de Aguascalientes

**Dr. Hugo Virgilio Perales Vela**

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**MÉXICO, CD. MX., septiembre, 2020**

*A mi familia:*

*La familia es lo único que se adecúa a las necesidades más primitivas,  
nuestras primeras interacciones biológicas comienzan aquí.*

*Espero ser el reflejo de las aptitudes de mi familia:*

*Sabiduría, comprensión y amor de mis padres.*

*Perseverancia y dedicación de mi hermano.*

*Bondad y generosidad de mi hermana.*

*Ingenio y capacidad imaginativa para expresar sentimientos a través  
del arte de mi hermana.*

*Alegría y fortaleza de mis sobrinos.*

*A Rosa*

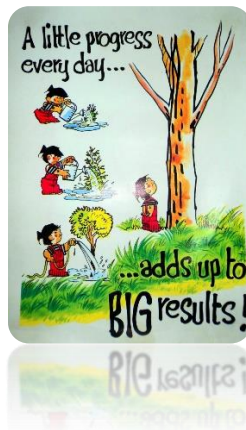
*Por amarme, apoyarme, y acompañarme en esta etapa de mi vida;  
juntos hacemos una gran simbiosis.*

## Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de México (UNAM) por brindarme la oportunidad de formarme dentro de esta institución como profesionista.

Al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología por aceptarme en su institución, darme la oportunidad de desarrollar esta tesis doctoral y obtener una valiosa formación en investigación. Agradezco a las coordinadoras encargadas del posgrado, durante mí periodo de desarrollo académico. Gracias a la Dra. Claudia Ponce de León Hill, Dra. Ruth Cecilia Vanegas Pérez y a la Dra. Gloria Vilaclara Fatjó. También, agradezco al personal administrativo (M. en C. Diana Juárez Bustos, Guadalupe Godoy Medina, Gabriela Almaraz Mejía y Biol. Yazmín Valenzuela Velázquez) por apoyarme y asesorarme en cada proceso burocrático.

A la persona que cambio mí mente hacia la ciencia, mí maestra que, como alfarera busca dar forma al futuro de un estudiante, moldea la arcilla que en ocasiones es necesario manipular bruscamente para dar forma, pero siempre sosteniendo con una mano para evitar el colapso. A ella que ha sido para mí una madre científica desde el momento en que me permitió incorporarme al equipo de trabajo del laboratorio de Zoología Acuática. Le agradezco todos los consejos oportunos que me permitieron salir adelante cuando más lo necesité, gracias por todo su apoyo y dedicación “Dra. Nandini Sarma”.



Al mejor rotiferólogo del mundo “Dr. Sarma”. Gracias por ser guía en mi carrera científica, por motivarme y apoyarme para la culminación de esta tesis. Por su apoyo en la identificación de especies y correcciones pertinentes, pero más importante, gracias por las bromas recurrentes que siempre alegran el día.

A mis sinodales Dr. Hugo Virgilio Perales Vela, Dr. Roberto Rico Martínez, Dr. Javier Alcocer Durand, y al Dr. Javier Carmona Jiménez, por su tiempo y dedicación con la finalidad de mejorar la realización de esta Tesis. Por compartir ideas y argumentos que cambiaron mi perspectiva. También, por transmitirme ánimos y motivación en cada tutorial y corregirme cuando las cosas no iban por buen camino.

Agradezco a todos los compañeros de Zoología acuática I y II con los que conviví durante muchos años, no solamente en el laboratorio llegando a formar una gran familia científica, sino en algunos sitios extracurriculares, donde no faltaron buenas pláticas y risas. En especial, agradezco a aquellos que se volvieron más estrechos y siempre nos han brindado una linda amistad. Gracias Cristian, Ligia y Leonel, que siempre están para apoyarnos y charlar de temas científicos y otros no tanto “Best Friends Forever”. Muchas gracias, Bren y Toño con quienes siempre reímos y tuvimos aventuras muy divertidas. A Uriel quien me enseñó que las cosas se hacen en el momento o mejor no la hagas. Aunque la distancia nos aparte amigo, la tecnología siempre mantendrá los lazos estrechos. Mayra “China” quien siempre con alegría y humor, pero con mucha inteligencia, le da vida al laboratorio. A Mich y Toño con quienes siempre se discutían cosas interesantes y, así mismo, proponían actividades con el fin de motivar a los nuevos estudiantes. También, agradezco a Paulo por su cariño y apoyo incondicional.

Agradezco a todos aquellos que cambiaron su agenda por acompañarme a campo, sin ustedes esta tesis no hubiera sido posible. Gracias Alejandro, Karina, Carlos, Metzli, Cristian, Ligia, Brenda, Toño, Mich, Rosa y Uriel.

A los compañeros universitarios que se convirtieron en hermanos: Serch, Potter, Wero, Isis, Mariana, Gaby, Janette y Mich. Gracias por las buenas anécdotas que pasamos juntos.

A mis primos que siempre han estado a mi lado en las buenas y en las malas: Pako, Chino, Marcos, Wero, Paris y Chucho.

Tambien, agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) (492558) por el apoyo económico de manutención de estudios de posgrado y su colaboración administrativa para la realización de este proyecto. Finalmente, agradezco a los proyectos PAPIIT IN219218 y PAPIIT IG200820 por su asistencia financiera para la elaboración del proyecto.

## ÍNDICE

<b>Capítulo I: Introducción general .....</b>	<b>13</b>
Cianobacterias: características generales .....	14
Ciano FANs: Condiciones que favorecen su éxito .....	18
Cianotoxinas .....	24
Justificación .....	33
Área de estudio .....	36
<b>Capítulo II: Análisis de la comunidad del zooplancton con relación a las características ambientales y la presencia de cianobacterias productoras de microcistinas .....</b>	<b>41</b>
Resumen.....	42
Introducción .....	43
Hipótesis .....	50
Objetivos.....	51
Material y Métodos .....	51
Resultados.....	55
Discusión .....	80
Conclusiones .....	92
<b>Capítulo III: Acumulación de microcistinas en Seston, Zooplancton y Peces .....</b>	<b>94</b>
Resumen.....	95
Introducción .....	96
Hipótesis .....	104
Objetivos.....	104
Material y Métodos .....	105
Resultados.....	111
Discusión .....	118
Conclusiones .....	123
<b>Capítulo IV: Efecto combinado de los extractos crudos del consorcio de cianobacterias y la temperatura sobre las características demográficas de <i>Ceriodaphnia dubia</i> .....</b>	<b>125</b>
Resumen.....	126
Introducción .....	127
Hipótesis .....	131
Objetivos.....	132
Material y Métodos .....	132



Resultados .....	137
Discusión .....	153
Conclusiones .....	162
<b>Capítulo V: Discusión general y perspectivas a futuro .....</b>	<b>163</b>
<b>Literatura Citada.....</b>	<b>172</b>
<b>Anexo I: Publicación Científica (Bioaccumulation of microcystins in seston, zooplankton and fish: A case study in Lake Zumpango, Mexico) .....</b>	<b>196</b>

## **Tablas y Figuras**

Tabla 1.1: Esquema de la clasificación taxonómica de los órdenes de cianoprocariontes .....	16
Figura 1.1. Condiciones que influyen en la formación y prevalencia de un Ciano FAN	23
Tabla 1.2: Esquema de cianotoxinas, características y ejemplos de los principales géneros productores .....	24
Tabla 1.3. Limitaciones y ventajas de las diferentes técnicas analíticas, utilizadas para la detección/medición de cianotoxinas .....	31
Figura 1.2. Mapa del Lago de Zumpango (Estado de México), indicando los sitios de muestreo .....	36
Figura.2. Variación anual (abril 2016 a marzo 2017) de los parámetros fisicoquímicos registrados en cinco sitios establecidos en el lago de Zumpango. Se presenta el promedio de tres replicas $\pm$ error estándar .....	58
Figura.2.2. Variación anual (abril 2016 a marzo 2017) de los parámetros fisicoquímicos registrados en cinco sitios establecidos en el lago de Zumpango .....	59
Tabla.2.1. Riqueza de especies zooplantónicas (Rotíferos, cladóceros y copépodos), presentes en los sitios de muestreo del lago de Zumpango, durante el periodo abril 2016-marzo 2017.....	60
Figura.2.3. Variación mensual del índice de diversidad de Shannon-Winer de las especies de zooplancton. Las barras indican el error estándar derivado de los cinco sitios de muestreo.....	62
Figura.2.4. Diagrama de distribución de frecuencias vs abundancias (Olmstead-Tukey test) de rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha), presentes en el Sitio 1 del lago de Zumpango .....	63
Figura.2.5. Diagrama de distribución de frecuencias vs abundancias (Olmstead-Tukey test) de rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha), presentes en el Sitio 2 del lago de Zumpango .....	64

Figura.2.6. Diagrama de distribución de frecuencias vs abundancias (Olmstead-Tukey test) de rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha), presentes en el Sitio 3 del lago de Zumpango .....	65
Figura.2.7. Diagrama de distribución de frecuencias vs abundancias (Olmstead-Tukey test) de rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha), presentes en el Sitio 4 del lago de Zumpango .....	66
Figura.2.8. Diagrama de distribución de frecuencias vs abundancias (Olmstead-Tukey test) de rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha), presentes en el Sitio 5 del lago de Zumpango .....	67
Figura.2.10. Variación estacional de la abundancia de rotíferos dominantes en los cinco sitios de muestreo en el lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017 .....	69
Figura.2.11. Variación estacional de la abundancia de microcrustáceos dominantes en los cinco sitios de muestreo en el lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017 .....	71
Figura.2.12. Abundancia de <i>Planktothrix</i> cf. <i>agardhii</i> presente en cinco sitios de muestreo del lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017 .....	72
Figura.2.13. Abundancia de <i>Microcystis aeruginosa</i> presente en cinco sitios de muestreo del lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017 .....	73
Figura.2.14. Abundancia de <i>Aphanizomenon</i> sp. presente en cinco sitios de muestreo del lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017. ....	74
Figura. 2.15. Abundancia de <i>Cylindrospermopsis</i> sp. presente en cinco sitios de muestreo del lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017 .....	75
Figura.2.16. Porcentaje de representatividad de las cianobacterias dominantes y abundancia total de cianobacterias, rotíferos y cladóceros presentes en el lago de Zumpango .....	76
Figura.2.17. Diagrama del análisis de correspondencia canónica de las variables ambientales y las abundancias de las principales especies de rotíferos .....	78
Figura.2.18. Diagrama del análisis de correspondencia canónica de las variables ambientales y las abundancias de las principales especies de Microcrustáceos .....	79
Tabla.2.2. Índice de diversidad de Shannon-Wiener de diversos sistemas epicontinentales .....	85
Tabla.2.3. Matriz de rasgos funcionales para el conjunto de especies de rotíferos identificadas en el lago de Zumpango.....	87
Figura.3.2. Concentración de equivalentes de microcistinas LR disueltas y particuladas en el sitio 1 del lago de Zumpango durante un periodo anual de abril 2016 a marzo 2017	112

Figura.3.3. Concentración de equivalentes de microcistinas LR acumuladas en seston en el sitio 1 del lago de Zumpango durante un periodo anual de abril 2016 a marzo 2017 ....	113
Figura.3.4. Concentración anual de microcistinas acumuladas por el zooplancton vs la abundancia total en el sitio 1 del Lago de Zumpango.....	114
Figura.3.5. Proporción de especies de zooplancton que componen la abundancia en el sitio 1 del lago de Zumpango en el filtrado de 600 L .....	116
Figura.3.6. Concentración de microcistinas acumuladas en tejido u órganos (hígado, músculo, intestino y branquias) del pez <i>Oreochromis niloticus</i> , recolectado en los meses de abril, octubre y febrero en el lago de Zumpango. Promedio basado en cinco replicas ± error estándar.....	117
Figura.3.7. Concentración de microcistinas acumuladas en de la especie <i>Chirostoma jordani</i> en el lago de Zumpango, colectados durante los meses de abril, junio, agosto, octubre, diciembre y febrero. Promedio basado en cinco replicas. Promedio basado en cinco replicas ± error estándar .....	118
Figura.3.8 Límites permisibles de Consumo Tolerable Diario (OMS y EPA) de acuerdo con las Concentración de microcistinas acumuladas en <i>Chirostoma jordani</i> y <i>Oreochromis niloticus</i> (músculo) en el lago de Zumpango .....	123
Diagrama.4.1. Proceso gráfico de preparación del extracto crudo: sónica/Congelar/Descongelar .....	133
Figura.4.1. Regresión lineal del logaritmo de las concentraciones de los extractos crudos vs los valores de las unidades probit, y los valores de CL <sub>50</sub> , obtenidos de los experimentos de exposición de tipo agudo sobre <i>Ceriodaphnia dubia</i> .....	138
Figura.4.2 Crecimiento poblacional de un clon de <i>Ceriodaphnia dubia</i> expuesto a cuatro diferentes concentraciones crónicas de extractos crudos de un florecimiento cianobacterial y sometido a tres diferentes temperaturas (18, 23 y 30°C). Se presenta la media de cuatro replicas ± error estándar.....	141
Figura.4.3. Tasas de crecimiento poblacional ( <i>r</i> ) de <i>Ceriodaphnia dubia</i> expuesta a tres temperaturas (18, 23 y 30°C) y cuatro tratamientos crónicos de extracto crudo cianobacterial (1.47, 2.94, 5.88 y 8.82 µg L <sup>-1</sup> ) y un control. Cada barra representa cuatro repeticiones ± error estándar. Letras diferentes representan diferencia significativa entre tratamientos, evaluada a través de una prueba estadística de Tukey .....	142
Tabla.4.2. Análisis de varianza de una vía (ANOVA), aplicada a la tasa de crecimiento poblacional de <i>Ceriodaphnia dubia</i> , expuesta a cuatro concentraciones de extracto crudo y tres temperaturas (18, 23 y 30°C) .....	143
Figura.4.4. Curvas de supervivencia de <i>Ceriodaphnia dubia</i> a diferentes temperaturas (18, 23 y 30°C) y cuatro diluciones subletales de extracto crudo de cianobacterias proveniente del lago de Zumpango y controles (ausencia de extracto). Los símbolos representan los promedios ± error estándar de cuatro réplicas de una cohorte de diez individuos cada uno .....	145

Figura.4.5. Fecundidad de *Ceriodaphnia dubia* a diferentes temperaturas (18, 23 y 30°C) y cuatro diluciones subletales de extracto crudo de cianobacterias proveniente del lago de Zumpango y controles (ausencia de extracto). Los símbolos representan los promedios  $\pm$  error estándar de cuatro réplicas de una cohorte de diez individuos cada uno ..... 146

Figura.4.6. Promedio y Esperanza de vida de vida de *Ceriodaphnia dubia*, sometido a bioensayos crónicos, con cuatro diferentes concentraciones de extractos crudos (5, 10, 20 y 30%), elaborado con el Ciano FAN presente en el lago de Zumpango, sometidos a 18, 23 y 30°C y usando *Scenedesmus acutus* a  $1.0 \times 10^6$  cels  $\text{ml}^{-1}$  como alimento. Se presenta la media de cuatro replicas  $\pm$  error estándar ..... 150

Figura.4.7. Tasa reproductiva bruta y neta de *Ceriodaphnia dubia*, sometido a bioensayos crónicos, con cuatro diferentes concentraciones de extractos crudos (5, 10, 20 y 30%), elaborado con el Ciano FAN presente en el lago de Zumpango, sometidos a 18, 23 y 30°C y usando *Scenedesmus acutus* a  $1.0 \times 10^6$  cels  $\text{ml}^{-1}$  como alimento. Se presenta la media de cuatro replicas  $\pm$  error estándar ..... 151

Figura.4.8. Tiempo generacional y tasa de incremento poblacional de *Ceriodaphnia dubia*, sometido a bioensayos crónicos, con cuatro diferentes concentraciones de extractos crudos (5, 10, 20 y 30%), elaborado con el Ciano FAN presente en el lago de Zumpango, sometidos a 18, 23 y 30°C y usando *Scenedesmus acutus* a  $1.0 \times 10^6$  cels  $\text{ml}^{-1}$  como alimento. Se presenta la media de cuatro replicas  $\pm$  error estándar ..... 152

Tabla.4.3. Análisis de varianza de dos vías, aplicada a las variables demográficas de tabla de vida de *Ceriodaphnia dubia*, expuesta a cuatro concentraciones de extracto crudo y tres temperaturas ..... 153

Tabla.5.1. Directrices para la práctica segura en la gestión de las aguas recreativas ..... 168

## Abreviaturas

ADDA: Ácido 3 amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10-fenildeca-4,6-dienoico

ANOVA: Análisis de la varianza

APHA: American Public Health Association (Asociación Americana de Salud Pública)

BMAA:  $\beta$ -N-metilamino-L-alanina

CANOCO: Canonical correspondence análisis (Análisis de correspondencia canónica)

CDMX: Ciudad de México

CIANO FAN: Florecimientos de algas nocivas (cianoprocariontes)

CONAGUA: Comisión Nacional del Agua

CONAPESCA: Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca

CTD: Consumo Tolerable Diario

CYN: Cilindropermopsina

DHA: ácido docosahexaenoico

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas)

EPA: United States Environmental Protection Agency (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos)

GF/C: Glass microfiber filters (Filtros de microfibra de vidrio)

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución

IMTA: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua

LC: Cromatografía líquida

LC<sub>50</sub>: Concentración letal media

LOAEL: Lowest observed adverse effect level (Nivel más bajo de efectos adversos observados)

MC-LR: Microcistina con ocupación de las posiciones variables con leucina y la arginina

MCS: Microcistinas

NOAEL: Non Observed Adverse Effect Level (Nivel de efectos adversos no observados)

OMS: Organización Mundial de la Salud

rADN: ADN recombinante

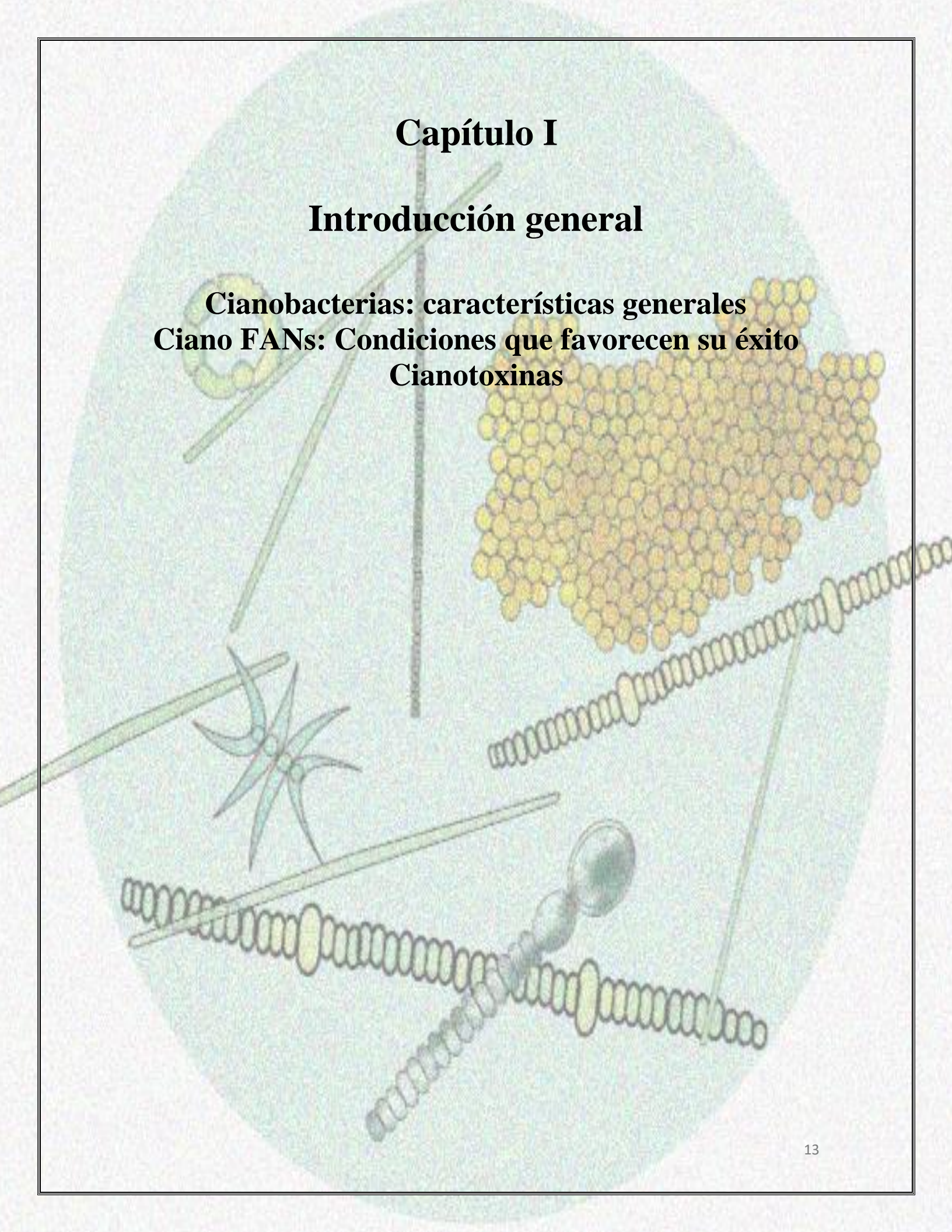
RENAMECA: Red nacional de monitoreo de la calidad del agua

SAGARPA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

# Capítulo I

## Introducción general

**Cianobacterias: características generales**  
**Ciano FANs: Condiciones que favorecen su éxito**  
**Cianotoxinas**



# Capítulo I

## Introducción general

### **Cianobacterias: características generales**

Las cianobacterias o cianoprocariontes son un grupo de organismos considerados los primeros fotoautótrofos oxigénicos (Komárek, 2014). De acuerdo con la nueva clasificación basada en las relaciones filogenéticas, están ubicadas en el dominio eubacteria, antes reino Monera (Woese et al., 1990; Woese, 1998; Maddison et al., 2007). Su edad se estima en más de 3500 millones de años a través registros fósiles (microbialitas: estructuras órgano-sedimentarias formadas por la acreción, precipitación y unión de materiales minerales), y datos geológicos obtenidos de muestras isotópicas de carbono consistentes con la fijación de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) a través de la enzima Rubisco (Castle y Rodgers, 2009; Schopf, 2012). Al mismo tiempo, son consideradas las responsables de alterar la biosfera primitiva (anóxica y reductora), incrementando la proporción de oxígeno de 1 a 21%, transformándola en una atmósfera oxidante hace más de 1200 millones de años, un evento asociado a su máxima proliferación y diversidad durante el precámbrico (Schirrmeister et al., 2013; Pla-García y Menor-Salván, 2017; Moss, 2018). Además, coincide con el desarrollo de nuevas formas de vida multicelulares que alteraron la diversidad biológica del planeta (Schopf, 1974; Komárek, 2006). Debido a su amplia historia evolutiva, a las estrategias antidepredatorias (producción de metabolitos secundarios tóxicos y formación de agregaciones) y al desarrollo de estructuras especializadas, las cianobacterias han logrado colonizar la mayoría de los nichos ecológicos, siendo registradas desde los polos hasta las regiones tropicales, en sistemas acuáticos y terrestres, inclusive tolerando ambientes inhóspitos de baja y alta alcalinidad o predominando en comunidades microbianas geotérmicas, *p. ej.* se han identificado picocianobacterias planctónicas bajo condiciones de pH > 4.5 o especies del género *Synechococcus* prevaleciendo en sistemas hidrotermales por encima 70 °C (Steinberg et al., 1998; Miller y Castenholz, 2000). No obstante, no todos los taxones de cianobacterias son ubicuos, algunos poseen nichos ecológicos restringidos por sus rasgos morfológicos y fisiológicos (Komárek, 1995; Mateo et al., 2015).

Las cianobacterias son un grupo ampliamente diversificado. En las últimas décadas, para la delimitación de especies, ha surgido la idea de integrar desde un enfoque multidisciplinario la información morfológica, ecofisiológica y molecular con el fin de entender sus relaciones evolutivas y generar una clasificación que no subestime o sobrestime el tamaño de las poblaciones (Komárek, 2010; Komárek et al., 2014). Entre el total de organismos procariontes, y a partir del estudio de los caracteres morfológicos (taxonomía tradicional), las cianobacterias comprenden cerca del 24% con alrededor de 2700 especies, dispuestos en 150 géneros y divididas en cinco principales órdenes (dependiendo del autor): Stigonematales, Chroococcales, Oscillatoriales, Nostocales y Pleurocapsales (Komárek, 2010; Nabout et al., 2013). A pesar de esto, mediante modelos matemáticos logísticos basados en las especies reconocidas hasta el momento, se ha estimado que este grupo debe contener, alrededor de 3580 especies aún no descritas (Nabout et al., 2013).

La diversidad morfológica de las cianobacterias incluye varios niveles de organización, presentando organismos unicelulares en un intervalo de tamaño de 2 a 20  $\mu\text{m}$  de diámetro, dependiendo de la especie; con filamentos pluricelulares o colonial que pueden sobrepasar más de 500  $\mu\text{m}$  (Whitton, 2002; Huisman et al., 2005; Schirmermeister et al., 2011). Su reproducción asexual por fisión binaria o múltiple; sin embargo, hay especies con la capacidad de formar estructuras como endosporas y exosporas (exocitos, beocitos y hormocitos). La fragmentación de las colonias o de los tricomas de los filamentos en forma de hormogonios (fragmentos cortos del tricoma fragmentados debido a la formación de zonas necróticas por muerte celular programada), es otra estrategia reproductora (Whitton y Potts, 2012). La división celular se lleva a cabo en uno, dos o hasta tres planos perpendiculares o irregulares, dando como resultado diferentes configuraciones tridimensionales (Mazouni et al., 2004; Flores y Herrero, 2014). Además, algunas cianobacterias filamentosas muestran diferentes tipos de ramificación, proporcionándoles una morfología característica utilizada para su identificación taxonómica (Cirés, 2012). A diferencia de los grupos algales, no cuentan con un núcleo definido, además de carecer de plastidios y orgánulos. La pared celular de las cianobacterias es Gram negativa, libre de ácidos teicoicos, y está formada de tres principales capas compuestas de peptidoglicano; aunque, algunos géneros como *Microcystis*



presentan una cuarta capa proteica, denominada capa-S. (Rippka et al., 1979; Hoiczky y Hansel, 2000).

<b>Órdenes</b>	<b>Principales Características</b>	<b>Géneros con potencial toxicológico</b>
Oscillatoriales	Filamentosas sin ramificaciones verdaderas (pueden incluir algunas especies con ramificaciones falsas); reproducción por división celular binaria; sin presencia de heterocitos ni acinetos.	<i>Planktothrix</i> <i>Limnothrix</i> <i>Phormidium</i> <i>Lyngbia</i>
Nostocales	Filamentosas sin ramificaciones verdaderas; filamentos pluricelulares capaces de producir heterocitos y algunas especies presentan acinetos ocasionalmente.	<i>Anabaena</i> <i>Anabaenopsis</i> <i>Aphanizomenon</i> <i>Raphidiopsis</i> <i>Cylindrospermopsis</i> <i>Nodularia</i>
Stigonematales	Filamentosas con ramificaciones verdaderas; con formación de acinetos y heterocitos; división celular en dos o más planos.	<i>Hapalosiphon</i> <i>Umezakia</i>
Chroococcales	No filamentosas, unicelulares o coloniales; células agregadas envueltas en por una pared o matriz mucilaginosas; reproducción por fisión binaria en uno, dos o tres planos; también pueden reproducirse por gemación o fragmentación.	<i>Microcystis</i> <i>Woronichinia</i> <i>Coelosphaerium</i> <i>Aphanocapsa</i> <i>Aphanothece</i> <i>Merismopedia</i> <i>Snowella</i>
Pleurocapsales	No filamentosas, células cocóides, agregados o pseudo-filamentos unidos por una pared o matriz de mucílago; reproducción por división interna por fisión binaria o mediante baeocitos.	<i>Ordella</i>

Tabla 1.1: Esquema de la clasificación taxonómica de los órdenes de cianoprocariontes acorde con Komárek y Anagnostidis, 2005 y Komárek, 2010.

Las cianobacterias sintetizan una amplia gama de pigmentos accesorios como la ficocianina (absorbancia máxima= 620 nm), ficoeritrina (absorbancia máxima= 565 nm), alloficocianina (absorbancia máxima= 650 nm), y diversos carotenoides, por lo que muestran una variedad de coloraciones, incluidos rojo, marrón y rosa. Sin embargo, una de las características trascendentales es su distintivo color verde-azul (cian), coloración otorgada por la presencia ubicua del pigmento clorofila-a enmascarada por las ficobiliproteínas (Huisman et al., 2018).

Como parte de los productores primarios las cianobacterias cumplen una función principal en el flujo energético de los sistemas acuáticos, transformando la materia inorgánica a orgánica en forma de biomasa; al mismo tiempo tienen un rol vital en los ciclos biogeoquímicos del

nitrógeno y el carbono (Bellinger y Sigee, 2015). El crecimiento de los productores primarios es dependiente de una cuota de nutrientes inorgánicos esenciales, los requerimientos nutricionales tienen una relación estequiométrica conocida como relación de Redfield, es una proporción promedio de la composición atómica de la biomasa fitoplanctónica, la cual es, de aproximadamente 106 átomos de carbono por cada 16 de nitrógeno y uno de fósforo (Redfield, 1958; Ptacnik et al., 2010). El nitrógeno y el fósforo son nutrientes esenciales para el desarrollo de los productores primarios, estructurando la formación de las membranas celulares, ADN (ácido desoxirribonucleico), aminoácidos y proteínas, o como componentes elementales del metabolismo celular (Reynolds, 2006).

Las cianobacterias activamente incorporan un amplio rango de moléculas nitrogenadas como, amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), urea ( $\text{CH}_4\text{NO}_2$ ), entre otras. Dependiendo de la fuente de nitrógeno, la asimilación requiere de diferentes reducciones enzimáticas (nitrato reductasa y nitrito reductasa). El amonio es considerado la fuente de nitrógeno menos costosa de asimilar, simplemente es necesaria una molécula de NADPH (Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato) y ATP (adenosín trifosfato) para la formación de glutamato (Flores y Herrero, 2005). El suministro principal de fósforo para las cianobacterias son los ortofosfatos ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), pero también pueden utilizar otras formas orgánicas para sus principales funciones metabólicas (Whitton y Potts, 2012). Bajas relaciones N:P (nitrógeno: fósforo) (29:1), han sido consideradas uno de los factores que afectan el éxito de las cianobacterias. Por el contrario, una alta proporción (50:1) permite su dominio en los sistemas epicontinentales (Hyenstrand et al., 1998; Bulgakov y Levich, 1999). Bajo condiciones limitantes de fósforo las cianobacterias forman reservas en gránulos de polifosfato que sirven durante periodos de estrés, suficiente para realizar más de 4 duplicaciones celulares (Whitton y Potts, 2012). En condiciones limitantes de nitrógeno inorgánico las cianobacterias cuentan con la capacidad de transformar el  $\text{N}_2$  atmosférico mediante diferentes procesos enzimáticos (diazotrofia); que requieren de una alta demanda energética (10% del total de la proteína celular y 16 moléculas de ATP) (Berman-Frank et al., 2007). En algunas cianobacterias filamentosas (principalmente Nostócales), la fijación se desarrolla en células microaeróbicas morfológicamente modificadas, denominadas heterocitos o diazocitos en cianobacterias marinas, donde se expresa la enzima nitrogenasa

(Bergman et al., 2013). Los heterocitos contribuyen en gran medida a la entrada de nitrógeno a los sistemas acuáticos, colaborando con más del 10% de la demanda total de nitrógeno (Ferber et al., 2004). En el lago Pyramid (sitio hipersalino y de altitud en EUA), *Nodularia spumigena* contribuye con más del 80% de la entrada anual de nitrógeno al sistema, mediante este proceso de reducción (Horne y Galat, 1985).

Las especies de cianobacterias planctónicas pueden explotar de manera única los sistemas acuáticos con densa estratificación térmica, migrando a lo largo del metalimnion o en aquellos sistemas inestables ocupan las regiones superficiales del epilimnion, principalmente durante los períodos de baja turbulencia (Walsby et al., 1997). La capacidad de regulación de flotabilidad vertical es provista por vesículas de gas intracelulares acomodadas en estructuras distribuidas de manera paralela denominadas aerotopos. La presencia de las vesículas les permite ubicarse en las capas con mejores condiciones de dispersión de luz y/o concentración de nutrientes, confiriéndoles estabilidad y contrarrestando la pérdida por sedimentación (Walsby, 1994; Mur et al., 1999; Kobos et al., 2013). Los mecanismos detrás de la migración mediante la capacidad intrínseca de flotar implican la modulación de la expresión genética de dichas vesículas, su destrucción por la presión de turgencia (Walsby, 1994; Wallace et al., 2000), y la acción de lastres como la acumulación de carbohidratos intracelulares producidos durante el proceso de respiración (Wörmer et al., 2011).

### **Ciano FANs: Condiciones que favorecen su éxito**

Las cianobacterias son un grupo polifilético muy diverso y las especies divergen en rasgos y estrategias ecofisiológicas, permitiendo explotar eficientemente el suministro de recursos disponible y confiriéndoles una clara ventaja competitiva sobre otros productores primarios eucariotas (Mateo et al., 2015; Carmichael, 2008). Las cianoprocariontes aceleran de manera significativa el promedio de la biomasa de la población en un tiempo relativamente corto, generando fenómenos de crecimiento masivo ( $> 10^4$  cels m L<sup>-1</sup>), conocidos como florecimientos de algas nocivos “Ciano FAN” (en inglés: *Blooms* o *Scums*) (Carmichael, 2001; Codd et al., 2005; Ger et al., 2014). Un florecimiento es caracterizado por el dominio de cianoprocariontes  $> 80\%$  de la proporción de organismos fitoplanctónicos totales, con la prevalencia de una o pocas especies (Mihaljević y Stević, 2011; Humbert y Fastner, 2017).

La formación de un Ciano FAN tiene grandes repercusiones con respecto a la calidad del agua, tales como, acumulación de la materia orgánica, disminución de la transparencia del agua, color desagradable, mal olor y cambios drásticos en las concentraciones de oxígeno. Aunado a esto, la descomposición bacteriana posterior a la senescencia de un florecimiento puede generar periodos de hipoxia y anoxia, muerte de organismos planctónicos, nectónicos y bentónicos (peces, aves, zooplancton, fitoplancton, etc.), disminuyendo drásticamente la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos (Codd et al., 2005; Oberholster et al., 2006; Paerl y Otten, 2013).

Dichos fenómenos de crecimiento masivo pueden ocurrir en cuerpos de agua prístinos, donde el enriquecimiento de agua con los nutrientes necesarios para el crecimiento de las cianobacterias ocurre a través de procesos geológicos e hidrológicos naturales. Sin embargo, existen diversos estudios que demuestran un aumento en la proliferación de florecimientos nivel mundial, relacionados con cambios en las condiciones naturales físicas y biogeoquímicas de los sistemas acuáticos, inducidos por la acción humana y asociados al desarrollo urbano, agrícola e industrial (Dolman et al., 2012; Paerl y Paul, 2012). Entre los múltiples factores que desencadenan la frecuencia e intensidad de los florecimientos destacan la eutrofización, el aumento de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) atmosférico y el cambio climático global (Huisman et al., 2018).

El acelerado aumento de la tasa de eutrofización en los ecosistemas de agua dulce ha causado un desequilibrio de la estructura y función de las cadenas alimentarias, favoreciendo a organismos con la facilidad de tolerar o adaptarse rápidamente a estresores ambientales (Sotton et al., 2014; Paerl, 2017). Mediante análisis bioestratigráfico del registro de cianopigmentos (clorofila-a, zeaxantina y cantaxantina) almacenados en núcleos de sedimentos, acumulados en el fondo de los lagos, se ha observado que la modificación de las cuencas hidrológicas y la urbanización favorecen el sobre enriquecimiento de nutrientes que repercute en el aumento de la materia orgánica vinculada a las cianobacterias y aunque su presencia no es algo reciente, en los últimos 50 años los Ciano FANs no sólo se han

intensificado, sino que el patrón seguirá tendiendo a su proliferación (Deshpande et al., 2014).

El planeta se encuentra experimentando un cambio drástico en las condiciones climático-ambientales. El aumento de las emisiones de CO<sub>2</sub> atmosférico, producto de la combustión de materiales fósiles, ha incrementado en las últimas décadas a una tasa anual del 3% (O'Neil et al., 2012). Debido al intercambio entre la interfaz aire-agua, este aumento promueve cambios sobre la química acuática, adsorbiendo entre 25 a 30% del CO<sub>2</sub> emitido a la atmósfera, promoviendo la acidificación de las aguas superficiales, especialmente oceánicas (Doney et al., 2009). A diferencia de los sistemas marinos que tienen una alta capacidad de amortiguación, en sistemas epicontinentales con densos florecimientos de cianobacterias es probable que el efecto no sea el mismo. Gracias a su gran flexibilidad fisiológica las cianobacterias han desarrollado sistemas de concentración de carbono inorgánico que les confieren un consumo eficiente de CO<sub>2</sub> y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (bicarbonato) (Huisman et al., 2018). Aunque, en condiciones de laboratorio que simulan concentraciones limitadas de CO<sub>2</sub> (100 ppm), *Microcystis* fue competitivamente inferior a las algas eucariontes, no obstante, su competitividad aumenta bajo concentraciones superiores a 2000 ppm (Ji et al., 2017). Sin embargo, debido a que las altas tasas fotosintéticas generan una alta demanda de CO<sub>2</sub>, las cianobacterias con vesículas de gas tienen una clara ventaja, interceptando directamente este ion de la atmósfera, minimizando la limitación de carbono inorgánico disuelto y aprovechando los crecientes niveles atmosféricos (Paerl y Huisman, 2009). Las crecientes concentraciones atmosféricas de CO<sub>2</sub> probablemente intensifiquen los florecimientos de cianobacterias en aguas eutróficas, especialmente de aquellas con la capacidad de regular su posición en las capas superficiales y con la capacidad de combinar los sistemas de adsorción de carbono (Ji et al., 2017).

El incremento térmico, es un factor que estimula la persistencia de los florecimientos en diversas formas. Especies formadoras de Cianobacterias FANs muestran un incremento óptimo en la tasa de crecimiento poblacional a temperaturas superiores a los 25 °C, a diferencia de especies algales eucarióticas (diatomeas, clorófitas, criptofitas y dinoflagelados) que ven disminuidas sus poblaciones por el estrés que la temperatura representa (Paerl y Otten, 2013).

El calentamiento de las aguas superficiales pareciera ser una variable que afecta principalmente a zonas con climas templados, es decir, regiones con estaciones meteorológicas bien definidas, latitudes altas y con temperaturas medias por debajo de los 18 °C (Sarma et al., 2005; Nandini y Sarma, 2012). El desvanecimiento de un florecimiento por la disminución de la temperatura se debe a cambios en la densidad y viscosidad del medio que incrementa la intensidad de la tasa de sedimentación, proceso que ocurre cíclicamente en zonas templadas (Latour et al., 2004). Takamura y Yasuno (1988), observaron (en un lago somero en Japón), un aumento progresivo de la velocidad de sedimentación de células de *Microcystis* de 0.0045 m d<sup>-1</sup> en el mes de junio que incrementa a 0.24 m d<sup>-1</sup> en octubre. Una velocidad similar (0.25 m d<sup>-1</sup>) fue estimada durante los meses de verano del lago Volkerak en Holanda, indicando que 3% del material orgánico producido en la zona pelágica, representado por colonias de *Microcystis* era sedimentado cada día (Verspagen et al., 2005). Las altas temperaturas promueven una estratificación más estable con disminución de la mezcla vertical; el incremento térmico genera que los lagos en zonas templadas se estratifiquen anticipadamente a principio de primavera y se mantengan así hasta pasado el otoño, favoreciendo la permanencia del Cino FAN (Joehnk et al., 2008; Paerl y Otten, 2013). Los escenarios óptimos para su proliferación durante gran parte del año se encuentran en sistemas con temperaturas tropicales, presentándose florecimientos constantes, y no sólo durante primavera y verano como ocurre en sistemas templados (Zafar, 1986).

Asociado a esto, el incremento de la temperatura actúa como un catalizador, permitiendo la expansión del rango geográfico de las cianobacterias en sistemas acuáticos (Paerl y Huisman, 2009). El género *Cylindrospermopsis* es un claro ejemplo de esto, fue descrita como una especie de zonas tropicales/subtropical (Padisák, 1997), y actualmente se ha identificado en Norte América proliferando en ríos, lagos, presas, embalses e incluso en aguas de estuarios oligohalinas (Calandrino y Paerl, 2011). En sistemas epicontinentales mexicanos ya han sido identificadas especies de este género con densidades > 10<sup>8</sup> ind L<sup>-1</sup> durante gran parte del año, y con la capacidad de producir cianotoxinas (Berry et al., 2010; Lind et al., 2015). Muchas investigaciones enfocadas al análisis de su rápida propagación evalúan si esta se debe a su gran plasticidad fenotípica, mientras que otras destacan la existencia de diferentes ecotipos con gran similitud genética (Piccini et al., 2011; Antunes et al., 2015; Abreu et al., 2018).

Otro síntoma anticipado del cambio climático son las alteraciones hidrológicas; largas y más intensas precipitaciones incrementan la escorrentía de nutrientes que son aportados a las cuencas. A corto plazo, la entrada de grandes volúmenes de agua durante las tormentas reduce la biomasa de las cianobacterias debido al aumento en la turbidez, a través de la entrada y resuspensión de sedimentos y por la turbulencia (Reichwaldt y Ghadouani, 2012). Sin embargo, también se promueve la reintegración de células cianobacteriales atrapadas (dormancia) en los sedimentos (Padisák, 2003; Cirés et al., 2013). Si dichos eventos de lluvia intensa son seguidos por períodos de sequía prolongada, largos períodos de residencia de las masas de agua y alta carga de nutrientes, las poblaciones de productores primarios de crecimiento lento pero persistentes, como las cianobacterias, son favorecidos (Moss et al., 2011; Chapra et al., 2017).

Aunado a las características ambientales, factores intrínsecos de las células cianobacteriales también incrementan su ventaja competitiva, *p.ej.* como medida antidepredatoria muchas especies de cianobacterias tienden a cambiar su morfología de unicelular a pluricelular en forma de colonias o filamentos de gran magnitud, reduciendo así, su comestibilidad por exclusión o debido a la interferencia de los apéndices de alimentación (Porter, 1973; De Bernardi y Giussani, 1990; DeMott et al., 2001). No obstante, en algunos casos la ingesta no indica la asimilación, especies provistas de mucílagos gelatinosos no fueron digeridas incluso, además de prevalecer lograron absorber nutrientes durante su estancia en el intestino de *Daphnia*, provocando desnutrición y disminución de un estado saludable (Tillmanns et al., 2008; Zhang y Geng, 2012; Paerl y Otten 2013). A pesar de que las cianobacterias son ricas en proteínas (*p.ej.* la capa proteica-S comprende el 10% de la proteína celular total, las ficobiliproteínas pueden representar el 14% de la biomasa total y el contenido proteico total representa entre un 57 a 71 % de peso seco) (Torzillo et al., 1991; Torzillo y Vonshak, 2013) y han sido utilizadas a nivel mundial como suplemento alimenticio para seres humanos (*Arthrospira*, *Nostoc* y *Aphanizomenon*) (Soeder, 1976), estas suelen ser deficientes en macromoléculas, ácidos grasos (EPA, DHA y Omega-3) (el contenido de lípidos total representa entre el 5 a 8% del peso seco) y fósforo, vitales para el desarrollo y reproducción de los consumidores primarios (Tillmanns et al., 2008; Griffiths y Harrison, 2009).

En especies coloniales la morfología es otro rasgo esencial que les confiere otra ventaja más; el crecimiento poblacional es dependiente de diversos factores como el tiempo de exposición a la luz, siendo de vital importancia maximizar el tiempo en la zona de mejor iluminación, evitando el hundimiento por sedimentación. La velocidad de flotabilidad está relacionada al diámetro de la colonia, por lo tanto, grandes colonias muestran mayores velocidades ascendentes ya que la tasa de flotabilidad de una colonia es proporcional al cuadrado del diámetro de ésta (Rabouille et al., 2005; Zhao et al., 2016). Estudios en campo demuestran que las colonias de *Microcystis* con tamaños superiores a 300  $\mu\text{m}$  pueden contrarrestar la velocidad de hundimiento, incluso resistiendo la mezcla turbulenta, mientras que colonias pequeñas ( $< 36 \mu\text{m}$ ) tienden a dispersarse homogéneamente y son más susceptibles a la sedimentación (Chien et al., 2013; Zhao et al., 2016).

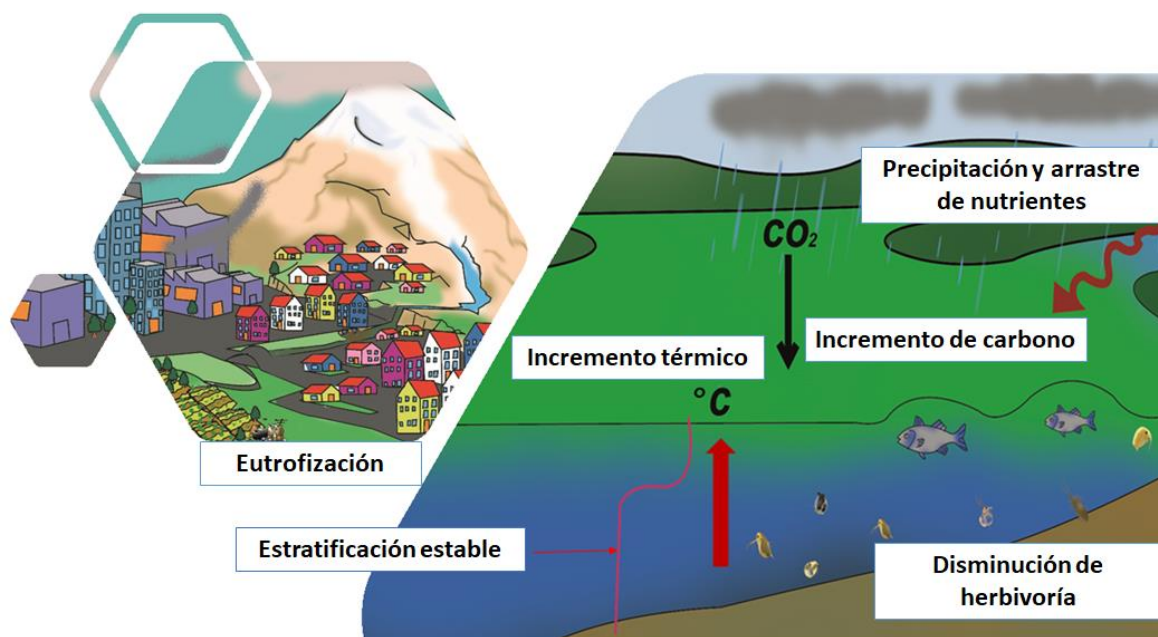


Figura 1.1. Condiciones que influyen en la formación y prevalencia de un Ciano FAN. El proceso de urbanización incrementa la eutrofización de los sistemas acuáticos. El incremento térmico favorece una estratificación estable y suprime la mezcla vertical, permitiendo que las cianobacterias boyantes se ubiquen en la zona del epilimnion con mayor iluminación, y favorece un incremento demográfico. El aumento en el intercambio de dióxido de carbono entre la atmósfera y el medio favorece la disponibilidad de carbono disuelto. El aporte por escorrentía debido a la intensidad de las tormentas, arrastran una mayor concentración de nutrientes a la cuenca de desagüe. La tendencia a formar agrupaciones disminuye la ingesta de células cianoprocariontes por parte de los consumidores primarios (modificado de Huisman et al., 2018).



## Cianotoxinas

Las cianobacterias son capaces de producir metabolitos secundarios que se presentan en una gran variedad de estructuras químicas (Carmichael et al., 2001). Estos compuestos han atraído la atención de los investigadores por dos principales razones, la toxicidad que muchas de estas moléculas pueden provocar, y su aplicación en el área de la biotecnología, explotado comercialmente por la industria de producción alimentaria, cosmética, agroquímica y farmacéutica (producción de inmunosupresores y antitumorales) (Liu et al., 2016). Se han caracterizado más de 800 compuestos metabólicos procedentes de las cianobacterias, entre estos destacan las denominadas cianotoxinas, principalmente por su efecto adverso sobre mamíferos, aves, peces, zooplancton, protozoos y bacterias (Yadav et al., 2011). En términos químicos estos compuestos pueden ser clasificados, de acuerdo con su estructura, en péptidos cíclicos (heptapéptidos *p.ej.* Microcistinas y pentapéptidos *p.ej.* Nodularina), alcaloides (anatoxinas, saxitoxinas y cilindrospermopsina) y lipopolisacáridos (Whitton y Potts, 2012). Además de la clasificación química las cianotoxinas se categorizan de acuerdo con el efecto que ejercen sobre algún órgano o tejido, éstas pueden ser citotoxinas o biotoxinas (hepatotoxinas, neurotóxicas y toxinas irritantes) (Vasconcelos, 2001; Whitton y Potts, 2012; Ibrahim et al., 2012; Huisman et al., 2018). Entre las toxinas producidas por las cianobacterias destacan las Microcistinas, Nodularinas, Saxitoxinas, Cilindrospermopsina, Anatoxinas y BMAA (beta-metilamino-L-alanina) (Vasconcelos, 2001; Huisman et al., 2005).

Cianotoxina	Estructura química	Clasificación y Mecanismos de acción	Principales Géneros productores
Microcistinas	Heptapéptido cíclico	Hepatotoxinas: Inhibición de proteínas fosfatasa eucariotas (PP1 y PP2A). Daño hepático y renal, gastroenteritis, promotor tumoral.	<i>Microcystis</i> <i>Dolichospermum</i> <i>Planktothrix</i> <i>Nostoc</i> <i>Anabaenopsis</i> <i>Leptolyngbya</i> <i>Phormidium</i> <i>Synechococcus</i>
Nodularinas	Pentapéptido cíclico	Hepatotoxinas: Inhibición de proteínas fosfatasa eucariotas. Promotoras de tumoraciones cancerígenas, daño hepático.	<i>Nodularia</i>
Anatoxina-a	Alcaloide bicíclico	Neurotoxina: Agonista de los receptores nicotínicos de la acetilcolina en las uniones	<i>Anabaena</i> <i>Aphanizomenon</i> <i>Cuspidothrix</i>

		neuromusculares. Bloqueador de la despolarización neuromuscular postsináptica. Pérdida de coordinación, espasmos musculares e insuficiencia respiratoria.	<i>Dolichospermum</i> <i>Planktothrix</i> <i>Oscillatoria</i> <i>Phormidium</i>
Anatoxina-a(S)	Alcaloide	Neurotoxina: Inhibidor de la acetilcolinesterasa. Salivación, espasmos musculares e insuficiencia respiratoria.	<i>Dolichospermum</i>
Saxitoxinas	Alcaloide	Neurotoxinas: Bloquea los canales iónicos de sodio de las neuronas eucariotas. Promueve entumecimiento, parálisis e insuficiencia respiratoria.	<i>Aphanizomenon</i> <i>Cuspidothrix</i> <i>Cylindrospermopsis</i> <i>Dolichospermum</i> <i>Lyngbya</i> <i>Planktothrix</i>
Cilindrospermopsina	Alcaloide de guanidina tricíclico	Múltiple toxicidad. Potencial Neurotóxico, genotóxico e inhibidor de la síntesis de proteínas.	<i>Cylindrospermopsis</i> <i>Umezakia</i> <i>Anabaena</i> <i>Oscillatoria</i> <i>Raphidiopsis</i>
BMAA	Beta-metilamino-L alanina (aminoácido no proteico)	Neurotoxina: Estimulación excesiva de los receptores de glutamato en las neuronas e inserción errónea en proteínas cambiando su configuración. Vinculado a enfermedades neurodegenerativas.	<i>Microcystis</i> <i>Nostoc</i> Posiblemente extendido entre más cianobacterias, pero sin consenso aún
LPS	Lipopolisacáridos	Dermatotoxinas: Inflamación y promotores de la producción de citoquinas. Irritación de la piel, fiebre y malestar gastrointestinal.	Todas las cianobacterias

Tabla 1.2: Esquema de cianotoxinas, características y ejemplos de los principales géneros productores (Modificada de Huisman et al., 2018).

Se han identificado varias especies de diferentes géneros con la capacidad de formar Ciano FANs y producir cianotoxinas, entre los cuales están: *Microcystis*, *Dolichospermum*, *Anabaenopsis*, *Planktothrix*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Raphidiopsis* y *Nodularia* (Codd et al., 2005). Más del 50% de los géneros formadores de Ciano FANs son capaces de producir una o más cianotoxinas (Huisman et al., 2005).

Las cianotoxinas son producidas y contenidas dentro de las células; aunque ciertas fracciones son liberadas al medio durante la senescencia del Ciano FAN debido a la muerte o lisis celular (Chorus y Bartram, 1999). Estudios en laboratorio, han demostrado que poblaciones saludables, inclusive durante la fase de crecimiento logarítmico, liberan al medio entre 10 y 20% de la concentración contenida en las células (Negri et al., 1997; Rapala et al., 1997),

incluso, las proporciones de cianotoxinas disueltas llegan a exceder las concentraciones intracelulares (Bumke-Vogt et al., 1999; Kinnear et al., 2007).

Una vez en el ambiente las cianotoxinas tienen persistencia variable de días hasta meses (*p.ej.* la vida media de la microcistinas es de hasta 10 semanas a 40°C y pH de 10), debido a que pueden ser biodegradadas por bacterias, como fuente de carbono o nitrógeno (principalmente del género *Sphingomonas*), fisicoquímicamente desnaturalizadas (*p.ej.* fotólisis) o retenidas por absorción mediante partículas sedimentarias (Gutiérrez et al., 2008; Edwards y Lawton, 2009). A nivel mundial, las microcistinas (MC) son reconocidas como las cianotoxinas más abundantes tanto en ambientes de agua dulce como salobres (Chorus y Bartram, 2000), con cerca de 280 congéneres reportados hasta el momento (Bouaïcha et al., 2019). Las microcistinas no se sintetizan por la ruta ribosómica. La expresión genética del grupo responsable de la síntesis de microcistina (*mcy*) implica la codificación genética de nueve (*Planktothrix*) a diez genes (*Microcystis* y *Anabaena*) (Tillett et al., 2000; Paerl et al., 2016). El género *Microcystis*, es el principal productor de dicha toxina (*p.ej.* *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis novacekii*, *Microcystis panniformis*, *Microcystis protocystis*). Aunque alrededor de 23 géneros como, *Planktothrix*, *Oscillatoria* y *Dolichospermum*, también tienen la capacidad de su biosíntesis como resultado de la transferencia horizontal de genes (Rantala et al., 2004; Catherine et al., 2017).

Aunque el papel ecológico de las cianotoxinas aún se mantiene en debate (Holland y Kinnear, 2013) es evidente su efecto nocivo para muchos organismos acuáticos, en especial herbívoros filtradores (Ger et al., 2014). Sin embargo, un alto grado de variación de la respuesta específica entre las especies zooplantónicas ha sido reportado (Paes et al., 2016). La intoxicación por cianotoxinas puede efectuarse tanto por la ingesta directa de las células productoras o a través de la exposición a las cianotoxinas disueltas en el medio natural (Chorus y Bartram, 1999). El efecto tóxico de las cianobacterias altera la estructura de las comunidades acuáticas afectando la transmisión energética entre los niveles basales de las cadenas alimentarias (Hansson et al., 2007).

El zooplancton de talla pequeña suele ser menos afectados por las cianobacterias productoras de compuestos tóxicos, y a menudo dominan las comunidades durante los eventos de Ciano FANs. Esto en parte, es explicado por el hecho de que no ingieren o presentan baja sensibilidad a las cianobacterias y a sus compuestos tóxicos (Hansson et al., 2007; Figueroa-Sánchez et al., 2014). Además, se ha sugerido que especies pequeñas de cladóceros, desarrollan mayor tolerancia contra las cianotoxinas en comparación con las especies de gran tamaño como *Daphnia* (Guo y Xie, 2006). La depredación por vertebrados es otra fuerza importante que forma la estructura en las comunidades zooplantónicas. Esto implica que, en los lagos eutrofizados, donde la depredación de peces es generalmente alta y el fitoplancton es dominado por cianobacterias los organismos zooplantónicos de gran tamaño se encuentran en medio de una fuerte presión por depredación y por el alimento inconsumible (Hansson et al., 2007).

La exposición a las microcistinas también representa un alto riesgo para los seres humanos. Las microcistinas causan la fosforilación proteica del citoesqueleto, mediante la inhibición de las proteínas fosfatasa 1 y 2A, promoviendo formación de tumores, hemorragias intrahepáticas y necrosis celular (Campos y Vasconcelos, 2010). En China se ha asumido que la alta incidencia de cáncer primario en hígado está directamente relacionada por el consumo prolongado y frecuente de “agua potable” con presencia de microcistinas (Chorus y Bartram, 1999). Dentro de los factores que incrementan el riesgo de contacto y/o ingesta de cianobacterias están las actividades recreacionales. Se han descrito efectos adversos sobre la salud de los bañistas que van desde reacciones alérgicas, irritaciones en la piel hasta un aumento de enfermedades gastrointestinales al exponerse a los florecimientos cianobacteriales (Falconer, 2004). Pilotto et al., (1997), evaluaron el efecto de un Ciano FAN (compuesto de células de *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis* sp., *Anabaena* sp., *Aphanizomenon* sp.) sobre 852 personas durante actividades acuáticas (natación) en el lago Alexandrina (Australia). Los resultados mostraron alta incidencia de vómito, diarrea, resfriado o gripe, úlceras en la boca, irritación ocular, irritación ótica, erupción en la piel y fiebre. Durante prácticas de esquí o remo, los deportistas están expuestos a la inhalación de aerosoles o brisas, sin necesidad de estar en contacto directo con el agua; el efecto por

inhalación se compara a la toxicidad generada por una inyección intraperitoneal (Fitzgeorge et al., 1994).

La mayoría de los trabajos realizados acerca del impacto de las cianobacterias sobre la salud humana han sido enfocados en una exposición directa. No obstante, la evidencia sugiere que estos metabolitos son bioacumulados y transferidos en las cadenas alimentarias acuáticas (Ferrão-Filho y Kozlowsky-Suzuki, 2011). Bioacumulación, se entiende como el proceso mediante el cual concentraciones de sustancias químicas en el tejido de un organismo, exceden la concentración disuelta en el medio, debido a la exposición por todas las vías disponibles (Ibelings y Chorus, 2007).

Las principales vías de acumulación de cianotoxinas en peces son: alimentación directa de especies productoras, como es el caso de organismos omnívoros o fitoplanctívoros (*p.ej.* Carpa plateada). Indirecto, las células epiteliales (piel y branquias) están en contacto con las cianotoxinas disueltas en el medio; sin embargo, este medio ha sido considerado como la forma menos común, debido a la degradación que reduce la disponibilidad de las toxinas disueltas, además, la concentración acumulada también depende de la capacidad del pez de depurar y el tiempo de exposición (Ibelings y Chorus, 2007; Drobac et al., 2016). La exposición por la cadena alimentaria es considerada la tercera vía de entrada de las cianotoxinas. El zooplancton es uno de los enlaces más importantes entre los niveles basales (productores primarios) y consumidores secundarios y terciarios. Así, el zooplancton podría ser un importante vector de cianotoxinas a lo largo de la cadena alimentaria (Ferrão-Filho et al., 2002; Berry et al., 2011). Sin embargo, la literatura disponible sobre la bioacumulación es escasa, sobre todo, se requieren trabajos que analicen la presencia de microcistinas en uno o múltiples componentes de las cadenas alimentarias (Ibelings et al., 2005).

La acumulación de cianotoxinas en organismos acuáticos dependerá de la biodisponibilidad de la cianotoxina, asimilación, el estado fisiológico del organismo acumulador y su capacidad de detoxificación (Greer et al., 2018). Dependiendo del tipo de cianotoxina la mayor acumulación probable estará relacionada al órgano blanco y tejidos asociados (ver clasificación de cianotoxinas), se sabe que los peces acumulan microcistinas distribuidas en sus tejidos, evidentemente, en hígado, vísceras, músculos y otros órganos; las microcistinas

al no ser hidrolizadas por las enzimas peptidasas son adsorbidas a través del torrente sanguíneo, y debido a su gran peso molecular (900 a 1100 Da), no se difunden pasivamente a través de las membranas celulares y requieren de transporte activo mediante polipéptidos que transportan aniones orgánicos (OATP's) (Popovic et al., 2010; Drobac et al., 2013). El consumo de organismos acuáticos de sistemas con presencia *Microcystis* y sus toxinas representan un riesgo potencial para la salud humana (Chorus y Bartram, 1999; Magalhães et al., 2001), en particular especies de peces pequeñas u otros organismos que son consumidas en su totalidad, aumentando la concentración de exposición por esta vía trófica (Berry et al., 2011; Berry et al., 2012).

En México se ha registrado la presencia de Ciano FANs desde hace más de tres décadas y se reconoce que géneros con potencial toxicológico como *Microcystis*, *Planktothrix* y *Anabaenopsis* han dominado desde entonces la biomasa de las poblaciones de fitoplancton (Alcocer et al., 1988). Sin embargo, los primeros reportes de detección de cianotoxinas en los cuerpos de agua de México fueron publicados formalmente 20 años después (Berry y Lind, 2010; Vasconcelos et al., 2010). La detección de cianotoxinas se ha enfocado en la presencia de microcistinas, detectando concentraciones desde 0.03 hasta más de 70  $\mu\text{g L}^{-1}$ . También ha sido confirmada la presencia de cilindrospermopsina y saxitoxinas, acumuladas en tejido y órganos de peces y del caracol *Pomacea patula catemacensis*, todos ellos de importancia comercial en el lago de Catemaco, Veracruz (Berry y Lind, 2010; Berry et al., 2011). Todos los sistemas epicontinentales evaluados proveen servicios ecosistémicos a las poblaciones humanas circundantes. A pesar de esto, no fue hasta el año 2017 que las cianotoxinas comenzaron a considerarse dentro de la normatividad mexicana para aguas superficiales de uso y consumo humano (Norma oficial mexicana PROY-NOM-127-SSA1-2017) (COFEMER, 2017).

Las principales evaluaciones en laboratorios mexicanos se enfocan en experimentos con cepas de cianobacterias provenientes de sistemas naturales con la finalidad de evaluar su potencial uso en biomanipulación, tomando en cuenta la capacidad de los organismos de consumir las células (Fernández et al., 2012; Fernández et al., 2016; Figueroa-Sánchez et al., 2019); evaluación del impacto sinérgico de estresores ambientales (depredación y

competencia) que experimentan las especies filtradoras comúnmente encontradas en cuerpos de agua mexicanos con presencia de Cianobacterias (Fernández et al., 2014); evaluación de los factores ambientales (herbivoría, concentración de nutrientes, temperatura e intensidad de luz) que desencadenan la expresión genética y la síntesis de microcistinas (Pineda-Mendoza et al., 2014; Pérez-Morales et al., 2015; Pineda-Mendoza et al., 2016); efecto antibacterial de compuestos bioactivos aislados de cianobacterias (Gutiérrez et al., 2008); efectos deletéreos ocasionados por exudados, extractos crudos de cepas monoclonales, mezclas de cianobacterias provenientes de sistemas naturales sobre organismos zooplantónicos (Arzate-Cárdenas et al., 2010; Olvera-Ramírez et al., 2010; Pineda-Mendoza et al., 2012; Zamora-Barrios et al., 2015; Zamora-Barrios et al., 2017) o mediante dietas mixtas, compuestas por diferentes proporciones de *Microcystis aeruginosa* y algas verdes (Alva-Martínez et al., 2007a; Alva-Martínez et al., 2007b; Alva-Martínez et al., 2009), y el desarrollo de técnicas de remoción de *Microcystis* y microcistinas mediante coagulación y floculación de la materia orgánica (Sandoval-Reyes y Ramírez-Zamora, 2019).

Debido al interés global por solucionar los problemas de salud pública y la detección oportuna asociados al efecto nocivo de las cianobacterias, se han desarrollado distintas metodologías, categorizadas dependiendo del método analítico en, biológicas, inmunológicas, químicas y moleculares. La cromatografía de alta presión líquida (HPLC), es el método químico más utilizado junto con los detectores UV, PDA y FLD. El fundamento de la técnica se basa en la separación de los componentes de una mezcla, de acuerdo con diferentes tipos de interacciones químicas (como la polaridad) entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica. Para detectar, analizar y monitorear la existencia de las cianotoxinas y otros compuestos químicos en las extracciones.

Hoy en día el método inmunoquímico ELISA es uno de los más sensibles utilizado comercialmente, y ha sido ampliamente recomendado para la detección y cuantificación de microcistinas en agua cruda (florecimientos) o potable y en matrices difíciles como tejidos de animales o plantas, sedimentos, incluso en orina y plasma de seres humanos (Foss y Aabel 2013; Moreira et al., 2014). Los kits monoclonales se basan en la competencia entre la microcistina disuelta en las muestras y la microcistina-LR, marcada con la enzima peroxidasa

(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (enzima conjugada), por los sitios limitados de unión (anticuerpo específico), ubicados en la superficie de los pocillos de la prueba. Entre mayor número de enlaces ocurra entre la microcistina marcada y los anticuerpos, se expresará una coloración intensa indicando baja concentración, y viceversa (Ueno et al., 1996; Adamovsky et al., 2007). A pesar de que, podría tener reacción cruzada de algunas variantes de microcistinas (LR, LA, RR y YR) la USEPA (United States Environmental Protection Agency) (USEPA, 2012, 2015), ha recomendado el kit inmunológico de ELISA como la herramienta analítica primaria para la cuantificación de estos metabolitos secundarios en los sistemas acuáticos, debido a la rapidez con la que se pueden obtener resultados de su presencia y sus concentraciones. Además, estos inmunoensayos ofrecen la capacidad de detección por debajo de los valores de referencia establecidos por la OMS y otras agencias de carácter ambiental, mediante procedimientos simples que utilizan instalaciones mínimas y sin la necesidad de concentrar previamente las muestras (Sheng et al., 2006).

<b>Método</b>	<b>Desventajas</b>	<b>Ventajas</b>
Kits Inmunológicos de ELISA	Costo (400-500 \$) Sin información química, p. identificación de variantes químicas Sin información de toxicidad	Altamente sensible (<ppb) Rápido / analizar múltiples muestras a la vez Fácil / poco entrenamiento requerido Instrumentación relativamente económica (lectores de placas)
Inhibición de fosfatasas	Sin información química identificación de diversas variantes químicas Sensibilidad menor Baja selectividad, falsos positivos	Proporciona información de toxicidad. Relativamente económico (reactivos) Rápido de analizar en múltiples, se requiere entrenamiento fácil Relativamente económico
HPLC/CE-UV	Baja sensibilidad Baja selectividad, p. falsos positivos Requiere entrenamiento Información química limitada, p. no puede identificar variantes desconocidas Moderadamente caro instrumentación Relativamente lento / no se puede analizar múltiples muestras a la vez Requiere limpieza de muestra	Proporciona información química, p.ej. puede identificar variantes químicas (si estándares disponibles) El análisis puede ser automatizado
HPLC/CE-FL	Requiere derivatización	Altamente sensible



	Selectividad algo baja, p. Ej. falso positivos Requiere entrenamiento Información química limitada, p. no puede identificar incógnitas Moderadamente caro instrumentación Relativamente lento / no se puede analizar múltiples muestras a la vez Requiere limpieza de muestra	Proporciona información química, p.ej. puede identificar variantes químicas (si estándares disponibles) El análisis puede ser automatizado
HPLC/CE-MS	Requiere entrenamiento Instrumentación costosa Relativamente lento / no se puede analizar múltiples muestras a la vez Requiere (alguna) muestra de limpieza	Proporciona información química, p. puede identificar variantes químicas (si estándares disponibles), posible información sobre incógnitas El análisis puede ser automatizado

Tabla 1.3. Limitaciones y ventajas de las diferentes técnicas analíticas, utilizadas para la detección/medición de cianotoxinas (modificado de Berry, 2013).

El efecto del aumento de las temperaturas como parte del cambio climático se puede evaluar con base a estudios de observación a largo plazo o experimentos de laboratorio (Alcocer et al., 2015). Varios estudios indican que el zooplancton se vuelve más sensible a los tóxicos a altas temperaturas (Deng y Xie 2003; Gama-Flores et al., 2015). Resulta de vital importancia, el desarrollo de bioensayos para conocer los efectos de las cianotoxinas en las cadenas alimentarias (Ibelings et al., 2005). El zooplancton, principalmente rotíferos y cladóceros, han sido utilizados para ensayos toxicológicos debido a la extensa información de sus características morfológicas externas e internas, su fisiología, los patrones de distribución en los sistemas epicontinentales, sus ciclos de vida, comportamiento ecológico e interacciones, entre otros. Además, existen ventajas en su manipulación que facilitan y agilizan los ensayos, como es su baja variabilidad genética entre generaciones, su pequeña talla, conocimiento de sus requerimientos bióticos y abióticos, su reproducción en cortos períodos de tiempo y su sensibilidad a cambios en la calidad del agua por contaminantes tóxicos (Snell y Janssen 1995; García-García et al., 2007; Dahms et al., 2011). Adicionalmente, el zooplancton tiene un papel fundamental en los procesos ecológicos de las comunidades acuáticas, al ser los encargados de transferir la energía de los productores primarios a los consumidores secundarios y terciarios dentro de las cadenas alimentarias (Guo et al., 2012). Por esto, se busca exponerlos a condiciones cercanas a las que están expuestos en los ambientes naturales.

Sin embargo, existe un sesgo en la información respecto a los efectos de Ciano FANS en campo y sus toxinas sobre especies de zooplancton tropicales, la mayoría se enfocan en evaluar efectos de cepas aisladas sobre organismos de zonas templadas (Sotero-Santos et al., 2006; Okumura et al., 2007). El efecto de las cianotoxinas es a menudo evaluado mediante la extracción de los compuestos activos de cultivos de cianobacterias bajo condiciones de laboratorio. En las últimas décadas diversos estudios han sido conducidos mediante extractos o exudados (moléculas liberadas de células de cianobacterias intactas) de florecimientos de cianobacterias colectadas directamente de campo. Los extractos crudos son el contenido intracelular posterior a la lisis de la membrana celular, mediante agentes químicos (solventes) o métodos físicos (baños ultrasónicos, ciclos congelación/descongelación, homogenización mecánica y maceración manual) (B-Béres et al., 2012). La ventaja de estudiar los extractos crudos es que los resultados abarcan los efectos sinérgicos o antagónicos de las cianobacterias y sus toxinas, de esta forma podrían extrapolarse los hallazgos en el laboratorio a las condiciones naturales (Zamora-Barrios et al., 2017).

### **Justificación**

México cuenta con más de 730 cuencas hidrográficas y 6000 sistemas epicontinentales de gran importancia biológica, social y cultural (Alcocer y Bernal-Brooks, 2019), Un alto porcentaje de ellos presentan problemas de eutrofización y propiciando condiciones favorables para la proliferación de florecimientos de cianobacterias productoras de toxinas, favoreciendo la reducción drástica de la diversidad y abundancia de especies que habitan dichos sistemas acuáticos.

Desde principios de los años 90, la Secretaria de Salud ha coordinado acciones de Control Sanitario en los estados que cuentan con litoral, en especial en zonas donde se han presentado fenómenos de Marea roja. Se ha desarrollado el Plan Nacional de Marea Roja, en el cual se contemplan monitoreos permanentes en zonas de alto riesgo y se realizan acciones de fomento sanitario, antes, durante y después de la ocurrencia de los eventos (Cofepris, 2004). Por otro lado, no se han desarrollado planes de contingencia para cuerpos de agua interiores con presencia de Ciano FANS, a pesar de que existen agencias internacionales como la Organización Mundial de la Salud y la Agencia Internacional de Investigación sobre el

Cáncer han reconocido a las cianotoxinas como sustancias peligrosas para la salud humana. La exposición a las cianotoxinas puede ocurrir por ingestión de agua potable contaminada, inhalación y contacto dérmico durante eventos recreativos, consumo de plantas cultivadas irrigadas con presencia de cianotoxinas, productos acuáticos contaminados y suplementos alimenticios, y por vía intravenosa durante la hemodiálisis con agua contaminada. Entre los casos más renombrados se encuentra el de Caruaru, Brazil, donde las altas concentraciones de cianotoxinas en el medio para hemodiálisis, ocasionaron falla hepática fatal e intoxicaciones con trastornos visuales, náuseas, vómitos y debilidad muscular. Asimismo, en una provincia australiana, se llevó a hospitalización de más de 140 niños que consumieron agua de una presa con presencia *Cylindrospermopsis raciborskii*.

Entre las biotoxinas producidas por las cianobacterias, los péptidos cíclicos (microcistinas y nodularinas), representan el mayor riesgo de la salud pública, debido a su especificidad hepatotóxica en mamíferos. La mayoría de los trabajos realizados acerca del impacto de las cianobacterias sobre la salud humana, han sido enfocados en una exposición directa, mediante el consumo de agua; sin embargo, investigaciones científicas demostraron que estos metabolitos secundarios son bioacumulados en las cadenas alimentarias acuáticas y el consumo de organismos provenientes de sitios con presencia de Ciano FANs tóxicos, representa un riesgo de salud pública.

El Valle de México es una cuenca endorreica, que en sus orígenes llevó a la formación de diferentes cuerpos lacustres de gran importancia para el esplendor de la ciudad prehispánica de Tenochtitlan, entre ellos destacan: lago de Zumpango, Xochimilco, Texcoco, Chalco y Xaltocán; lugares donde los Aztecas florecieron como imperio. Actualmente, estos cuerpos de agua han sufrido drásticos cambios quedando solo reminiscencias de ellos (CNA, 2003). El lago de Zumpango es un embalse que además de utilizarse para riego agrícola, está destinado para recreación y ecoturismo, así como actividades de pesca y comercio de productos consumibles provenientes del cuerpo de agua como, Tilapia y Charal. Un Ciano FAN es visible a lo largo del año, compuesto principalmente por cianobacterias de los géneros *Plankthrothrix* y *Microcystis*. De acuerdo con Vasconcelos et al., (2010) el 99.7% de los productores primarios es representado por altas densidades de cianobacterias ( $1.4 \times 10^6$

cells/ml), con una alta producción de microcistinas ( $62.4 \mu\text{g L}^{-1}$ ), posicionándolo como uno de los sistemas epicontinentales con mayor concentración de esta toxina en México.

La OMS, ha establecido un valor guía de  $0.04 \mu\text{g/Kg/d}$  para consumo diario tolerable de productos contaminados con microcistinas. Diversos estudios han revelado que existe bioacumulación de cianotoxinas en algunos niveles tróficos. Tanto *Oreochromis niloticus* como *Chirostoma jordani* son especies comunes en el lago Zumpango, formando una parte importante de la dieta de las comunidades locales aledañas. Por esta razón, es indispensable evaluar los cambios estacionales en la producción de microcistinas, y la acumulación en diversos niveles tróficos en el lago Zumpango. Además de estimar el potencial riesgo de la acumulación de cianotoxinas en productos comercializados provenientes del sitio de estudio y su relación con las fracciones de microcistinas particuladas y disueltas.

Existe evidencia que demuestran los efectos deletéreos que pueden llegar a tener las cianotoxinas sobre muchos organismos zooplantónicos. Sin embargo, estos son ampliamente variables entre géneros, especies e incluso entre clones de una misma especie (Hietala et al., 1997; Sivonen y Jones, 1999). Esta variación puede promover cambios en las características morfológicas, fisiológicas y conductuales, seleccionando a las especies o genotipos más tolerantes (Hairston et al., 1999; Gustafsson et al., 2005; Hansson et al., 2007). Varios estudios también han demostrado que algunas especies zooplantónicas tienen la capacidad de coexistir y crecer en presencia de cianotoxinas extracelulares (disueltas), e incluso algunas tienen la capacidad de desarrollar tolerancia fisiológica, al ser expuestas, debido a su historia de coexistencia en ambientes eutrofizados (Alva-Martínez et al., 2007; Ferrão-Filho y Kozlowsky-Suzuki, 2011). Es de suma importancia desarrollar experimentos que nos permitan pronosticar y evaluar los riesgos de la exposición de algunos organismos seleccionados a las nuevas condiciones que experimentarán como, cambios en las características fisicoquímicas del medio. Los extractos crudos cianobacteriales son un método que permite comprender lo que podría estar ocurriendo en un medio natural con sobrepoblación de cianobacterias tóxicas. Además, este tipo de bioensayos generan información útil para lograr la protección de la diversidad que integra la biota de un ecosistema.

## Área de estudio

### *Descripción general del lago de Zumpango*

El lago de Zumpango (conocido localmente como laguna), se localiza entre los municipios de Zumpango de Ocampo y Teoloyucan, Estado de México a una altitud de 2250 msnm entre los 19° 48' latitud N y 99° 06' longitud O. Presenta una superficie de 1865 hectáreas con un volumen aproximado de 5.37 millones de m<sup>3</sup>, pero tiene una capacidad de almacenamiento de 100 millones de m<sup>3</sup>; profundidad máxima de 3 m en la zona pelágica, por tanto es considerado un sistema somero, polimíctico porque la columna de agua se mezcla constantemente debido al efecto del viento. Junto con Xochimilco, Texcoco, Chapultepec, Chalco y Xaltocán, Zumpango conformó la parte norte de la cuenca lacustre del valle de México (Arango-Galván et al., 2011; IMTA, 2012).

Sampling stations from Lake Zumpango



Figura 1.2. Mapa del Lago de Zumpango (Estado de México), indicando los sitios de muestreo.

## Hidrografía

El lago de de Zumpango pertenece a la Región Hidrológico-Administrativa XIII, Aguas del Valle de México y Sistema Cutzamala, conformada por municipios de los estados de México, Hidalgo y Tlaxcala, y 16 delegaciones del Distrito Federal. La carga de agua recibida es influida por el sistema de cuencas del Valle de México, río Tula y de la subcuenca del río de las avenidas de Pachuca (IMTA, 2012). Sin embargo, debido al bordo que rodea el lago, los afluentes naturales dejaron de abastecerla. Desde el año de 1976, ha fungido como receptor de aguas residuales excedentes, provenientes de la Ciudad de México mediante el vaso regulador emisor poniente que conecta con el Canal de Santo y el Río Cuautitlán (CONAGUA, 2014; Reyes-Cardoso, 2017). De acuerdo con el H. Ayuntamiento de Zumpango, la entrada de agua residual se encuentra en una proporción de 80:20 (IMTA, 2012). Actualmente en su mayoría el agua es utilizada para el riego de cultivos agrícolas aledaños, además es considerado un lugar de recreación donde se llevan a cabo actividades como paseos en lancha, pesca y consumo de peces del lugar (CNA, 2003).

### **Geología**

El lago de Zumpango al igual que los sistemas acuáticos que forman parte de la cuenca del Valle de México, tiene su origen geológico en los sedimentos marinos plegados del Mesozoico (cretácico), hace más de 70 millones de años. Sin embargo, la mayor parte de los materiales que la constituyen actualmente son de origen volcánico y corresponde a los períodos geológicos del Paleógeno o Terciario y el Cuaternario (Alcocer y Bernal-Brooks, 2010).

Al inicio del Pleistoceno, la cuenca era exorreica y drenaba sus aguas hacia el Valle de Cuernavaca, conectada al antiguo río balsas (Díaz-Rodríguez, 2006). Se convierte en endorreica debido a las elevaciones en el relieve provocadas por la actividad volcánica y sísmica, concluyendo en la formación del campo volcánico de Chichinautzin, hace más de 700,000 años (Ver Tabla.1). (Vázquez-Sánchez y Jaimes-Palomera, 1989; De la Lanza y García caldero, 1995; De la Lanza, 2007).

De acuerdo con el mapa geológico de la INEGI (2009), la estructura del lago de Zumpango está configurada en mayor medida por material sedimentario lacustre (arcillas y arenas), que

forman parte del margen del cuerpo de agua, depositados entre el periodo Cuaternario y Neógeno, además de rocas ígneas extrusivas de basalto, originadas por la actividad volcánica y provenientes del cerro de Zitlaltepec, la zona de mayor pendiente de la laguna (> 2500msm) (Canul, 2016).

Era	Periodo	Época	Eventos Geológico
Mesozoico	Cretácico	Temprano	Durante el Aptiano-Turoniano, prevaleció la sedimentación marina calcárea (depósito de 2.000 m de calizas, areniscas y lutitas).
		Tardío	Entre el Conaciano y Campaniano, la sedimentación cambia a tipo Flysch. Maestrichtiano-Eoceno, las secuencias comienzan a plegarse, como consecuencia de la orogenia laramide.
Cenozoico	Paleógeno	Eoceno	Eoceno-Oligoceno, fallamiento normal junto con desplazamiento lateral derecho. Sedimentación clástica continental tipo molasa y con efusiones fisulares basálticas alcalinas. Depósito de sedimentos volcánicos, fluviales y lacustres en el graben.
		Oligoceno	Oligoceno-Mioceno, hay rocas volcánicas calci-alcalinas de composición variable de andesita a riolita. Formación de la Sierra Madre Occidental.
	Neógeno	Mioceno	Depósito de flujo de lava y materiales piroclásticos. Mioceno-Plioceno, formación de la sierra de las cruces.
		Plioceno	Fallas normales representadas por andesitas basálticas, andesitas y dacitas calci-alcalinas. Comienza la formación del arco volcánico transmexicano. Surge la sierra de las cruces, Zempoala y Río frío. Surge la Sierra de Guadalupe y Tepotzotlán. Surge Sierra de Monte alto. Plioceno-Pleistoceno, depósitos de abanicos aluviales y de Piamonte en las regiones Este y Oeste de la cuenca.
	Cuaternario	Pleistoceno	Erupciones volcánicas de basalto y pómez en la parte central y sur de la cuenca. Formación de llano grande (Actualmente volcán Iztaccíhuatl). Formación de Nexpayantla (Actualmente volcán Popocatepetl).
		Holoceno	Formación del campo volcánico Chichinautzin. La cuenca se vuelve endorreica. Sedimentos clásticos y piroclásticos producto de la actividad volcánica del Popocatepetl y la sierra Chichinautzin, se depositan en un ambiente lacustre, con una altitud promedio de 2200m, desde Zumpango hasta Chalco.

Tabla 1.4. Principales eventos geológicos que llevaron a la formación de la cuenca de México (elaborado por Zamora-Barrios, 2020 con información de Vázquez-Sánchez y Jaimes-Palomera, 1989; De la Lanza y García caldero, 1995; Díaz-Rodríguez, 2006; De la Lanza, 2007; Alcocer y Bernal-Brooks, 2010).

### Edafología.

Respecto a la edafología que conforma el límite de la laguna; los suelos predominantes en orden de cobertura son: Feozem (> 70%), Vertisol, Cambisol y Leptosol (IMTA,2012).

Feozem: Suelos de color oscuro debido a su horizonte superficial rico en materia orgánica. Se constituyen a partir de un amplio rango de material consolidado, el relieve suele ser llano o levemente ondulado y con vegetación asociada de matorral tipo estepa. Considerados aptos para cultivo por su alta fertilidad, pero sumamente proclives a la erosión. Generalmente ubicados recubriendo el eje Neovolcánico Transversal y fracciones de la Sierra Madre Occidental.

Vertisol: Suelos constituidos por materiales sedimentarios con una elevada proporción de arcillas, se encuentran en depresiones de áreas llanas o con ondulaciones suaves. Son profundos muy compactos al secarse, pero lodosos al humedecerse. La fertilidad es intrínsecamente baja con vegetación tipo sabana, praderas o zonas con vegetación herbácea leñosa.

Cambisol: Son suelos caracterizados por formaciones de minerales de arcilla y óxidos de hierro debido a la remoción o lavado de carbonatos, se desarrollan sobre minerales de alteración procedentes de un amplio abanico de rocas, entre ellos destacan los depósitos de carácter eólico, aluvial o coluvial; típicos de zonas templadas, pero están presentes también en áreas montañosas y desiertos.

Leptosol: Suelos caracterizados por su escasa profundidad, compuestos de rocas variadas como de material no consolidado con menos de 10% de tierra fina, típicos de topografías elevadas de pendiente pronunciada. Debido a que son ricos en materia orgánica en algunos casos son excelentes para la producción agrícola. Los suelos de este tipo son típicos de la zona de la península de Yucatán, en la Sierra Madre Oriental y Occidental.

### **Vegetación y Fauna**

La presencia de vegetación típica de zonas semiáridas cubre la mayor proporción de los suelos de la región, compuesta por matorral xerófilo, pastizales (halófilo), con escasos manchones de bosque de encino. La flora es conformada de *Opuntia vulgaris*, *Shimus molle*, *Cupressus* sp. (ciprés), *Fraximus* sp. (fresno), *Quercus* sp. (encino), además de algunas



especies introducidas durante la restauración o reforestación como *Eucalyptus* sp. y *Jacaranda mimosifolia* (Ortíz-Fernandez, 2013).

La fauna circundante al lago de Zumpango es caracterizada por especies representativas de la zona Neártica, propia de sierras montañosas y lomeríos. Es simbolizada por mamíferos, aves (en su mayoría acuáticas), reptiles, anfibios, peces (*Oreochromis niloticus* y *Chirostoma jordani*) y artrópodos invertebrados. La fauna local la componen tlacuaches, conejos, ratas de campo, zorrillos, onzas, tuzas, tejones, ardillas, búhos, zopilotes, garzas, patos, gallinas de agua, colibríes, golondrinas, verdines, pichones, alicantes, víbora de cascabel, ajolotes, camaleones, lagartijas, sapos, ranas y variedades de insectos como arañas, colmenas, abejas, saltamontes, grillos, mariposas, escarabajos, entre otros (IMTA,2012; Reyes-Cardoso, 2017).

### **Clima**

En el municipio de Zumpango de Ocampo predominan dos tipos de clima, semiseco con lluvias en verano que abarca más del 59% del territorio municipal y templado subhúmedo también con precipitaciones pluviales en verano, que se presenta en el resto del territorio (40.59%). En el lago de Zumpango el clima que predomina es el cálido subhúmedo con una temperatura media anual de 14 a 18°C, con mínimas de -3°C y máximas de 31°C. La precipitación promedio es de 600 a 800 mm anuales, con abundantes precipitaciones de junio a septiembre (estación de lluvias) y heladas ocasionales de septiembre a febrero (periodo estacional- secas frías) (IMTA,2012; Reyes-Cardoso, 2017).

## **Capítulo II**

# **Análisis de la comunidad del zooplancton con relación a las características ambientales y la presencia de cianobacterias productoras de microcistinas**

## Capítulo II

### **Análisis de la comunidad del zooplancton con relación a las características ambientales y la presencia de cianobacterias productoras de microcistinas: Un caso de estudio en el lago de Zumpango**

#### **Resumen**

El lago Zumpango formó la zona norte del que fuera el embalse más importante del gran lago del valle de México durante el siglo XVI. Hoy en día, este reservorio almacena aguas residuales parcialmente tratadas provenientes de la Ciudad de México, provocando un aumento excesivo en la concentración de fosfatos y nitratos (0.7- 3.4 y 0.9- 28.8 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente), y promoviendo la persistencia de un Ciano FAN (florecimientos de algas nocivas) productor de cianotoxinas compuesto de altas densidades de cianobacterias como, *Planktothrix cf. agardhii*, *Microcystis aeruginosa*, *Cylindrospermopsis sp.* *Aphanizomenon sp.* y *Dolichospermum planctonicum*, que altera la abundancia y diversidad de especies del zooplancton, favoreciendo a los organismos tolerantes o con adaptaciones para minimizar los efectos nocivos asociados con las concentraciones de microcistina-LR. Mensualmente durante un ciclo anual, caracterizamos este sistema epicontinental a través de las variables fisicoquímicas y las fracciones de microcistinas particuladas y disueltas. Además, evaluamos la variación estacional y la diversidad de especies de zooplancton (rotíferos, cladóceros y copépodos). Las muestras de zooplancton se recolectaron mensualmente filtrando 80 L de agua superficial con un tamaño de malla de 40 µm. Registramos 21 especies de rotíferos y 7 especies de microcrustáceos donde *Keratella cochlearis* (> 10,000 ind L<sup>-1</sup>) y los nauplios de los copépodos *Acanthocyclops americanus* y *Mastigodiatomus albuquerquensis* (> 800 ind L<sup>-1</sup>), mostraron las densidades más altas. La mayor abundancia (108,090 ind ml<sup>-1</sup>) y dominancia de *Microcystis aeruginosa* y las concentraciones de microcistina-LR se encontraron en octubre y diciembre (promedio de 45.6 y 25.5 µg L<sup>-1</sup>) asociado con bajos valores del índice de diversidad de Shannon-Wiener (0.88 y 1.5 Bits ind<sup>-1</sup>). Los análisis multifactoriales muestran que algunas especies de rotíferos micrófagos dominantes se relacionaron positivamente con la presencia de cianobacterias y con sus metabolitos secundarios. Las relaciones obtenidas se han discutido con énfasis en la importancia del

monitoreo regular de los cuerpos de agua en México para probar los impactos ecológicos de los Ciano FANs.

### **Introducción**

Las comunidades son un sistema de poblaciones enlazadas por interacciones que pueden ser directas a través de un encuentro físico entre los interactuantes (depredador-presa, parasito-hospedero, comensalismo, mutualismo, simbiosis) o indirectas (competencia por explotación de recursos, señalización química) (Brönmark y Hansson, 2012). Las poblaciones están conformadas por un conjunto de individuos que forman un grupo reproductivo discreto con un acervo genético en común en un espacio particular y un tiempo determinado y tienen propiedades como, un tamaño o densidad (variable) y patrones de distribución espacial específicos (Moss, 2018). La estructura y dinámica de las poblaciones plantónicas son el resultado del conjunto de condiciones ambientales fluctuantes (hábitat, factores bióticos y abióticos) que experimentan los individuos y de sus respuestas fisiológicas ante ellas (Lampert y Sommer, 2007). Las características fisicoquímicas juegan un importante rol estructurando las comunidades acuáticas, debido a que la composición de especies dependerá de sus límites fisiológicos (tolerancia) a las cambiantes condiciones fisicoquímicas del medio (Dodson, 2004; Lampert y Sommer, 2007). También, la diversidad (riqueza y la abundancia) de las especies será dependiente de las interacciones ecológicas entre organismos de un sistema específico (Krebs, 2008).

Los procesos de industrialización y urbanización promueven un aumento desmedido de desechos que se vierten hacia los sistemas lacustres. Este incremento desencadena cambios descomunales en la concentración de nutrientes inorgánicos como el fósforo y el nitrógeno, enriqueciendo las aguas naturales, un proceso denominado como eutrofización antropogénica o contaminación por nutrientes (Moss, 2018). Las cianobacterias son uno de los grupos planctónicos beneficiados por el constante aporte de nutrientes esenciales y en conjunto con las condiciones ambientales propicias como, el incremento térmico a causa calentamiento global que, promueve su expansión y permanencia, aumenta su biomasa de manera acelerada a tal grado de exceder las pérdidas a través de procesos biológicos y físicos, ocasionando fenómenos de incremento masivos (Ciano FANs) (Paerl y Otten 2013; Ger et al., 2014). Los

Ciano FANs pueden representar más del 80% de la biomasa total del fitoplancton en un sitio eutrofizado, impidiendo el desarrollo de otros productores primarios, promoviendo su dominancia y disminución de la diversidad (Mihaljević y Stević, 2011).

La formación de un Ciano FAN puede repercutir en la calidad del agua debido a la acumulación de la materia orgánica y disminuir la transparencia del agua que perturba a la vegetación acuática sumergida. Las cianobacterias producen compuestos de sabor y olor que, interfieren con la función recreativa de los sistemas acuáticos o su uso como depósitos de agua potable. La degradación microbiana de los florecimientos senescentes promueve cambios drásticos en las concentraciones de oxígeno generando periodos de hipoxia y anoxia, que ocasionan la muerte de organismos bentónicos, nectónicos y planctónicos, generando indirectamente una drástica disminución de la biodiversidad (Oberholster et al., 2006; Codd, 2005; Paerl y Otten, 2013; Huisman et al., 2018). También, se ha identificado que más del 50% de los géneros formadores de Ciano FANs son capaces de producir cianotoxinas. El aumento y la persistencia de las poblaciones cianobacteriales se ha convertido en una problemática de carácter mundial, y entre las cianotoxinas el grupo más estudiado son las microcistinas debido a su alta concentración en los cuerpos de agua (Magalhães et al., 2001). Por esta razón, Organización Mundial de la Salud estableció límites permisibles de concentraciones de microcistina-LR, de acuerdo con el propósito de la fuente de agua (Chorus y Bartram, 1999).

Las microcistinas-LR (MC-LR) son las cianotoxinas más abundantes en los sistemas acuáticos epicontinentales y fueron denominadas así porque su estructura molecular contiene a los aminoácidos leucina (L) y arginina (R) (Spoof y Catherine, 2017). El género *Microcystis* es el principal productor; sin embargo, también son producidas por varios géneros planctónicos y bentónicos como, *Anabaena*, *Phormidium*, *Planktothrix*, *Nostoc*, *Limnothrix*, *Anabaenopsis*, *Aphanocapsa*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, etc. En poblaciones naturales, su producción depende de la composición y el predominio de cepas de cianobacterias con el gen (*mcy*), el estado trófico, parámetros hidrológicos, competencia, depredación, intensidad de la luz, y la temperatura (Merel et al., 2013; Díez-Quijada et al., 2019). Actualmente, se han reportado consorcios de especies productoras de microcistinas

en más de 80 países (Spooft y Catherine, 2017). En México, especialmente en los cuerpos de agua del centro se ha reportado que éstas constituyen más del 75% de la población en lagos y embalses especies (Vasconcelos et al., 2010).

Entre los miembros planctónicos, el zooplancton es un eslabón importante en las cadenas tróficas acuáticas, encargado del flujo energético entre diversos niveles tróficos en las comunidades. La composición su estructura de la comunidad puede indicar el tipo de transferencia proveniente de los productores primarios (Anderson et al., 2005). Una de las investigaciones de mayor relevancia en el estudio de las comunidades acuáticas es la cadena alimentaria que explica cómo es que las poblaciones planctónicas son reguladas por el tipo, calidad y disponibilidad de los suministros alimenticios (Carpenter y Kitchell 1988; Gulati y DeMott, 1997). Existen diferentes mecanismos detrás del estrés ambiental promovido por la adición de cianobacterias en la dieta de especies del zooplancton, manifestado en la reducción de sus abundancias demográficas. Las cianobacterias suelen ser deficientes en macromoléculas, ácidos grasos (EPA, DHA, Omega 3) y fósforo, vitales para regular sus funciones celulares de crecimiento y reproducción, indicando ser un suministro de baja calidad nutricional, decrementando las tasas de crecimiento de los organismos que se alimentan únicamente de ellas (Müller-Navarra, 2008; Bednarska et al., 2014). Las colonias o agregados de filamentos convierten a las cianobacterias en partículas inconsumibles debido a su gran tamaño, promoviendo la obstrucción de los apéndices alimentarios o reducción de las tasas de filtración (Gliwicz y Lampert, 1990; Ger et al., 2014). Inclusive si éstas llegaran a ser ingeridas, esto no indica su digestión, especies provistas de un mucílago gelatinoso pueden persistir adsorbiendo nutrientes durante su estancia en el intestino de organismos zooplantónicos, provocando desnutrición y disminución de un estado saludable (Porter, 1973; Tillmanns et al., 2008; Zhang y Geng, 2012). Aunque el papel ecológico de las cianotoxinas aún se mantiene en debate (Holland y Kinnear, 2013), es indiscutible su efecto nocivo sobre invertebrados acuáticos filtradores, proveyendo un ventaja en contra de la herbívora, ocasionando efectos letales o crónicos a través de la ingesta o por el contacto con la fracción disuelta en el medio que altera sus tasas de filtración y la supervivencia, promoviendo regurgitación de las partículas tóxicas y generando aletargamiento o parálisis (Zanchett y Oliveira-Filho, 2013; Ger et al., 2014; Tönno et al., 2016).

Los rotíferos, cladóceros y copépodos son a menudo el componente dominante de los consumidores primarios en los ecosistemas epicontinentales (Thorp y Covich, 2009). Estudios en campo sugieren que en sistemas eutrofizados las cianobacterias y sus toxinas son uno de los mecanismos detrás de cambios en la estructura de la comunidad de especies del zooplancton; sin embargo, existen especies con capacidad de coexistir y crecer en presencia de cianobacterias y sus compuestos metabólicos, debido al desarrollo de tolerancia fisiológica por su historia de coexistencia (Ramírez-García et al., 2002; Ferrão-Filho y Kozlowsky-Suzuki 2011; Zamora-Barrios et al., 2017). La formación de CianoFANs desplazan a las comunidades de zooplancton hacia la dominancia de especies más pequeñas o selectivas (Figueroa-Sánchez et al., 2014; Solis et al., 2018). Esto es explicado por el hecho que, herbívoros más pequeños, *p.ej.* rotíferos, son marginalmente afectados por la depredación por peces zooplanctívoros; no ingieren especies coloniales o filamentosas y presentan alta tolerancia a las cianotoxinas extracelulares, no obstante, incluso entre los rotíferos, existen diferencias en la susceptibilidad o sensibilidad (Fulton and Paerl, 1987; Gilbert, 1990).

De acuerdo con datos de la red nacional de medición de la calidad del agua (RENAMECA, 2019), en el país cerca del 40% de los sistemas lenticos (> 6000 embalses y lagos) están eutrofizados y tan sólo el 17% presenta un estado oligotrófico. El lago Zumpango formó parte del gran lago del Valle de México sobre el que se construyó la ciudad de Tenochtitlan durante el apogeo de la civilización Azteca. Desde 1976, este lago se ha rellenado con agua tratada proveniente de la ciudad de México, formando así, parte de los sistemas con alteración trófica negativa que promueve floraciones densas de especies de cianoprocariontes productores de microcistinas (Vasconcelos et al., 2010; Figueroa-Sánchez et al., 2020). Esto representa un riesgo para la biota local y la salud humana porque el uso principal del agua del lago es el riego de cultivos agrícolas, esparcimiento recreativo y la acuicultura. Por esto, resulta de vital importancia la gestión de los cuerpos de agua a través de monitoreo a largo plazo.

## Antecedentes

La estructura de las comunidades zooplanctónicas es influenciada tanto por factores bióticos como abióticos, bajo este supuesto Figueroa-Sánchez et al., (2014) generaron la hipótesis que, la presencia de las cianobacterias se debe a la dominancia de zooplancton de talla pequeña (<200  $\mu\text{m}$ ). Con la finalidad de confirmarlo, colectaron, identificaron y cuantificaron, a lo largo de un año, la abundancia del zooplancton de la zona superficial del embalse de Valle de Bravo, Estado de México, México, además, obtuvieron la concentración de microcistinas disueltas en diversos puntos de muestreo. La comunidad fue representada por 25 diferentes especies de rotíferos, donde *Keratella cochlearis* presentó la mayor densidad (840 ind  $\text{L}^{-1}$ ), 4 especies de cladóceros, siendo *Bosmina longirostris* el taxón dominante con una densidad superior a 100 ind  $\text{L}^{-1}$ . El fitoplancton fue dominado por diatomeas y clorofitas, con presencia de las cianobacterias de los géneros *Anabaena* y *Microcystis*. La concentración de microcistinas a lo largo del año osciló en un rango de 0.5 a 0.7  $\mu\text{g L}^{-1}$ , por debajo de la concentración recomendada por OMS de 1  $\mu\text{g L}^{-1}$  para aguas de consumo humano.

Figueroa-Sánchez et al., (2020). Estudiaron la variación estacional de tres componentes principales del zooplancton (rotíferos, cladóceros y copépodos) en el lago de Zumpango en el periodo que comprendió de junio de 2010 a mayo de 2011. La caracterización fisicoquímica y la toma de muestras biológicas se realizaron en tres sitios zona litorales-someros (30-50 cm). La temperatura de media estuvo en un rango de 14 a 23°C y la concentración de fosfatos fue registrada de 4 a 14  $\text{mg L}^{-1}$ . *Microcystis* sp. *Dolichospermum* sp. y *Planktothrix* sp. fueron las especies de cianobacterias presentes durante todo el año. Las concentraciones de microcistinas-LR evaluadas a través del kit de ELISA fueron <11.7  $\mu\text{g L}^{-1}$  y las mayores concentraciones se obtuvieron en agosto y octubre. La comunidad del zooplancton en términos de biomasa fue dominada por organismos pequeños como rotíferos y nauplios de copépodos (< 300  $\mu\text{m}$ ). Registraron 33 especies de rotíferos con gran abundancia de las especies *Brachionus angularis* (> 11000 ind  $\text{L}^{-1}$ ) y *Brachionus havanaensis* (> 6600 ind  $\text{L}^{-1}$ ), entre los microcrustáceos *Moina micrura* (10 ind  $\text{L}^{-1}$ ) fue el cladócero más abundante. La diversidad del sistema estuvo en un rango de 0.8 a 2.9 Bits ind<sup>-1</sup>



<sup>1</sup>. Los autores concluyeron que las especies encontradas son incapaces de controlar los florecimientos cianobacteriales, y a menos que se manipule la densidad de peces planctívoros o exista remoción de nutrientes a través de un tratamiento del medio, la condición eutrófica del medio permanecerá.

El primer trabajo en evaluar la relación entre las variables fisicoquímicas y su relación con la diversidad y abundancia de los productores y consumidores primarios, en el lago de Zumpango fue presentado por Domínguez-Pascual (2006). Durante un año (abril 2003 a marzo 2004), registró mensualmente profundidad, transparencia, temperatura, pH, oxígeno disuelto, dureza, fósforo reactivo disuelto y total, nitrógeno (nitritos y nitratos), conductividad y concentraciones de clorofila-*a*, así como la colecta de muestras biológicas (zooplancton y productores primarios). Los resultados con relación a las variables ambientales indican que el sitio tenía una temperatura promedio de 18° C, condiciones eutróficas debido a las altas concentraciones de fósforo total y clorofila-*a* con un pH ligeramente básico (7.4 unidades). Con relación a la riqueza de especies fitoplanctónicas, se registraron las clorófitas *Volvox* sp. y *Pediastrum* sp., y las cianoprocariotas estaban representadas por las especies *Aphanizomenon flos-aquae* y *Microcystis aeruginosa* con florecimientos esporádicos. De los organismos zooplantónicos identificó 31 especies de rotíferos, 7 de cladóceros y dos órdenes de copépodos (calanoida y ciclopoidea). La autora concluye que el lago de Zumpango es un cuerpo de agua con baja diversidad zooplanctónica, y que entre los cladóceros registrados la especie *Simocephalus vetulus* podría ser un buen candidato para realizar biomanipulación en el sistema, debido a su alta tasa de filtración y preferencia alimenticia por células de *M. aeruginosa*.

Vasconcelos et al., (2010). Realizaron el primer reporte de la presencia de microcistinas en nueve sistemas epicontinentales del centro de México, todos ellos fungen funciones antropogénicas como, esparcimiento recreacional, almacenamiento de agua potable para consumo y riego de cultivos agrícolas (Zumpango, laguna Atotonilco y Cienega Chica, Los Ángeles y Valle de Bravo, Cuernavaca, Tlameleca y Chapultepec lago mayor y lago menor). Mediante el kit de ELISA y HPLC evaluaron la concentración de microcistinas totales. Los resultados mostraron que en todos los sitios hay dominancia de cianobacterias de 67 a 100%,

con respecto al total de los productores primarios. La densidad de células de cianoprocariontes varió de  $1.6 \times 10^3$  células  $\text{ml}^{-1}$  en Tlamelaca hasta  $7.5 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$  en el lago mayor de Chapultepec con una dominancia representada por especies como, *Microcystis aeruginosa*, *M. panniformis*, *M. protocystis*, *Planktothrix agardhii*, *Merismopedia* sp. y *Pseudanabaena mucicola*. Los resultados revelan la presencia de la cianotoxina MC-LR en todos los sitios analizados en un rango de 4.9 a  $78 \mu\text{g L}^{-1}$ , las máximas concentraciones fueron registradas en las muestras obtenidas del lago Mayor de Chapultepec. Los autores destacan el alto riesgo sobre la salud pública debido a que estos sitios tienen como propósito ofrecer servicios ambientales, y no están siendo apropiadamente monitoreados.

Posteriormente Ortiz-Fernández (2013), determinó la concentración intracelular de MC-LR en el lago de Zumpango en octubre y marzo de 2010, producida por las especies *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis flos-aquae* y *Planktothrix* cf. *isothrix*, por medio de cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas. Además, realizaron un análisis de correlación entre la densidad y la concentración de microcistinas cuantificadas con el objetivo de proponer un método de aproximación (proxy) que permita una rápida detección del estado de un Ciano FAN. Los resultados muestran una concentración promedio de microcistinas de  $195 \mu\text{g g}^{-1}$  entre las diez zonas de muestreo. Además, la correlación obtenida explica más del 80% de la variabilidad de la concentración de microcistinas con relación a la abundancia de las especies *Microcystis aeruginosa* y *Planktothrix* cf. *isothrix*. La autora concluye que, en el estudio de un CianoFAN tóxico es necesario estudiar de manera independiente la relación densidad/concentración de microcistinas porque los cambios en la densidad total del florecimiento no corresponderán a la cantidad de toxina intracelular.

El trabajo más reciente en este sistema epicontinental fue realizado por Reyes-Cardoso (2017), quien evaluó la calidad del agua (marzo-noviembre, 2015) a través de los componentes fisicoquímicos e indicadores biológicos (productores primarios eucariontes), utilizando el índice de saprobiedad de Pantle y Buck. Los resultados mostraron que el sistema es  $\alpha$ -mesosaprobio debido a la alta carga de materia orgánica. En conjunto, la concentración de nutrientes ( $6.36 \text{ mg L}^{-1}$  de nitratos y  $0.53 \text{ mg L}^{-1}$  de fósforo) y temperaturas promedio de

23°C, propiciaron condiciones ideales para la formación de un CianoFAN. Además, de acuerdo con la NOM-001-SEMARNAT-1996 que establece los criterios limitantes de la calidad de agua y protección al ambiente, el sistema tiene mala calidad debido a que diversas variables (DBO<sub>5</sub>, pH, transparencia, nitratos, fosfatos y O<sub>2</sub>) se encontraron por encima de los límites permisibles.

May y O'Hare (2005) Con la finalidad de demostrar que la composición y abundancia de especies de rotíferos podría usarse como indicadores del estado trófico en los lagos. Evaluaron el gradiente trófico en el lago Lonch Lomond (Gran Bretaña) que va desde la cuenca oligotrófica del norte hasta la cuenca sur mesotrófica. Recolectaron muestras de rotíferos a intervalos mensuales entre mayo y octubre de 2002 en tres lugares a lo largo del lago. Encontraron más de 12 especies, siendo las más comunes *Keratella cochlearis* y *Trichocerca stylata*. Aunque la composición de especies de la comunidad de rotíferos varió muy poco entre los sitios, no obstante, encontraron que la abundancia de rotíferos aumentaba notablemente, en dirección sur. La abundancia de rotíferos en el lago varió de 0 ind L<sup>-1</sup> en octubre hasta un máximo de 849 ind L<sup>-1</sup> en agosto. Valores > 200 ind L<sup>-1</sup> se registraron en todos los sitios de muestreo durante la mayor parte del período de estudio. En general, altas de abundancia se relacionan con un sistema mesotrófico con concentraciones de fósforo total > 10 µg L<sup>-1</sup>. Los autores sugieren que la abundancia de rotíferos puede ser un indicador sensible del estado trófico, incluso más representativo que la concentración de clorofila-*a* y fósforo total.

### **Pregunta**

¿Cómo afectará la variación de las características ambientales en conjunto con los metabolitos secundarios (equivalentes de microcistinas-LR) la estructura de la comunidad del zooplancton, durante un ciclo anual?

### **Hipótesis**

La estructura de una comunidad zooplantónica (rotíferos, cladóceros y copépodos), difiere en cada sistema acuático; sin embargo, está relacionada directamente con las condiciones abióticas y las interacciones bióticas en el sistema. Trabajos previos en la laguna de

Zumpango muestran que la concentración de nutrientes (nitratos y fosfatos) va en aumento, favoreciendo el dominio de cianobacterias con el potencial de producir metabolitos secundarios (microcistinas), que podrían resultar tóxicos para algunos miembros del zooplancton. Aunado a esto, el aumento de la temperatura debido al calentamiento global es otro factor que permite la formación y proliferación de las floraciones cianobacteriales. Por lo tanto, si el zooplancton de talla pequeña como los rotíferos, es menos afectado por la presencia de cianobacterias en este sistema, a diferencia del zooplancton de talla grande (debido a su modo de alimentación generalista y a su susceptibilidad a estos compuestos), entonces, ( $H_0$ ) las variaciones en la estructura de la comunidad zooplantónica, podrían asociarse a la fluctuación en la concentración de microcistinas y a la abundancia de las especies productoras. ( $H_1$ ) La presencia de las cianobacterias y sus toxinas no influyen y existen otros factores preponderantes, asociados a dicha variación estructural.

### **Objetivos**

- Caracterizar fisicoquímicamente la laguna de Zumpango mediante las variables ambientales de temperatura, conductividad, pH, oxígeno disuelto, transparencia vertical, alcalinidad (carbonatos y bicarbonatos), dureza, profundidad, nutrientes, Clorofila-*a*, durante un periodo anual.
- Cuantificar la abundancia y diversidad de especies de cianobacterias y zooplancton durante un periodo anual en el lago de Zumpango.
- Cuantificar las variaciones de las fracciones particuladas y disueltas de microcistina-LR en la zona superficial del lago de Zumpango.
- Determinar si hay correlación entre las variables fisicoquímicas y las concentraciones de cianotoxinas sobre la abundancia de las especies de zooplancton del lago de Zumpango.

### **Material y Métodos**

#### *Variables ambientales*

Se realizó un muestreo mensual durante un ciclo anual en el lago de Zumpango (abril 2016 a marzo 2017), ubicado en el Estado de México. Se establecieron cinco sitios de muestreo, uno de ellos se ubicaba en la zona litoral (sitio 5), donde el viento arrastra la mayor biomasa

de material fitoplanctónico, los restantes estaban ubicadas en la zona pelágica del sistema. El sitio 1 es la zona del embarcadero, justo de la zona de mercados locales, lugar donde se encuentra ubicado el parque ecoturístico. El sitio 2 está ubicado al noreste del cuerpo de agua cercano a uno de los efluentes principales controlados por la Comisión Nacional del agua (CONAGUA). El sitio 3 fue establecido en la zona de la Isla del lago, justamente representando la zona central. Finalmente, el sitio 4 se encontraba ubicado al suroeste, zona de mayor profundidad cercana en algunos meses a 4 m.

Se caracterizó cada estación de muestreo a través de las siguientes variables fisicoquímicas registradas *in situ*: temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) y conductividad específica ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) (con el conductímetro, modelo: conductronic PC-18), pH (modelo: Conductronic CL8), oxígeno disuelto (se utilizó el oxímetro digital, modelo: YSI 55), transparencia vertical con el uso del disco de Secchi (cm) y la profundidad (cm). Para la cuantificación de clorofila-*a*, fue necesario coleccionar 100 ml de muestra de la zona superficial y filtrar con membranas Millipore ( $0.45 \mu\text{m}$ ), mediante una torre de filtración acoplada a una bomba de vacío manual, el material filtrado se almacena en tubos Falcón aforados con 10 ml de acetona al 90% y se mantuvieron en refrigeración durante 24 horas (permitiendo que el filtro se disuelva en el solvente). Con la finalidad de evaluar las concentraciones de equivalentes de microcistinas-LR disueltas y particuladas, un litro de agua superficial (0-0.5 m) fue coleccionado y almacenado en frascos de vidrio ámbar (previamente desinfectados), y colocado en refrigeración. A través del uso de botellas de cristal color ámbar (previamente desinfectadas con ácido sulfúrico), se coleccionaron 500 ml de muestra de agua de la zona superficial (0-0.5 m) de cada sitio de muestreo, designados previamente, y se colocaron en refrigeración ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ). Las muestras de agua fueron etiquetadas con los datos del sitio evaluado y transportadas al laboratorio de Zoología acuática de la FESI.

En el laboratorio, se filtraron las muestras de agua a través de membranas Millipore ( $0.45 \mu\text{m}$ ) y se determinó con un analizador de iones específicos (modelo: YSI 9100) la concentración disuelta de nitratos ( $\text{NO}_3$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) y fosfatos ( $\text{PO}_4$ ); se evaluó la dureza del medio, la alcalinidad total y a la fenolftaleína ( $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{CaCO}_3$ ) éstas fueron obtenidas mediante la metodología de titulación colorimétrica (APHA, 1998) y fueron transformadas

con la relación de Clesceri et al., (1999) a concentraciones de carbonatos y bicarbonatos. La concentración de clorofila-*a* ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) fue obtenida conforme a lo establecido en el método espectrofotométrico tricromático validado por APHA (1998). La metodología utilizada para la extracción y cuantificación de la concentración de microcistinas disueltas y particuladas ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), se encuentra explícitamente detallada en el apartado de estimación de la concentración de microcistinas disueltas y particuladas (Seston) (ver capítulo III). Con los datos obtenidos se desarrollaron gráficos visuales de variación anual y un análisis de correspondencia canónica con el programa CANOCO v 4.5 para determinar su relación con la abundancia de especies de zooplancton registradas.

#### *Muestras biológicas: zooplancton*

Se obtuvieron 60 muestras de organismos del zooplancton, filtrando 80 L de agua de la zona superficial (0-0.5 m) a través de una malla para plancton de 50  $\mu\text{m}$  de luz de apertura. El agua filtrada se concentró en un volumen final de 200 ml y se almacenaron en recipientes de plástico, se preservaron químicamente con formol al 4% (Haney y Hall, 1973), y fueron transportadas al laboratorio para su identificación y cuantificación. Las muestras fueron etiquetadas con los datos de localidad, fecha, hora y forma de preservación.

#### *Observaciones, identificación taxonómica y cuantificación de zooplancton.*

De las muestras biológicas fueron cuantificados los rotíferos, cladóceros y copépodos. Para la evaluación de microcretáceos, se utilizó un microscopio óptico equipado con objetivos de 10x a 100x (Nikon, Modelo: Eclipse E600) y fue requerido un análisis basado en observación y microdissección con agujas especializadas (tungsteno, 0.3 a 0.5 mm), afiladas con una solución de hidróxido de potasio al 10%, y montaje de preparaciones con glicerina al 5%. Se desarrolló un compendio fotográfico de algunos caracteres anatómicos diacríticos (Cladoceros: antenas, anténula toracópodos, antenas, anténulas, postabdomen, Copepodos: prosoma, urosoma mandíbulas, maxílulas, maxilas, maxilípedos) que permitieron seguir las claves de identificación especializadas (Korovochinsky y Smirnov, 1998; Dussart y Defaye, 2001; Elías-Gutiérrez et al., 2008). El análisis cuantitativo de cladóceros y copépodos se efectuó con un microscopio estereoscópico (Nikon, Modelo: Eclipse E600) y se realizó en una cámara de recuento de acrílico transparente, con una capacidad de 20 ml, segmentada

cada 0.5 centímetros como guía (APHA, 1998), determinado la abundancia con tres conteos de 5 ml para cada muestra. La identificación de especies de rotíferos se llevó a cabo con un microscopio óptico, analizando las características morfológicas requeridas como la forma de la lorica y el tipo de trophi. La determinación taxonómica de las especies fue obtenida con el uso de las claves especializadas de Koste (1978), Pennak (1989) y Rotíferos Mexicanos (Rotifera) manual de enseñanza (Sarma y Nandini, 2017). La cuantificación de rotíferos se realizó en un microscopio invertido (Nikon Eclipse TS 100) con el uso de la cámara de Sedgwick Rafter, realizando tres alícuotas de 1 ml por cada muestra.

*Muestras biológicas: cianobacterias.*

Con el objetivo de obtener una determinación cualitativa y cuantitativa del Ciano FAN se recolectaron muestras fitoplanctónicas, obtenidas directamente de la zona superficial (0-0.5m) con botellas de plástico. Fueron tomados *in situ* 200 ml de muestra sin filtrar y para preservar la morfología celular se fijaron químicamente con formaldehído al 3% (Chorus y Bartram, 1999). Las muestras fueron etiquetadas con los datos de localidad, fecha, hora y forma de preservación.

*Observaciones, Identificación taxonómica y cuantificación de cianobacterias.*

Las muestras preservadas fueron fotografiadas y cuantificadas en un microscopio óptico equipado con objetivos de 10x a 100x (Nikon, Modelo: Eclipse E600). Para la inspección de los organismos en alta magnificación se usó aceite de inmersión para objetivos  $\geq 100x$ . Se obtuvieron medidas del diámetro ( $\mu m$ ) de células esféricas o semiesféricas, y largo-ancho de las células vegetativas de las cianobacterias filamentosas mediante la aplicación informática del programa Motic images plus 3.0. Para la identificación de las especies de cianobacterias fue necesario el uso de claves taxonómicas especializadas, basadas en caracteres anatómicos diacríticos (Anagnostidis y Komárek, 1985; Anagnostidis y Komárek, 1988; Anagnostidis y Komárek, 1990; Hindák, 2008). En los casos donde no fue posible designar con confianza a nivel de especie, se conservaron hasta nivel filogenético de género. El análisis cuantitativo de la abundancia de especies en los Ciano FANs se realizó mediante el método de gota de Lackey (APHA, 1998). Se realizaron tres réplicas por muestra, cuantificando 5 gotas por ml.

### *Análisis estadístico*

El diseño gráfico para la presentación de los datos y los análisis estadísticos se hicieron utilizando el programa Sigma Plot 11. Se obtuvo el índice de diversidad de Shannon-Wiener (Krebs, 1985) (Verificado con el programa *Ecosim* profesional), para de rotíferos y microcrustáceos, donde:  $H'$  = Índice de diversidad de especies (bits/individuo),  $P_i$  = Proporción total de la muestra que pertenece a la especie "i", con  $i = 1, 2, \dots, S$ ; donde  $S$  = número total de especies presentes en la muestra.

$$H' = \sum_{i=1}^S (P_i)(\log_2 P_i)$$

En adición, se realizaron graficas de Olmstead -Tukey de la relación entre frecuencia (%) vs abundancia (log) para determinar el número de especies dominantes, temporales, comunes y raras (Sokal y Rohlf, 1981). Finalmente, se realizó un análisis de correspondencia canónica con el programa CANOCO v. 4.5 para determinar la influencia de las variables ambientales (incluyendo la concentración de microcistinas disueltas y particuladas) sobre las especies de zooplancton registradas.

## **Resultados**

### *Variables ambientales*

La concentración de oxígeno disuelto varió de 2.9 a 18.2 mg L<sup>-1</sup> dependiendo del sitio y del mes de registro. Entre las zonas evaluadas, el del sitio 4 mostró aportar la mayor concentración de oxígeno al sistema, presentando un promedio anual de 11.09 mg L<sup>-1</sup>, de manera contraria, el sitio 5 mostró en promedio menores concentraciones de O<sub>2</sub> disuelto (8.8 mg L<sup>-1</sup>). Entre los meses evaluados, junio presentó las más altas concentraciones de este gas disuelto (14.8 mg L<sup>-1</sup>), contrario a esto, marzo es donde se registraron las menores concentraciones (3.4 mg L<sup>-1</sup>) (Fig. 2.1). En cuanto a la temperatura, el periodo que comprende a los meses de lluvias (junio-octubre) es donde se presentaron en promedio las temperaturas más cálidas del año (22.07°C). Durante este periodo también se registraron los meses con mayor y menor temperatura; junio presentó las más altas temperaturas (23.4 -26.4 °C), y octubre las menores (17.7- 21.3°C). Entre sitios la temperatura promedio anual, se mantiene homogénea en un rango de 20.3 a 23 °C, siendo el sitio 5 (litoral) donde se registró este



último valor. El pH osciló desde 8.4 hasta 9.7 unidades (Fig. 2.1). El sitio 4 (pelágico y de mayor profundidad), en promedio obtuvo 9.4 unidades, representando las más altas concentraciones de iones hidronio registradas entre los sitios. Enero manifestó los mayores valores de pH y agosto los menores (9.7 y 8.7 unidades respectivamente).

El lago de Zumpango mostró valores de conductividad en el rango de 396 a 870  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . En promedio entre meses, septiembre presentó los menores valores de conductividad específica (409.4  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ), por el contrario, enero tuvo los mayores (808  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ). En la Figura 2.1, se aprecia que, durante el periodo de lluvias la concentración de sales es diluida, reduciendo la conductividad en el lago 21% menos con relación a los meses de secas frías (noviembre-febrero).

La transparencia obtenida con el disco de Secchi varió entre meses de 0 a 42.3 cm. En octubre se presentó la menor transparencia (13.6 cm), asociado a la gran densidad del Ciano FAN presente durante ese mes. Por el contrario, marzo fue el de mayor transparencia con 39.1 cm. Durante los meses de muestreo, las 5 zonas de evaluación presentaron variaciones del disco de Secchi en un rango de 0 a 42.3 cm. El sitio 5 que representa la zona litoral, siempre tuvo transparencia reducida, en promedio esta variable alcanzó un valor de 10.7 cm, asociada directamente con la profundidad de este sitio (profundidad promedio 57.6 cm), a diferencia de los otros puntos de muestreos que alcanzan valores en promedio desde 254.1 hasta 281.9 cm, este último valor representa la profundidad promedio del sitio 4, al suroeste del lago.

La concentración de carbonatos disueltos varió entre sitios de 14 a 200  $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{CO}_3^{-2}$  (Fig. 2.1), las menores concentración de este ion se presentaron durante los periodos de secas (frías y cálidas) con un promedio de 66.5 y 67.9  $\text{mg L}^{-1}$ , respectivamente; un drástico decremento de esta variable fue observado durante los meses de agosto y octubre con una concentración promedio de 28 y 19.2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de  $\text{CO}_3^{-2}$ . También en octubre se registró la una disminución de la concentración del ion bicarbonato ( $\text{HCO}_3^{-1}$ ), presentando una concentración de 100  $\text{mg L}^{-1}$ . De forma contraria, la mayor concentración fue obtenida en el sitio 3 en abril (256  $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{HCO}_3^{-1}$ ), asimismo durante este mes se presentaron las máximas concentraciones anuales con un promedio entre sitios de 215  $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{HCO}_3^{-1}$ . La dureza muestra una

pendiente descendente, a partir del mes de julio hasta noviembre. En promedio el mes de noviembre presenta una menor concentración de carbonatos disueltos ( $47.2 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{CaCO}_3$ ) (ver Fig. 2.2).

Los nutrientes registrados fueron fosfatos, nitratos y nitritos (amonio también fue evaluado, sin embargo, este catión siempre se encontraba por debajo del límite de detección del equipo). La concentración de fósforo reactivo soluble en el lago de Zumpango entre los meses muestreados se mantuvo homogéneo entre sitios ( $2.4 \text{ mg L}^{-1}$ , promedio anual); sin embargo, en junio y julio se presentó un declive de la concentración de fosfatos en todos los sitios ( $1.6$  y  $0.8 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente). Con respecto a los nitratos, los datos obtenidos presentan mucha heterogeneidad entre meses ( $0.98$  a  $28.8 \text{ mg L}^{-1}$ ), en marzo se registraron las más altas concentraciones de  $\text{NO}_3$  disuelto, con un valor promedio de  $24.9 \text{ mg L}^{-1}$ . La concentración de nitritos estuvo en un rango de  $0.001$  a  $1.07 \text{ mg L}^{-1}$ , a partir julio la concentración va en forma ascendente hasta septiembre que, muestra las máximas concentraciones disueltas en el medio (promedio de  $0.79 \text{ mg L}^{-1}$ ). El pigmento clorofila-*a* varía drásticamente de  $42.7$  a  $1794.5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ . Octubre fue el de mayor productividad, alcanzando en promedio una concentración de  $1036.9 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ . La zona litoral (sitio 5) alcanzó un valor promedio anual de  $485.8 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ , posicionándose como el lugar de mayor productividad del lago.

La concentración de equivalentes de microcistinas disueltas en el medio se encuentran la mayor parte del tiempo por debajo de  $1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ; no obstante, en octubre y noviembre, en el sitio 5 registró valores  $> 2.9 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ , siendo así, la zona litoral el lugar donde se evaluaron las máximas concentraciones de este metabolito secundario. Con respecto a la fracción particulada durante los meses que integran el periodo de seca cálidas se cuantificó una baja producción de microcistinas-LR con un promedio de  $3.7 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ . Por otro lado, la mayor síntesis de microcistinas fue registrada en el mes de octubre (periodo de lluvias) con un promedio de  $44.4 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ , resultando ser el sitio litoral donde se cuantificó la máxima concentración ( $81.3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) (Fig. 2.2). Como tendencia general, la concentración total anual (disuelto + particulado) fue jerarquizada de mayor a menor concentración, resultando de la siguiente forma: sitio 5  $>$  sitio 2  $>$  sitio 1  $>$  sitio 3  $>$  sitio 4. La concentración total varió de modo muy heterogéneo en un rango de  $0.68$  a  $81.45 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ .

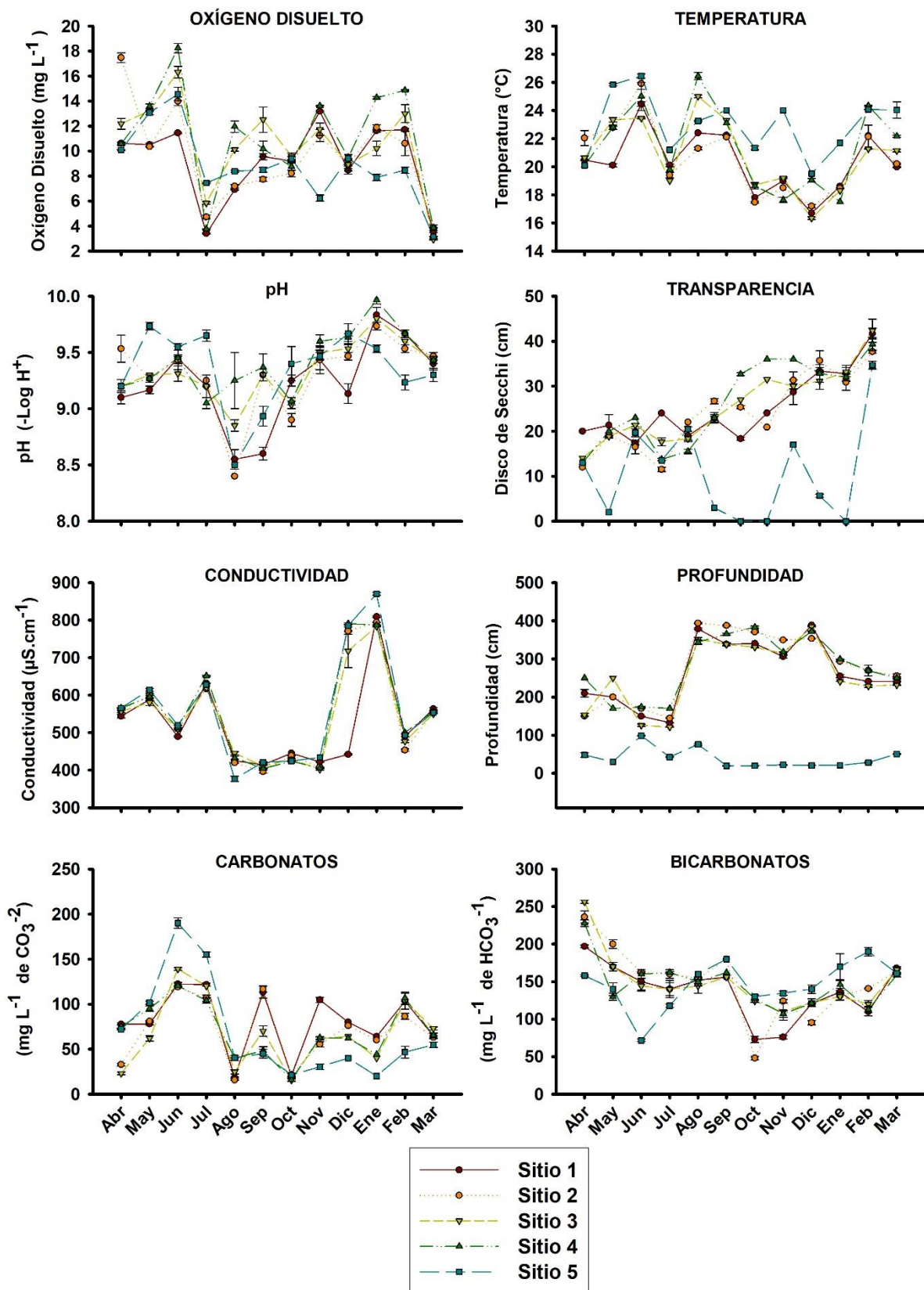


Figura.2.1. Variación anual (abril 2016 a marzo 2017) de los parámetros fisicoquímicos registrados en cinco sitios establecidos en el lago de Zumpango. Se presenta el promedio de tres replicas  $\pm$  error estándar.

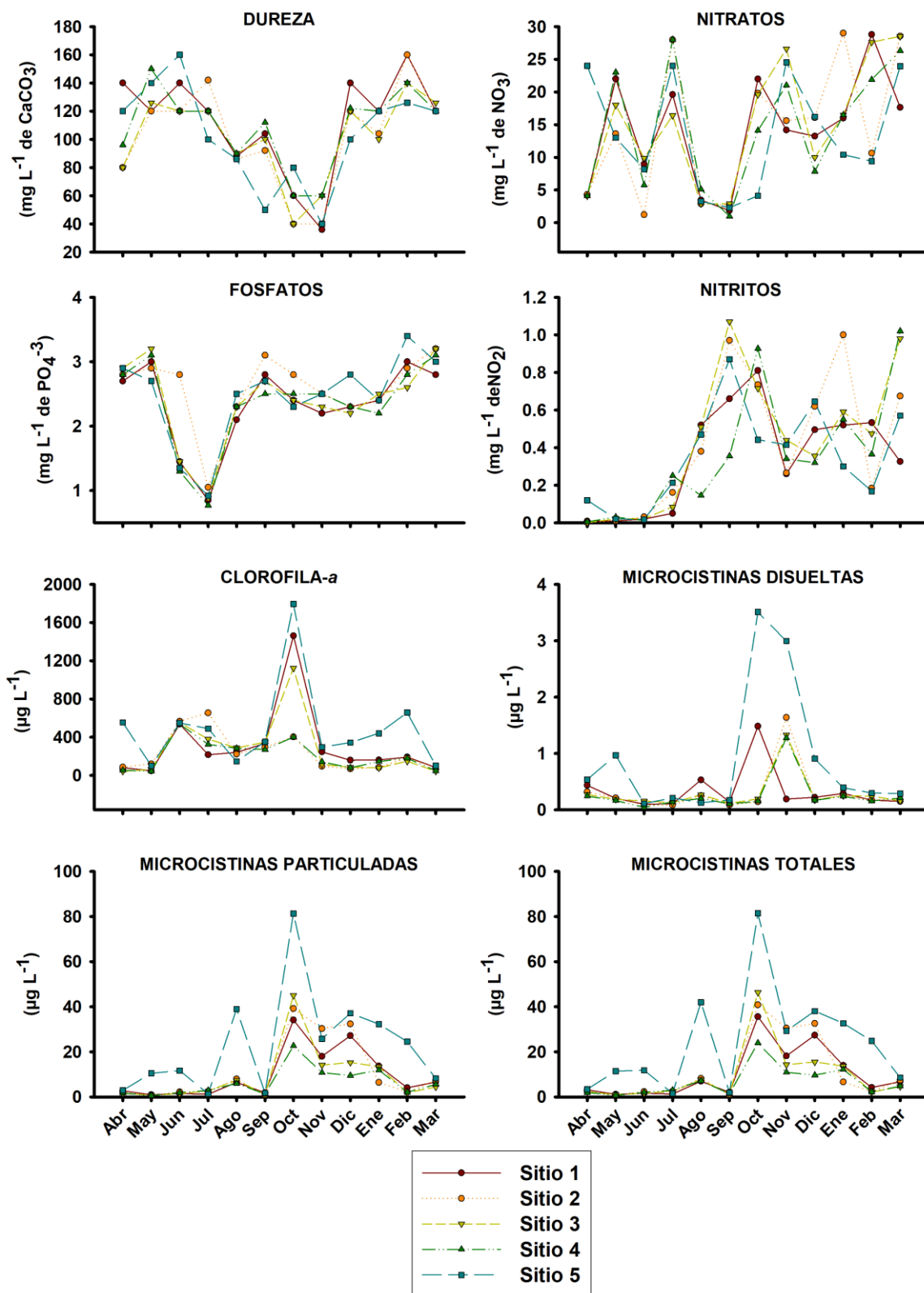


Figura.2.2. Variación anual (abril 2016 a marzo 2017) de los parámetros fisicoquímicos registrados en cinco sitios establecidos en el lago de Zumpango.

## Riqueza de Especies

Se registraron 28 especies de zooplancton de las cuales, 21 especies son rotíferos distribuidos en ocho familias, cinco especies de cladóceros en cuatro familias y dos especies de copépodos en dos familias. La familia más representada con respecto a la frecuencia fue *Brachionidae* para rotíferos; *Daphnidae* para cladóceros y *Diaptomidae* en copépodos (Tabla 2.1). De la familia *Brachionidae* se identificaron nueve especies, resultando ser los géneros *Brachionus* y *Keratella* (micrófagos) los más representativo del sistema. Respecto a los microcrustáceos, *Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia dubia*, *Bosmina longirostris*, *Mastigodiaptomus albuquerquensis* y *Acanthocyclops americanus* fueron las especies con mayor presencia durante el año de evaluación (Tabla 2.1).

Riqueza de Especies	Meses											
	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M
<b>Rotífera</b>												
<b>Familia: <i>Brachionidae</i></b>												
<i>Brachionus angularis</i> (Gosse, 1851)		x	x	x	x	x			x	x	x	
<i>Brachionus caudatus</i> (Barrois & Daday, 1894)			x	x	x				x		x	x
<i>Brachionus havanaensis</i> (Rousselet, 1911)		x	x	x	x				x	x	x	x
<i>Brachionus budapestinensis</i> (Daday, 1885)					x							
<i>Brachionus calyciflorus</i> Palla, 1776			x		x							
<i>Keratella americana</i> (Carlin, 1943)	x	x				x	x					
<i>Keratella cochlearis</i> (Gosse, 1851)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Keratella tropica</i> (Apstein, 1907)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Anuraeopsis fissa</i> (Gosse, 1851)	x		x	x	x		x		x		x	
<b>Familia: <i>Lecanidae</i></b>												
<i>Lecane closterocerca</i> (Shmarda, 1859)		x	x	x	x		x	x	x			
<i>Lecane bulla</i> (Gosse, 1851)							x					
<b>Familia: <i>Proalidae</i></b>												
<i>Liliferotrocha subtilis</i> Rodewald, 1940		x	x	x	x	x	x	x	x	x		x
<b>Familia: <i>Trichocercidae</i></b>												
<i>Trichocerca pusilla</i> (Laterbourn, 1898)			x		x						x	
<b>Familia: <i>Synchaetidae</i></b>												
<i>Polyarthra vulgaris</i> Carlin, 1943	x	x	x	x	x	x						
<b>Familia <i>Asplanchnidae</i></b>												
<i>Asplanchna sieboldii</i> (Leydig, 1854)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Asplanchna priodonta</i> (Gosse, 1850)				x		x						
<b>Familia <i>Conochilidae</i></b>												

<i>Conochilus dossuarius</i> (Hudson, 1875)									x				
<b>Familia: Testudinellidae</b>													
<i>Pompholyx sulcata</i>	x	x	x	x			x	x	x	x		x	
<b>Familia: Filiniidae</b>													
<i>Filinia longiseta</i> (Ehrenberg, 1834)			x	x	x	x	x	x	x			x	
<i>Filinia pejlerei</i> Hutchinson, 1964				x	x								
<i>Filinia cornuta</i> (Weisse, 1847)			x	x	x					x		x	
<b>Cladocera</b>													
<b>Familia: Daphnidae</b>													
<i>Daphnia laevis</i> Birge, 1879	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Ceriodaphnia dubia</i> (Richard, 1894)	x	x					x	x	x	x	x	x	x
<b>Familia: Moinidae</b>													
<i>Moina micrura</i> Kurz, 1874	x						x	x					
<b>Familia: Bosminidae</b>													
<i>Bosmina longirostris</i> (O.F. Müller, 1776)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<b>Familia: Sididae</b>													
<i>Diaphanosoma birgei</i> Korinek, 1981		x							x				x
<b>Copepoda</b>													
<b>Familia: Diaptomidae</b>													
<i>Mastigodiptomus albuquerquensis</i> (Henrick, 1895)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<b>Familia: Cyclopidae</b>													
<i>Acanthocyclops americanus</i> (Marsh, 1893)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

Tabla.2.1. Riqueza de especies zooplantónicas (Rotíferos, cladóceros y copépodos), presentes en los sitios de muestreo del lago de Zumpango, durante el periodo abril 2016-marzo 2017.

### Índice de Diversidad de Shannon-Wiener

Durante el ciclo de evaluación los resultados del índice de diversidad variaron de 0.22 a 3.04 con un valor promedio de 1.47 Bits ind<sup>-1</sup> (Fig. 2.3). El sitio 3, ubicado en la zona central del cuerpo de agua resultó ser la zona de menor diversidad (1.32 Bits ind<sup>-1</sup>). Entre los doce meses de evaluación julio y agosto son los que presentaron mayor diversidad con 2.6 Bits ind<sup>-1</sup>. De forma contraria, octubre, enero y marzo, presentaron los menores valores (0.88, 0.51 y 0.67 Bits ind<sup>-1</sup>), coincidiendo con algunos de los meses donde se registraron altas concentraciones de equivalentes de microcistinas totales. Con relación a la estacionalidad, durante el periodo de lluvias (junio, julio y agosto) se registró un valor de diversidad > 2 Bits ind<sup>-1</sup>, contrariamente, la diversidad disminuyó durante secas cálidas (promedio de 0.87 Bits ind<sup>-1</sup>).

## Diversidad

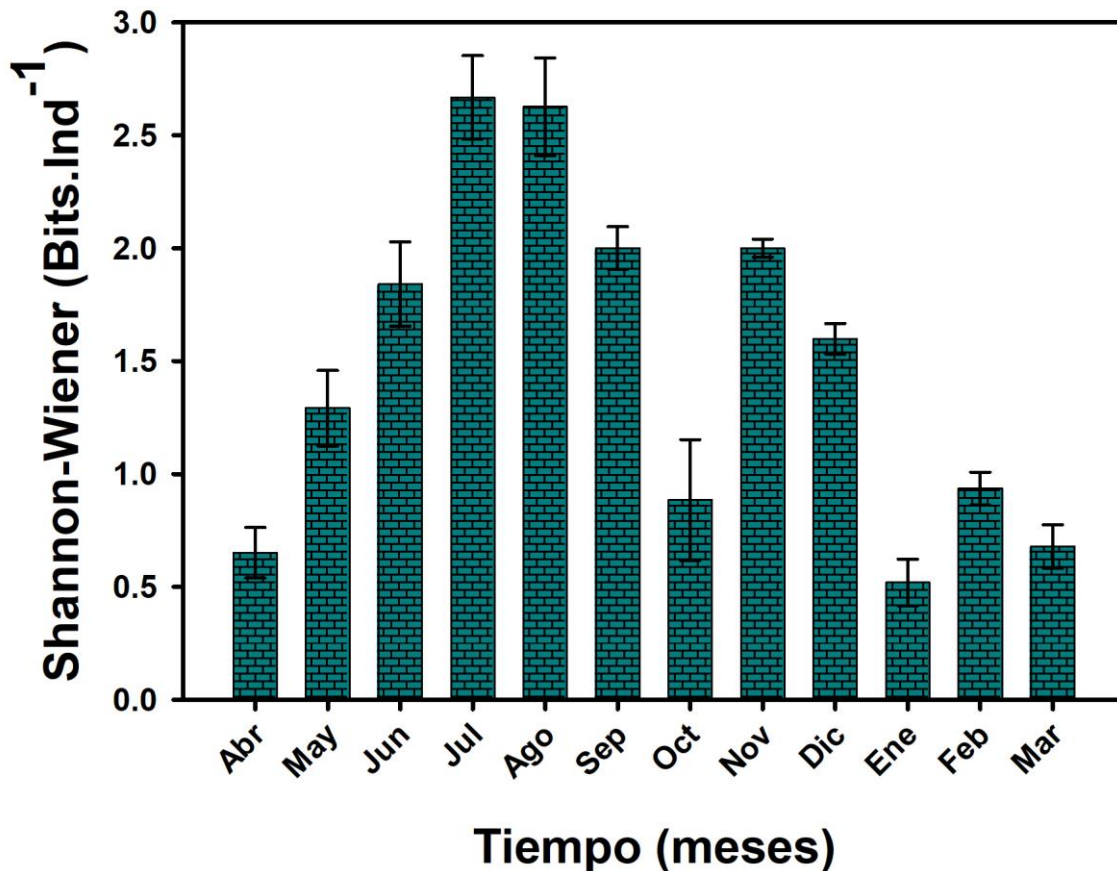


Figura.2.3. Variación mensual del índice de diversidad de Shannon-Winer de las especies de zooplancton. Las barras indican el error estándar derivado de los cinco sitios de muestreo.

### *Frecuencia vs Abundancia (Olmstead-Tukey)*

De acuerdo con las gráficas de frecuencia vs abundancia, las especies de rotíferos, *Keratella tropica*, *Keratella cochlearis*, *Polyarthra vulgaris*, *Liliferotrocha subtilis* y *Pompholyx sulcata* en conjunto con los nauplios de copéodos fueron los organismos dominantes en todos los sitios de evaluación. El 35% de las especies registradas en los sitios 1, 2 y 3 son dominantes; *Keratella tropica* fue la especie de mayor presencia en el sistema, a continuación, los nauplios de copéodos. *Asplanchna sieboldii* es la única especie común a lo largo de los 12 meses de muestreo. De las siete especies de microcrustáceos registradas en el lago Zumpango, los estadios de copepoditos de ambos copéodos y los cladóceros *Bosmina longirostris* y *Daphnia laevis* resultaron ser, en la mayoría de los sitios, las especies dominantes del reservorio. Por el contrario, los cladóceros *Diaphanosoma birgei* y *Moina*

*micrura* tuvieron una baja proporción (abundancia vs frecuencia), debido a que sólo se registró su presencia en tres meses.

En el sitio 1 se obtuvieron siete especies de rotíferos en la categoría de dominantes, *Keratella tropica* y los nauplios tuvieron una frecuencia de 100%. Entre las seis especies raras presentadas en este sitio, el rotífero de la clase monogononta *Brachionus budapestinensis* y el bdelloideo *Adineta vaga*, fueron las especies con menor frecuencia y abundancia. Los copepoditos de *Mastigodiatomus albuquerquensis* y *Acanthocyclops americanus* en conjunto con el cladóceros *Daphnia laevis* resultaron ser los organismos dominantes. Por otro lado, *Bosmina longirostris* fue la única especie temporal, presentando una alta abundancia ( $2.9 \log_{10} \text{ ind L}^{-1}$ ) pero frecuencia de 66% (Fig. 2.4).

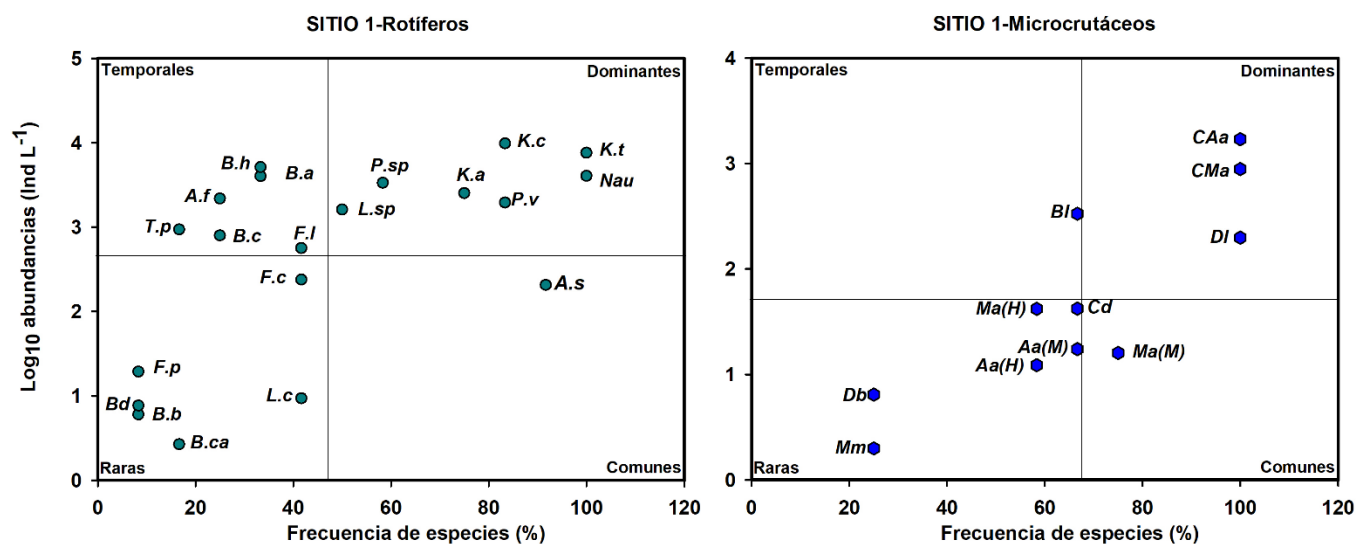


Figura.2.4. Diagrama de distribución de frecuencias vs abundancias (Olmstead-Tukey test) de rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha), presentes en el Sitio 1 del lago de Zumpango. Las letras indican la especie: B.a-*Brachionus angularis*, B.c-*Brachionus caudatus*, B.b-*Brachionus budapestinensis*, B.ca-*Brachionus calyciflorus*, B.h-*Brachionus havanaensis*, F.l-*Filinia longiseta*, F.p-*Filinia pejleri*, F.c-*Filinia cornuta*, K.t-*Keratella tropica*, K.c-*Keratella cochlearis*, K.a-*Keratella americana*, P.v-*Polyarthra vulgaris*, T.p-*Trichocerca pusilla*, A.f-*Anuraeopsis fissa*, L.sp-*Liliferotrocha subtilis*, L.c- *Lecane closterocerca*, L.b-*Lecane bulla*, A.s-*Asplanchna sieboldii*, P.sp-*Pompholyx sulcata*, C.d-*Conochilus dossuarius*, Bd-Bdelloidea (*Adineta vaga*). Bl-*Bosmina longirostris*, DI-*Daphnia laevis*, Db-*Diaphanosoma birgei*, Mm-*Moina micrura*, Cd-*Ceriodaphnia dubia*, CAa-Copepoditos de *Mastigodiatomus albuquerquensis*, CMA-Copepoditos de *Acanthocyclops americanus*, Ma(H)-*Mastigodiatomus albuquerquensis* hembra, Ma(M)-*Mastigodiatomus albuquerquensis* macho, Aa(H)-*Acanthocyclops americanus* hembra y Aa(M)-*Acanthocyclops americanus* macho.

En el sitio 2 también se registraron las mismas seis de especies de rotíferos dominantes, entre ellas se encuentran: *Keratella tropica*, *K. cochlearis*, *K. americana*, *Polyarthra vulgaris*,



*Liliferotrocha subtilis* y *Pompholyx sulcata*. De acuerdo con el diagrama de Olmsted-Tukey, en esta zona tres especies de la familia *Brachionidae* (*Brachionus angularis*, *B. havanaensis* y *Filinia longiseta*) son consideradas como temporales y siete están en la condición de raras (ver Fig. 2.5). Las hembras de *Acanthocyclops americanus* fueron el único componente común del sitio y los copepoditos de ésta misma especie fueron los que obtuvieron la máxima abundancia entre los microcrustáceos.

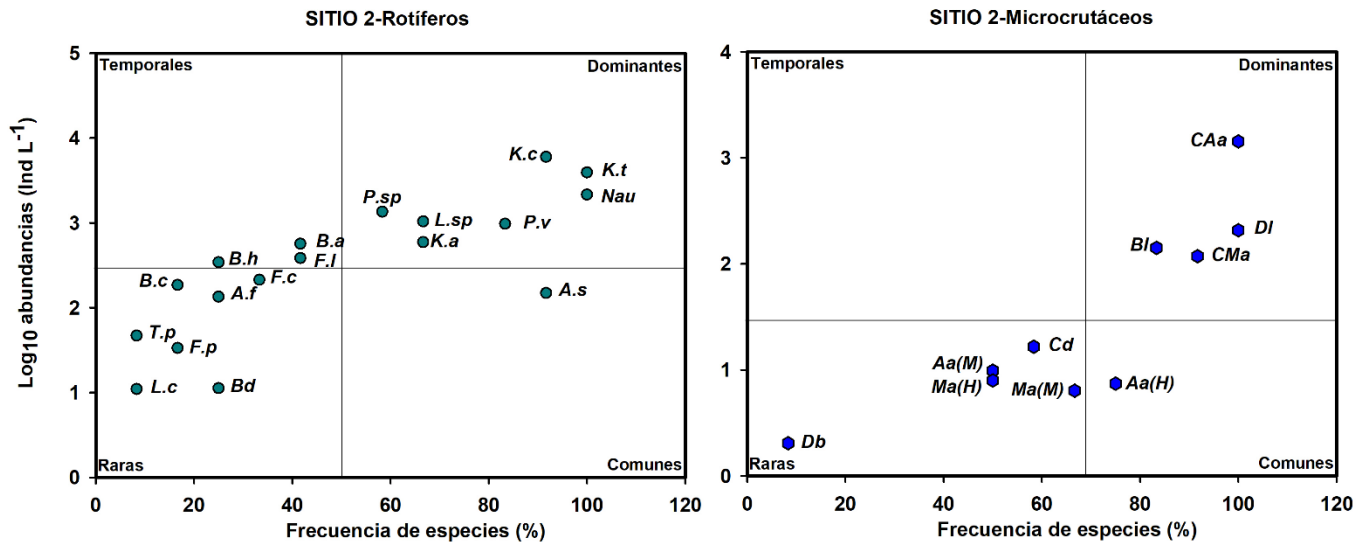


Figura.2.5. Diagrama de distribución de frecuencias vs abundancias (Olmstead-Tukey test) de rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha), presentes en el Sitio 2 del lago de Zumpango. Las letras indican la especie: B.a-*Brachionus angularis*, B.c-*Brachionus caudatus*, B.b-*Brachionus budapestinensis*, B.ca-*Brachionus calyciflorus* B.h-*Brachionus havanaensis*, F.l-*Filinia longiseta*, F.p-*Filinia pejleri*, F.c-*Filinia cornuta*, K.t-*Keratella tropica*, K.c-*Keratella cochlearis*, K.a-*Keratella americana*, P.v-*Polyarthra vulgaris*, T.p-*Trichocerca pusilla*, A.f-*Anuraeopsis fissa*, L.sp-*Liliferotrocha subtilis*, L.c- *Lecane closterocerca*, L.b-*Lecane bulla*, A.s-*Asplanchna sieboldii*, P.sp-*Pompholyx sulcata*, C.d-*Conochilus dossuarius*, Bd-Bdelloidea (*Adineta vaga*). Bl-*Bosmina longirostris*, DI-*Daphnia laevis*, Db-*Diaphanosoma birgei*, Mm-*Moina micrura*, Cd-*Ceriodaphnia dubia*, CAa-Copepoditos de *Mastigodiatomus albuquerqueus*, CMA-Copepoditos de *Acanthocyclops americanus*, Ma(H)-*Mastigodiatomus albuquerqueus* hembra, Ma(M)-*Mastigodiatomus albuquerqueus* macho, Aa(H)-*Acanthocyclops americanus* hembra y Aa(M)-*Acanthocyclops americanus* macho.

En el sitio 3 las especies de rotíferos *Brachionus angularis* y *Trichocerca pusilla* fueron registradas en la categoría de temporales, a pesar de tener porcentajes de frecuencia muy disimiles (41 y 8%), el logaritmo de sus abundancias resulto ser muy similar (2.5 y 2.3 log<sub>10</sub> ind L<sup>-1</sup>). Asimismo, como en los sitios 1 y 2, las mismas especies fueron dominantes y *Asplanchna sieboldii* fue la también el registro común (Fig. 2.6). El 45% de los individuos pertenecieron a la categoría de raras, 36% fueron dominantes; no hubo especies temporales,

y el porcentaje restante comprendió a los organismos comunes (*Mastigodiatomus albuquerquensis* macho y *Acanthocyclops americanus* hembra) (Fig. 2.6).

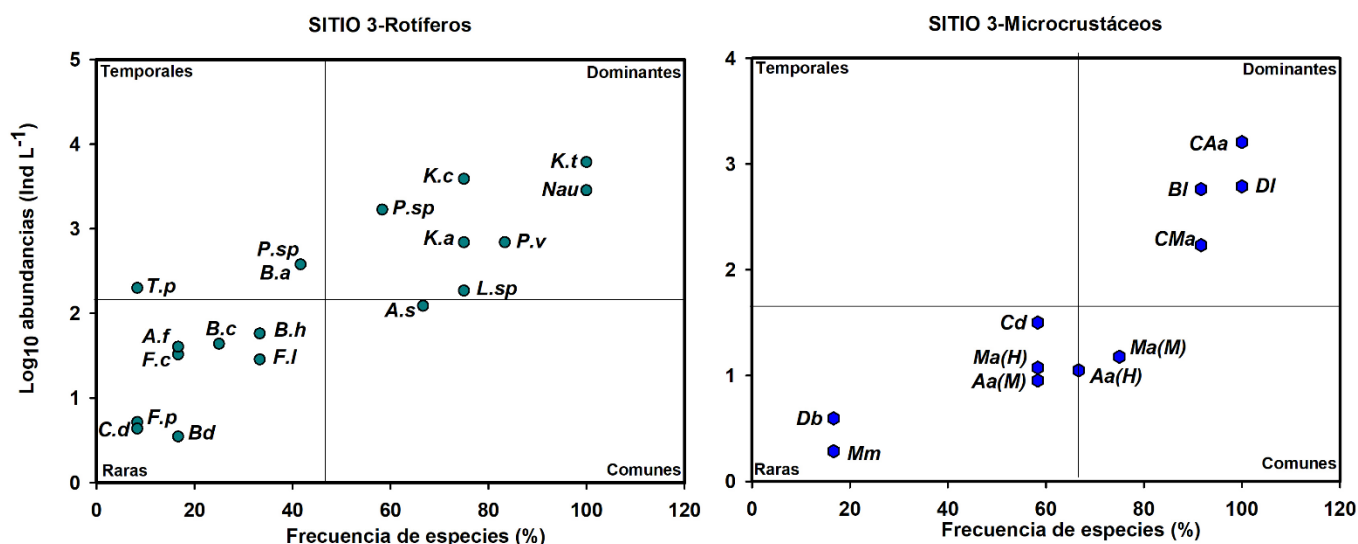


Figura.2.6. Diagrama de distribución de frecuencias vs abundancias (Olmstead-Tukey test) de rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha), presentes en el Sitio 3 del lago de Zumpango. Las letras indican la especie: B.a-*Brachionus angularis*, B.c-*Brachionus caudatus*, B.b-*Brachionus budapestinensis*, B.ca-*Brachionus calyciflorus*, B.h-*Brachionus havanaensis*, F.l-*Filinia longiseta*, F.p-*Filinia pejleri*, F.c-*Filinia cornuta*, K.t-*Keratella tropica*, K.c-*Keratella cochlearis*, K.a-*Keratella americana*, P.v-*Polyarthra vulgaris*, T.p-*Trichocerca pusilla*, A.f-*Anuraeopsis fissa*, L.sp-*Liliferotrocha subtilis*, L.c- *Lecane closterocerca*, L.b-*Lecane bulla*, A.s-*Asplanchna sieboldii*, P.sp-*Pompholyx sulcata*, C.d-*Conochilus dossuarius*, Bd-Bdelloidea (*Adineta vaga*). Bl-*Bosmina longirostris*, DI-*Daphnia laevis*, Db-*Diaphanosoma birgei*, Mm-*Moina micrura*, Cd-*Ceriodaphnia dubia*, CAa-Copepoditos de *Mastigodiatomus albuquerquensis*, CMAa-Copepoditos de *Acanthocyclops americanus*, Ma(H)-*Mastigodiatomus albuquerquensis* hembra, Ma(M)-*Mastigodiatomus albuquerquensis* macho, Aa(H)-*Acanthocyclops americanus* hembra y Aa(M)-*Acanthocyclops americanus* macho.

En el sitio 4 el 50% de las especies se registraron en la categoría de dominantes; no hay presencia de especies comunes y solamente se presentó una especie temporal (*Brachionus caudatus*). Además, es la zona donde se exhibió el mayor número de especies en la categoría de raras (*Brachionus budapestinensis*, *Lecane closterocerca*, *Filinia pejleri*, *F. cornuta*, *F. longiseta*, *Conochilus dossuarius*, *Anuraeopsis fissa*, *Trichocerca pusilla* y *Adineta vaga*), representando cerca del 40% de los organismos encontrados donde el límite de la categoría se ubicó con una abundancia por debajo de 2.5 log<sub>10</sub> ind L<sup>-1</sup> y una frecuencia menor al 45% (Fig. 2.7). El cladócero *Ceriodaphnia dubia* fue la única especie temporal con una frecuencia de 58% y una abundancia > 2 log<sub>10</sub> ind L<sup>-1</sup>.

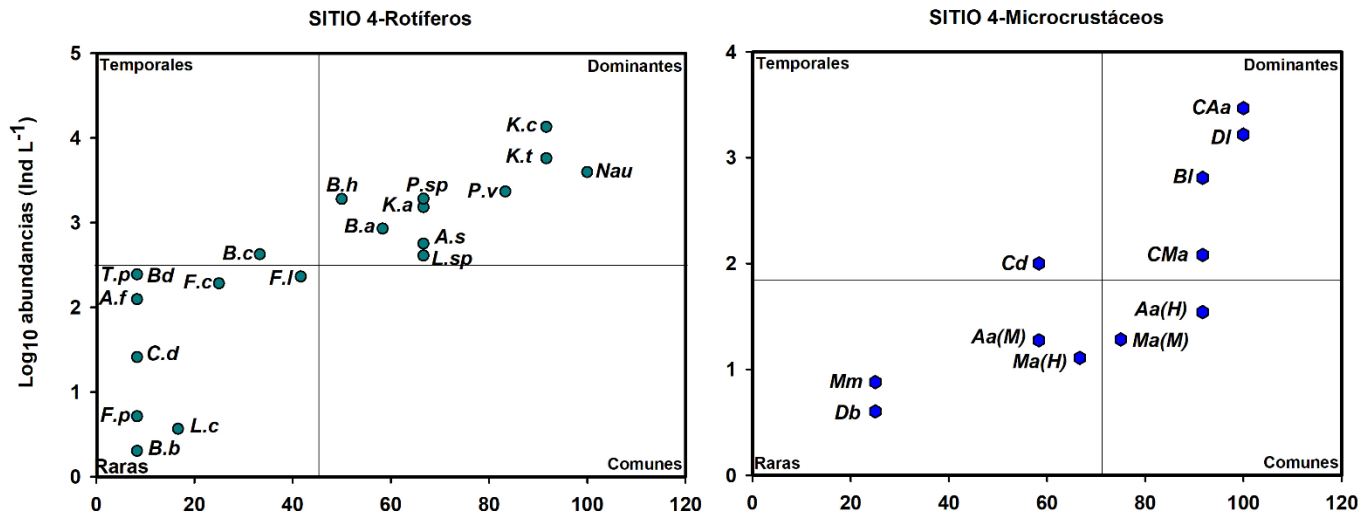


Figura.2.7. Diagrama de distribución de frecuencias vs abundancias (Olmstead-Tukey test) de rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha), presentes en el Sitio 4 del lago de Zumpango. Las letras indican la especie: B.a-*Brachionus angularis*, B.c-*Brachionus caudatus*, B.b-*Brachionus budapestinensis*, B.ca-*Brachionus calyciflorus*, B.h-*Brachionus havanaensis*, F.l-*Filinia longiseta*, F.p-*Filinia pejeri*, F.c-*Filinia cornuta*, K.t-*Keratella tropica*, K.c-*Keratella cochlearis*, K.a-*Keratella americana*, P.v-*Polyarthra vulgaris*, T.p-*Trichocerca pusilla*, A.f-*Anuraeopsis fissa*, L.sp-*Liliferotrocha subtilis*, L.c- *Lecane closterocerca*, L.b-*Lecane bulla*, A.s-*Asplanchna sieboldii*, P.sp-*Pompholyx sulcata*, C.d-*Conochilus dossuarius*, Bd-Bdelloidea (*Adineta vaga*). Bl-*Bosmina longirostris*, DI-*Daphnia laevis*, Db-*Diaphanosoma birgei*, Mm-*Moina micrura*, Cd-*Ceriodaphnia dubia*, CAa-Copepoditos de *Mastigodiatomus albuquerqueensis*, CMa-Copepoditos de *Acanthocyclops americanus*, Ma(H)-*Mastigodiatomus albuquerqueensis* hembra, Ma(M)-*Mastigodiatomus albuquerqueensis* macho, Aa(H)-*Acanthocyclops americanus* hembra y Aa(M)-*Acanthocyclops americanus* macho.

En el sitio 5 la especie raptorial *Asplanchna sieboldii* resulto ser la única categorizada como común con la relación a su frecuencia y su abundancia anual. En esta zona somera, el 40% de las especies registradas eran raras. Debido a su baja frecuencia, *Keratella americana* se ubicó en la categoría de temporal a diferencia de las zonas pelágicas donde siempre fue catalogada como un organismo dominante (Fig. 2.8). Con respecto a los microcrustáceos, en este sitio se mostró una drástica división categórica, donde se observa que el 40% de las especies son dominantes (Copepoditos de *Mastigodiatomus albuquerqueensis* y *Acanthocyclops americanus*, y los cladóceros, *Bosmina longirostris* y *Daphnia laevis*) y el 60% restante son de acuerdo con su proporción, organismos raros para esta zona litoral-somera.

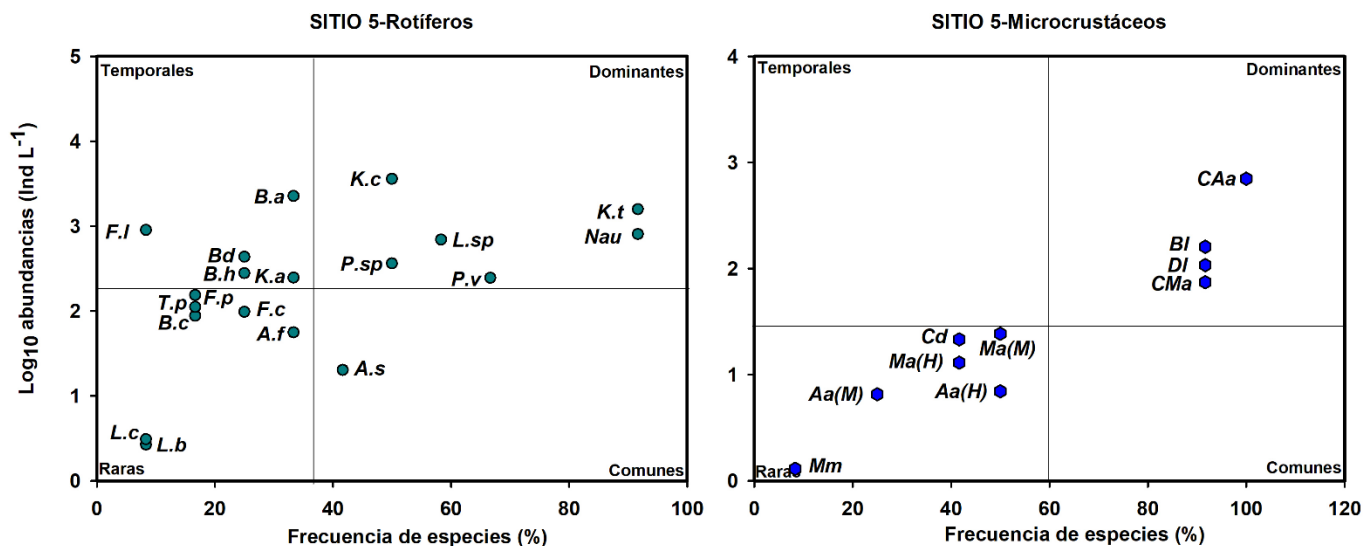


Figura.2.8. Diagrama de distribución de frecuencias vs abundancias (Olmstead-Tukey test) de rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha), presentes en el Sitio 5 del lago de Zumpango. Las letras indican la especie: B.a-*Brachionus angularis*, B.c-*Brachionus caudatus*, B.b-*Brachionus budapestinensis*, B.ca-*Brachionus calyciflorus* B.h-*Brachionus havanaensis*, F.l-*Filinia longiseta*, F.p-*Filinia pejleri*, F.c-*Filinia cornuta*, K.t-*Keratella tropica*, K.c-*Keratella cochlearis*, K.a-*Keratella americana*, P.v-*Polyarthra vulgaris*, T.p-*Trichocerca pusilla*, A.f-*Anuraeopsis fissa*, L.sp-*Liliferotrocha subtilis*, L.c- *Lecane closterocerca*, L.b-*Lecane bulla*, A.s-*Asplanchna sieboldii*, P.sp-*Pompholyx sulcata*, C.d-*Conochilus dossuarius*, Bd-Bdelloidea (*Adineta vaga*). Bl-*Bosmina longirostris*, DI-*Daphnia laevis*, Db-*Diaphanosoma birgei*, Mm-*Moina micrura*, Cd-*Ceriodaphnia dubia*, CAa-Copepoditos de *Mastigodiptomus albuquerqueus*, CMA-Copepoditos de *Acanthocyclops americanus*, Ma(H)-*Mastigodiptomus albuquerqueus* hembra, Ma(M)-*Mastigodiptomus albuquerqueus* macho, Aa(H)-*Acanthocyclops americanus* hembra y Aa(M)-*Acanthocyclops americanus* macho.

#### Abundancia de especies de zooplancton

Entre los rotíferos, las especies micrófagas/detritivoras (incapaces de consumir partículas mayores a 10-12  $\mu\text{m}$ ) son el componente principal en el lago de Zumpango en comparación con las raptorales. *Keratella cochlearis* fue la especie que tuvo más presencia a lo largo del año con abundancias de hasta 10,270 ind L<sup>-1</sup> en el mes de marzo en la zona pelágica y presentó otros picos durante febrero y abril (5946 y 5009 ind L<sup>-1</sup>, respectivamente) (Fig. 2.10). Durante el periodo de lluvias obtuvo una disminución de sus abundancias totales en un rango de 24 y 1374 ind L<sup>-1</sup>; sin embargo, en enero fue cuando presentó su menor densidad poblacional (2.5 ind L<sup>-1</sup>). *Brachionus havanaensis* fue la segunda especie con un gran pico de abundancia, presentando sus máximas densidades durante lluvias, alcanzando una abundancia de hasta 5120 ind L<sup>-1</sup> en el sitio 1 en agosto y 1764 ind L<sup>-1</sup> en el sitio 4 en julio. No obstante, sus poblaciones desaparecieron de septiembre a noviembre. En el periodo de

secas frías sus densidades estuvieron por debajo de  $6.5 \text{ ind L}^{-1}$ . Con excepción de junio y agosto, *Keratella tropica* estuvo presente la mayor parte del año, alcanzado su máxima densidad en noviembre en el sitio 1 ( $2081 \text{ ind L}^{-1}$ ), de hecho, fue durante los meses fríos cuando mostró su mayor presencia en el sistema con un promedio de abundancia de  $1250 \text{ ind L}^{-1}$  (Fig.2.10). La especie *Keratella americana* fue la segunda especie con mayor presencia entre los sitios de evaluación, su mayor densidad fue registrada en el mes de noviembre en el sitio 1 y la menor en agosto en el sitio 2 ( $2616$  y  $7.5 \text{ ind L}^{-1}$ ). En promedio sus mayores abundancias fueron presentadas de octubre a enero ( $3073 \text{ ind L}^{-1}$ ). En el sitio 5 litoral-somero, presentó bajas densidades a lo largo del ciclo de muestreo con una suma total de  $1579 \text{ ind L}^{-1}$ . Por el contrario, en los sitios pelágicos conservó gran abundancia de hasta un 80% más ( $7583 \text{ ind L}^{-1}$ ). Con respecto a *Polyarthra vulgaris* se registraron abundancia de hasta  $1257 \text{ ind L}^{-1}$  en el sitio 4 durante el mes de febrero, también se observaron otros picos en el sitio 1 en agosto ( $805 \text{ ind L}^{-1}$ ) y en noviembre en los sitios 1 y 2 ( $503$  y  $247 \text{ ind L}^{-1}$ , respectivamente), predominando en la época fría. El único mes donde no se reportó ésta especie en el sistema fue en octubre. *Asplanchna sieboldii* se registró en todo el año con abundancias de  $1.6$  a  $301 \text{ ind L}^{-1}$ . En enero presentó su más baja densidad precisamente fue  $1.6 \text{ ind L}^{-1}$  y sólo fue ubicada en el sitio 2. Las máximas densidad fueron exhibidas durante lluvias con un promedio entre esos meses de  $107 \text{ ind L}^{-1}$ . En la zona pelágica de mayor profundidad (sitio 4), su abundancia resultó ser 96% mayor que el sitio litoral-somero donde fue reconocido en cuatro ocasiones con una densidad total (suma total de organismos) de  $19 \text{ ind L}^{-1}$  (ver Fig. 2.10). *Pompholyx sulcata* mostró altas densidades en junio y julio en todos los sitios pelágicos con hasta  $1153 \text{ ind L}^{-1}$ ; sin embargo, la máxima abundancia fue identificada en el sitio 1 en noviembre ( $> 1500 \text{ ind L}^{-1}$ ). Por el contrario, mínimas abundancias fueron presentadas en el sitio 5, donde se registraron en todo el año 360 individuos de esta especie, 90% menos que en el sitio 1 (3341 ind). Igualmente, *Liliferotrocha subtilis* obtuvo sus mayores densidades poblacionales en junio y julio, ambas en el sitio 1 ( $590$  y  $965 \text{ ind L}^{-1}$ ). A pesar de ser una especie identificada durante todo el año, en marzo, abril y mayo (secas cálidas), su densidad promedio fue de tan sólo  $40 \text{ ind L}^{-1}$ . *Brachionus angularis* registró sus mayores densidades de junio a agosto, especialmente en este último mes alcanzó en el sitio 1 su máxima abundancia ( $2391 \text{ ind L}^{-1}$ ), además sus poblaciones estuvieron ausentes durante marzo, abril, octubre y noviembre. En julio presentó un incremento demográfico con una

variación entre sitios de 390 a 1510 ind L<sup>-1</sup>, registrándose más de 2900 individuos entre todos los sitios de muestreo (Fig. 2.10).

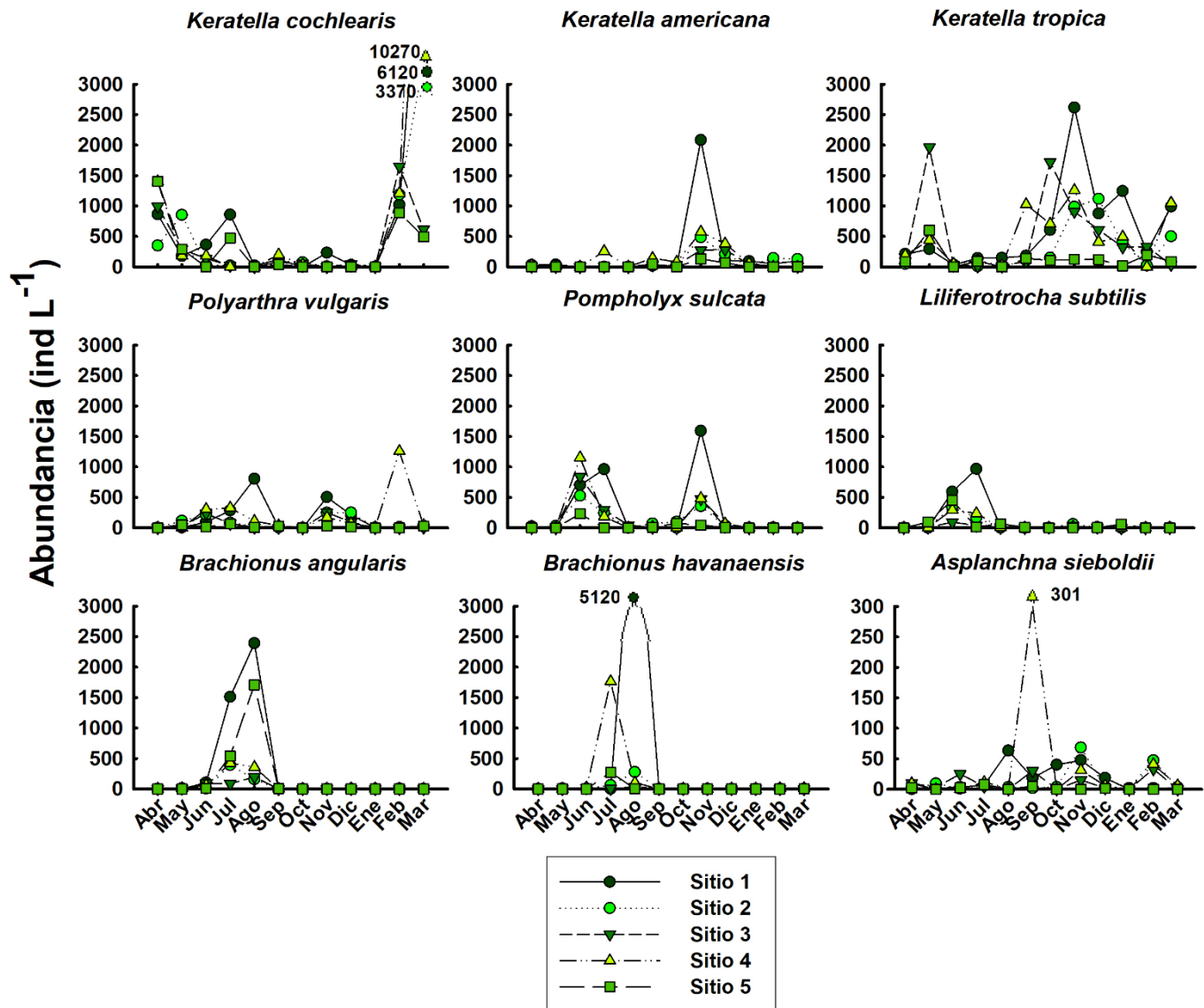


Figura.2.10. Variación estacional de la abundancia de rotíferos dominantes en los cinco sitios de muestreo en el lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017.

Entre los microcrustáceos, los nauplios de copépodos fueron los organismos más abundantes, sus densidades oscilaron de 8.3 a 808 ind L<sup>-1</sup> (Fig.2.11). En mayo alcanzaron en promedio sus máximas densidades (2457 ind L<sup>-1</sup>); diciembre resultó el mes de menor abundancia con 10.2 ind L<sup>-1</sup>. Con respecto a la estacionalidad, en secas cálidas obtuvieron grandes abundancias (promedio 342 ind L<sup>-1</sup>), 57% más densidad que en secas frías. El sitio 5 fue donde menor abundancia de nauplios se registraron. Contrariamente, en el sitio 1 se cuantificaron en promedio una densidad > 300 ind L<sup>-1</sup> nauplios a lo largo del año (Fig. 2.11). El copépodo *Acanthocyclops americanus* presentó en mayo su mayor abundancia en el sistema (685 ind L<sup>-1</sup>), y fue registrada en el sitio más profundo (sitio 4). La densidad de este ciclopoide en el sitio 5 fue la más baja entre las zonas de evaluación, especialmente en agosto sólo se cuantificaron 1.5 ind L<sup>-1</sup>. Sin embargo, sus mayores abundancias promedio se reconocieron durante el periodo de secas cálidas (290 ind L<sup>-1</sup>), y durante lluvias su densidad promedio fue de 63 ind L<sup>-1</sup>. El copépodo *Mastigodiatomus albuquerqueensis* obtuvo su mayor abundancia en el mes de junio en el sitio 4 (206 ind L<sup>-1</sup>), y la menor en agosto en el sitio 5 (0.2 ind L<sup>-1</sup>). En promedio sus mayores abundancias fueron presentadas en junio y julio (56 y 34 ind L<sup>-1</sup>, respectivamente). En la zona litoral-somera tuvo baja representatividad, obteniendo una densidad promedio de 9 ind L<sup>-1</sup>. Por el contrario, en el sitio 4 presentó una abundancia 75% mayor que el sitio 5 (36 ind L<sup>-1</sup>) (Fig. 2.11).

Durante el período de estudio, los cladóceros dominantes fueron *Daphnia laevis*, *Bosmina longirostris* y *Ceriodaphnia dubia*. Las densidades de *D. laevis* estuvieron entre 0.5 y 922 ind L<sup>-1</sup> durante la mayoría de los meses; por otro lado, alcanzó su punto máximo en mayo con un promedio entre sitios de 384 ind L<sup>-1</sup> pero fue inferior a 95 ind L<sup>-1</sup> durante el resto del año (Fig.2.11). Sin embargo, también presentó densidades muy altas en abril y enero en el sitio 4 (275 y 285 ind L<sup>-1</sup>). La mayor representatividad de esta especie fue durante el periodo de secas cálidas, registrando en promedio 162 ind L<sup>-1</sup>, a diferencia de lluvias donde tan sólo obtuvo un promedio de 6.7 ind L<sup>-1</sup>. *Ceriodaphnia dubia* consiguió sus mayores densidades (38 y 30 ind L<sup>-1</sup>) en mayo y diciembre, ambas fueron presentadas en el sitio 4. En agosto hubo una drástica disminución de individuos de esta especie en el lago, presentando un promedio de 0.13 ind L<sup>-1</sup> (Fig. 2.11). *Bosmina longirostris* fue más abundante en octubre, especialmente en los sitios 3 y 4, reflejando una abundancia de 344 y 315 ind L<sup>-1</sup>,

consecutivamente. Sin embargo, en agosto su densidad se mantuvo por debajo de  $0.85 \text{ ind L}^{-1}$ . La menor abundancia promedio entre las zonas de evaluación fue registrada en el sitio 5 ( $13 \text{ ind L}^{-1}$ ) y la mayor en el sitio 4 ( $54 \text{ ind L}^{-1}$ ).

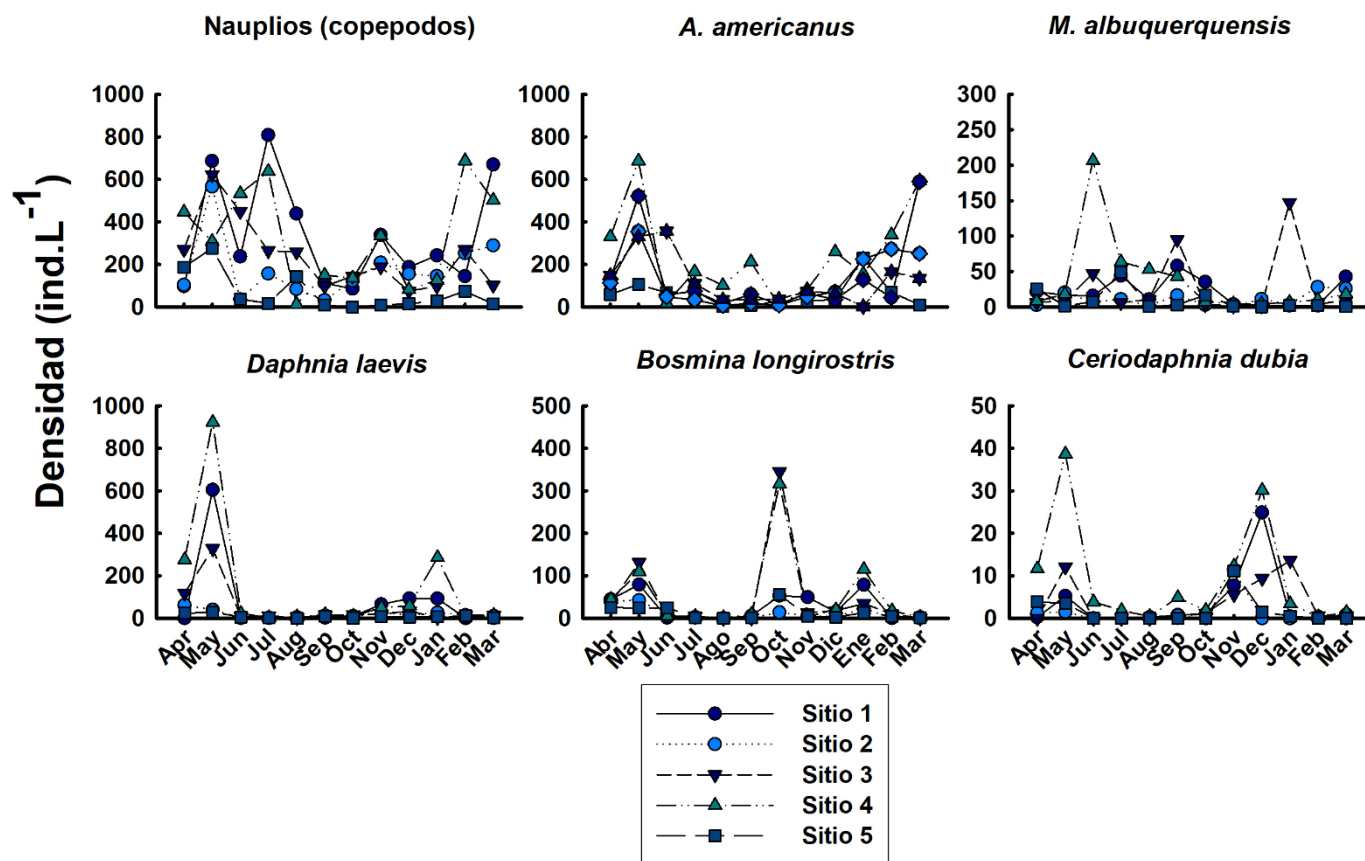


Figura.2.11. Variación estacional de la abundancia de microcrustáceos dominantes en los cinco sitios de muestreo en el lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017.

Durante el año de evaluación la producción primaria estuvo dominada por cinco especies de cianobacterias, *Planktothrix cf. agardhii*, *Microcystis aeruginosa*, *Cylindrospermopsis sp.*, *Aphanizomenon sp.* y *Dolichospermum planctonicum*; sin embargo, se presentaron otras en baja muy proporción como, *Sphaerospermopsis sp.*, *Raphidiopsis sp.*, *Anabaenopsis elenkinii*, *Merismopedia sp.*, y *Aphanocapsa sp.*



La especie *Planktothrix cf. agardhii* fue identificada todo el año en los cinco sitios de evaluación, alcanzando abundancias  $> 190,000$  ind  $\text{ml}^{-1}$  en febrero en el sitio 5. Por el contrario, su menor densidad celular fue obtenida en agosto en ésta misma zona (8410 ind  $\text{ml}^{-1}$ ) (Fig. 2.12). En promedio sus mayores abundancias fueron presentadas en los meses que comprenden la estación de secas frías (promedio de 26680 ind  $\text{L}^{-1}$ ). Mostrando un porcentaje de representatividad  $> 90\%$  durante este periodo de evaluación, aunque, su máxima dominancia porcentual fue obtenida en los meses de febrero y abril, representando más del 95% de las cianoprocariontes presentes en el consorcio (ver Fig. 2.16). En el sitio 5 litoral-somero, presentó las más altas densidades a lo largo del ciclo de muestreo con un promedio de 49451 ind  $\text{L}^{-1}$ . Por el contrario, en los sitios pelágicos conservó  $\sim 60\%$  menor abundancia.

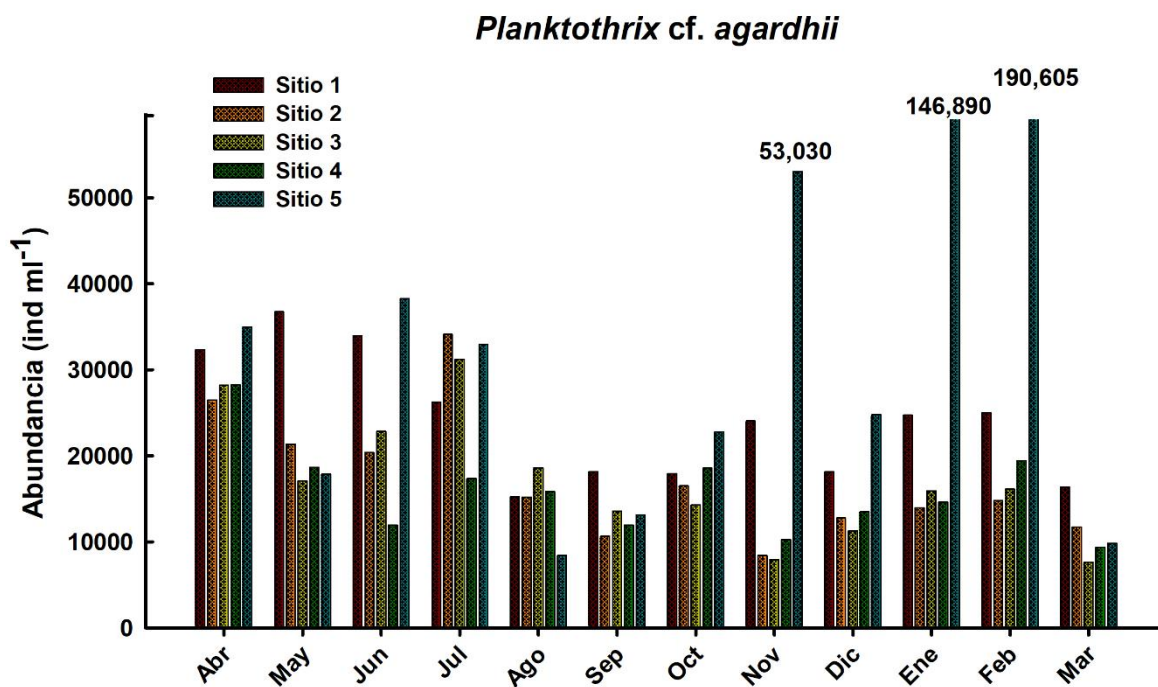


Figura.2.12. Abundancia de *Planktothrix cf. agardhii* presente en cinco sitios de muestreo del lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017.

*Microcystis aeruginosa* registró su mayor densidad en octubre con un rango entre sitios de 8,430 a 108,090 ind  $\text{ml}^{-1}$  (Fig. 2.13), representando en este mes el 60% de la abundancia total del consorcio de cianobacterias (Fig. 2.16), asociándose a la máxima concentración de

microcistinas registradas en el sistema (ver Fig. 2.2). De hecho, ambas variables (densidad de *Microcystis aeruginosa* y la concentración de microcistinas totales) resultaron tener una correlación positiva tendiendo a incrementar juntas ( $P= 0.001$ , correlación de Pearson). Durante el ciclo anual, en la mayoría de los meses su abundancia fue  $<2500$  ind  $\text{ml}^{-1}$  con un porcentaje de representatividad  $<12.5\%$ . En promedio, el sitio 5 mostró mayor abundancia de esta especie ( $9824$  ind  $\text{ml}^{-1}$ ) y el sitio 3 la menor ( $941$  ind  $\text{ml}^{-1}$ ).

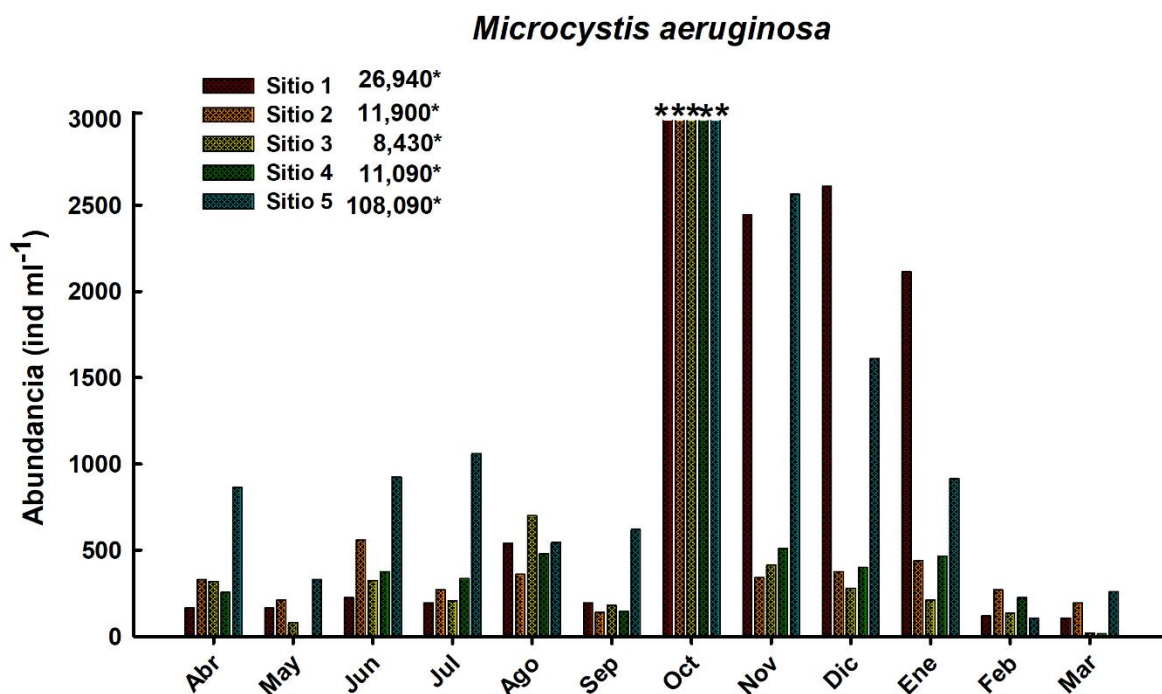


Figura.2.13. Abundancia de *Microcystis aeruginosa* presente en cinco sitios de muestreo del lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017.

La mayor abundancia de cianobacterias totales (promedio de la suma de abundancias) fue presentada en los meses de junio y julio ( $53,212$  y  $81,574$  ind  $\text{ml}^{-1}$ , respectivamente) (ver fi.2.). Durante estos meses *Aphanizomenon* sp. mostró sus máximas abundancias, especialmente en julio tuvo densidades entre  $17,580$  y  $32,379$  ind  $\text{ml}^{-1}$  con una representatividad de  $32\%$ . Entre los sitios evaluados, el 3 fue donde se presentó la mayor densidad total de esta especie ( $62,545$  ind), mientras que la máxima densidad fue presentada en el sitio 2 en julio. *Aphanizomenon* sp. muestra una marcada estacionalidad al periodo de lluvias, obteniendo en promedio sus mayores abundancias ( $8812$  ind  $\text{ml}^{-1}$ ), representando  $88$  y  $93\%$  mayor densidad que aquella presentada durante secas cálidas y frías (Fig. 2.14).

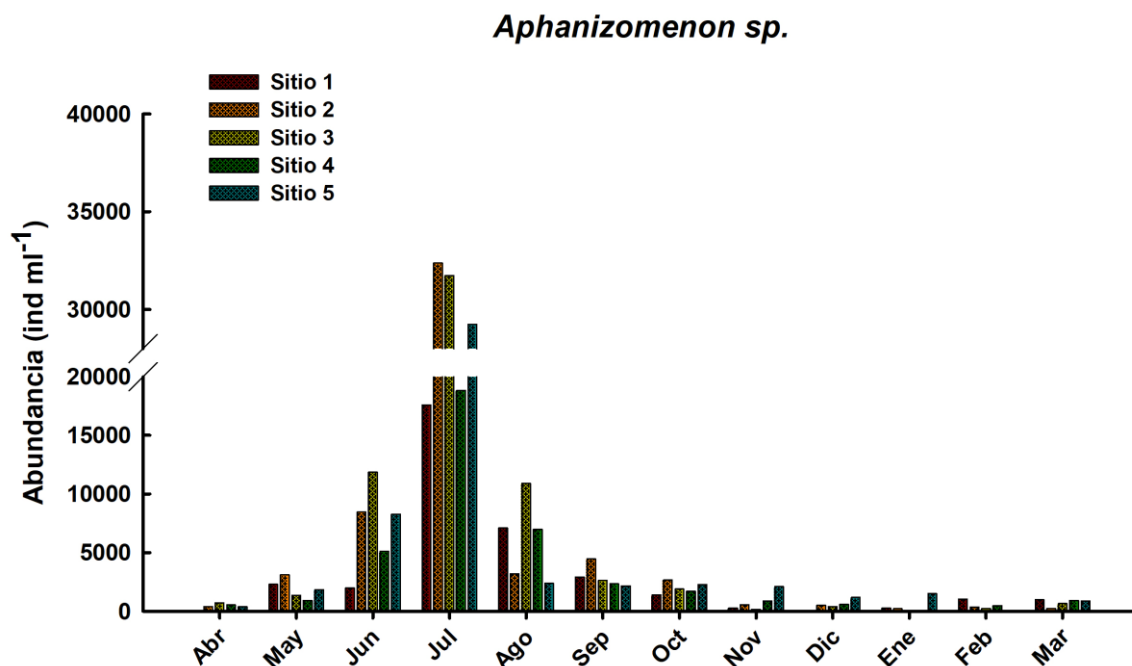


Figura.2.14. Abundancia de *Aphanizomenon* sp. presente en cinco sitios de muestreo del lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017.

*Cylindrospermopsis* sp. estuvo presente en el lago de Zumpango de marzo a septiembre con altos picos de abundancia, principalmente al inicio de la temporada de lluvias (junio y julio) con un porcentaje de representatividad en el sistema del 30 y 40%, consecutivamente. La mayor densidad fue observada en el sitio 5 en junio (35,355 ind ml<sup>-1</sup>) (Fig. 2.15). De manera contraria, en marzo su densidad total (suma entre sitios) fue de tan sólo 100 ind ml<sup>-1</sup>. Comparando entre sitios, la zona de mayor profundidad fue donde se obtuvo la menor abundancia de esta cianobacteria, presentando una abundancia total anual de 27,325 ind ml<sup>-1</sup>, lo que representan 46% menor densidad en comparación con el sitio 5 (59055 ind ml<sup>-1</sup>). A pesar de que esta zona litoral fue donde se presentaron unas de las más altas densidades, no obstante, su presencia fue registrada únicamente de mayo a julio.

### *Cylindrospermopsis* sp.

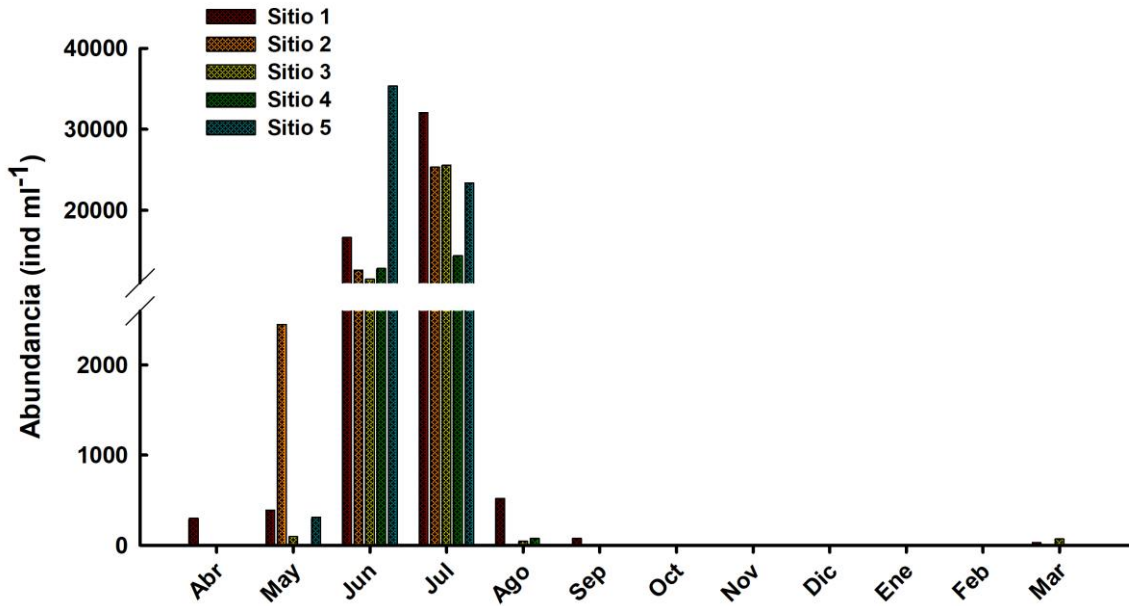


Figura. 2.15. Abundancia de *Cylindrospermopsis* sp. presente en cinco sitios de muestreo del lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017.

En marzo, septiembre y diciembre se registraron las menores abundancias totales del consorcio de cianobacterias en el sistema del lago Zumpango ( $<20,000$  ind  $\text{ml}^{-1}$ ). Por otro lado, las mayores densidades fueron exhibidas en los meses de junio, julio, octubre y febrero, ( $> 50,000$  ind  $\text{ml}^{-1}$ ) con un promedio anual de  $36,186$  ind  $\text{ml}^{-1}$ . La mayor abundancia de cianobacterias se asocia con los meses de menor abundancia de organismos del zooplancton y viceversa; sin embargo, esta relación no es significativa (coeficiente de correlación de Pearson =  $-0.35$ ). Los meses de mayor abundancia de rotíferos totales (agosto, noviembre y mayo) coinciden con los meses posteriores a los de mayor de abundancia total de cianobacterias (senescencia del florecimiento) (Fig. 2.16). La menor abundancia de rotíferos se presentó en enero, octubre y septiembre ( $2,748$ ,  $2,920$  y  $3,694$  ind  $\text{L}^{-1}$ ) y el promedio anual de rotíferos en el reservorio fue  $9,242$  ind  $\text{L}^{-1}$ . Con relación a los microcrustáceos, la mayor abundancia fue observada en mayo con  $4279$  ind  $\text{L}^{-1}$ , y en el periodo de tiempo entre junio y diciembre sus poblaciones estuvieron por debajo de  $892$  ind  $\text{L}^{-1}$ , resultando ser este último mes mencionado cuando presentaron mínimas abundancias ( $43.2$  ind  $\text{L}^{-1}$ ) (ver Fig. 2.16). Existe una correlación positiva ( $P > 0.05$ , correlación de Pearson) entre la abundancia total

de microcrustáceos y la abundancia de *Dolichospermum planctonicum*, indicando que ambas aumentan su densidad recíprocamente. Finalmente, la abundancia promedio anual de microcrustáceos de Zumpango fue 1,099 ind L<sup>-1</sup>, representando 10.6% del promedio de abundancia total del zooplancton (10,340 ind L<sup>-1</sup>).

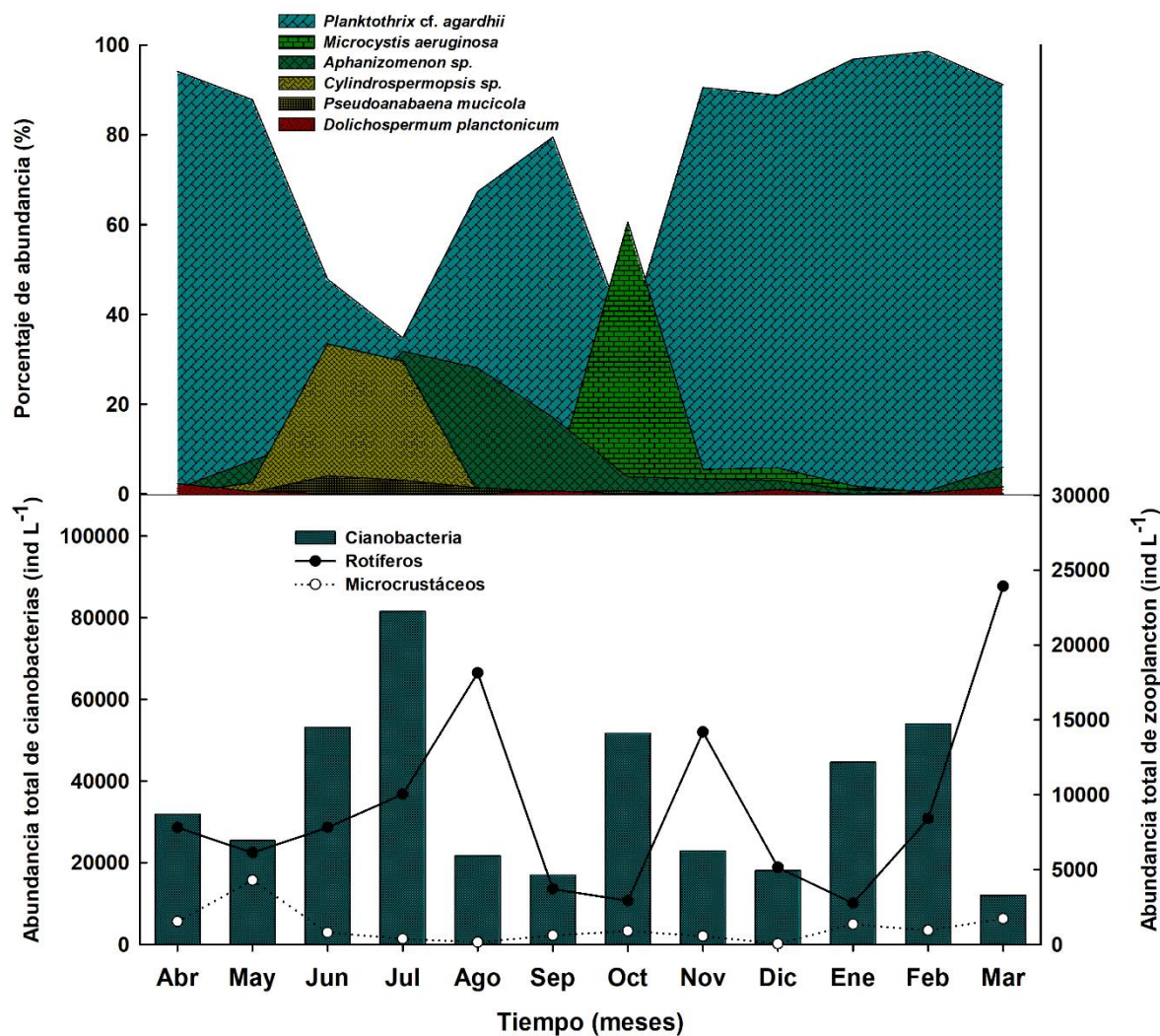


Figura.2.16. Porcentaje de representatividad de las cianobacterias dominantes y abundancia total de cianobacterias, rotíferos y cladóceros presentes en el lago de Zumpango en el periodo de abril de 2016 a marzo de 2017.

Los primeros dos ejes del análisis de componentes canónicos con rotíferos explican el 55% del total de la variación. El primer eje indica que la varianza en la concentración disuelta de carbonatos, oxígeno, nitratos, microcistinas-LR y la conductividad están correlacionadas positivamente con *Pompholyx sulcata* y *Polyarthra vulgaris* y negativamente con la dureza

del medio y la concentración de clorofila-*a*. Las tres especies micrófagas del género *Keratella* (*K. tropica*, *K. cochlearis* y *K. americana*) y la especie raptorial *Asplanchna sieboldii* son influenciadas por la profundidad del sistema, la transparencia y por las concentraciones de microcistinas particuladas y fosfatos. *Filinia pejleri*, *Brachionus angularis*, *B. havanaensis*, *B. caudatus*, *B. budapestinensis*, *Trichocerca pusilla*, *Anuraeopsis fissa* se asocian de manera positiva con la temperatura, bicarbonatos y la dureza del medio (Fig. 2.17).

De acuerdo con el diagrama canónico, la abundancia de las especies de los cladóceros *Bosmina longirostris*, *Daphnia laevis*, y *Ceriodaphnia dubia* es explicada por la variación en las concentraciones de microcistinas particuladas y disueltas, en conjunto con cambios en la profundidad del sistema y con las concentraciones disueltas de oxígeno, carbonatos y fosfatos (Fig. 2.18). La especie rara *Moina micrura* se asoció de manera positiva con el incremento en la concentración de clorofila-*a*, mientras que la densidad de *Diaphanosoma birgei* está relacionada con la transparencia, conductividad, pH y la concentración de nitratos (ver eje 2 de Fig. 2.18). Con excepción de los machos y hembras del copépodo *Mastigodiptomus albuquerquensis*, todas las otras fases larvarias (nauplios y copepoditos) y adultas de ambas de copéodos son descritas por la variación en la dureza, asociada a la concentración de bicarbonatos y a la temperatura.

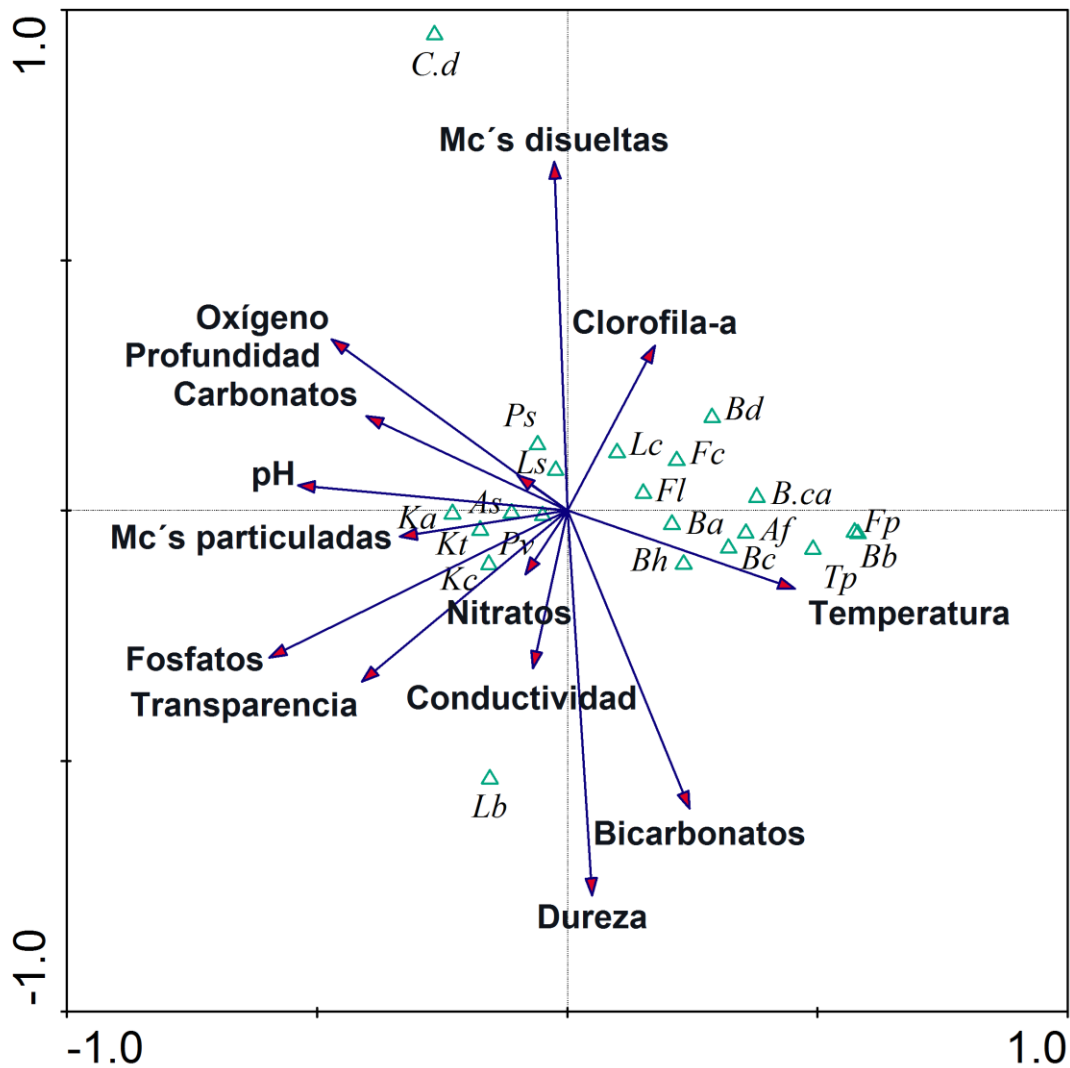


Figura.2.17. Diagrama del análisis de correspondencia canónica de las variables ambientales y las abundancias de las principales especies de rotíferos. Las letras indican la especie: Ba-*Brachionus angularis*, Bc-*Brachionus caudatus*, Bh-*Brachionus havanaensis*, Fl-*Filinia longiseta*, Fc-*Filinia cornuta*, Kt-*Keratella tropica*, Kc-*Keratella cochlearis*, Ka-*Keratella americana*, Pv-*Polyarthra vulgaris*, Tp-*Trichocerca pusilla*, Af-*Anuraeopsis fissa*, Ls-*Liliferotrocha subtilis*, As-*Asplanchna sieboldii*, Psp-*Pompholyx sulcata*.

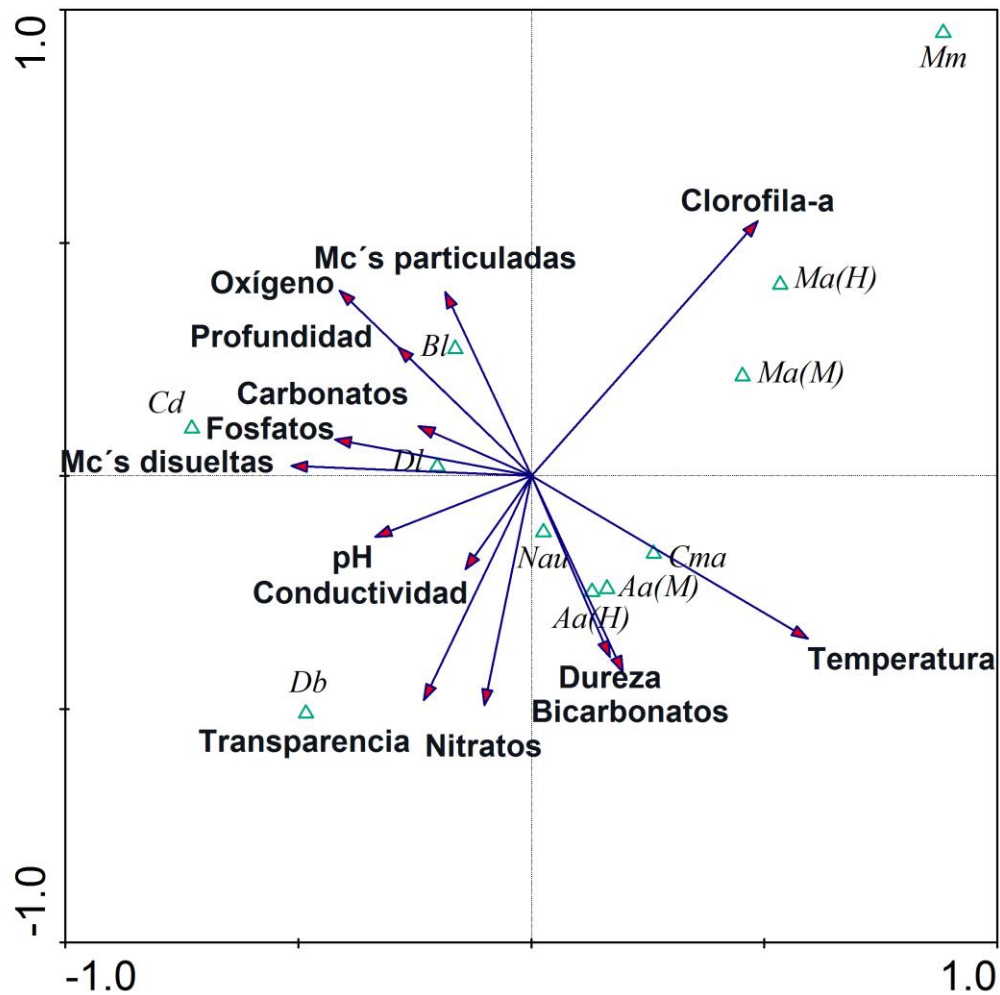


Figura.2.18. Diagrama del análisis de correspondencia canónica de las variables ambientales y las abundancias de las principales especies de Microcrustáceos. Bl-Bosmina longirostris, Dl-Daphnia laevis, Db-Diaphanosoma birgei, Mm-Moina micrura, Cd-Ceriodaphnia dubia, CAa- Copepoditos de Acanthocyclops americanus, CMA- Copepoditos de Mastigodiptomus albuquerquensis, Ma(H)-Mastigodiptomus albuquerquensis hembra, Ma(M)-Mastigodiptomus albuquerquensis macho, Aa(H)-Acanthocyclops americanus hembra y Aa(M)-Acanthocyclops americanus macho.



## Discusión

El incremento de asentamientos humanos y el desarrollo agrícola e industrial han propiciado el deterioro y desaparición progresiva de los sistemas acuáticos epicontinentales de México (Alcocer y Bernal-Brooks, 2019). El lago de Zumpango formó parte del complejo lacustre de la cuenca del Valle de México que, actualmente se han transformado en diferentes lagos urbanos que cumplen funciones cruciales, prestando servicios ambientales (conservación de la biodiversidad), sociales (regulación del microclima y sistemas de estabilización de aguas tratadas) y económicos (recreación) (Waajen et al., 2014; Rodríguez-Casanova y Zuria, 2018). Las principales variables establecidas como indicadoras del estado trófico de los sistemas lacustres por la organización para la cooperación económica y el desarrollo son, la concentración de nutrientes (fósforo), clorofila-*a* y la transparencia del medio (OECD, 1982). Existen cinco categorías tróficas con relación al promedio anuales dichos parámetros (ultra-oligotrófico, oligotrófico, mesotrófico, eutrófico e hipertrófico). De acuerdo con esto, el lago de Zumpango es un sistema hipertrófico debido a que la concentración promedio anual de clorofila-*a* es  $> 100 \mu\text{g L}^{-1}$  con una transparencia  $< 0.7 \text{ m}$  y aunque la concentración de fósforo total no fue obtenida en ésta evaluación, no obstante, se puede deducir a través de un factor de conversión la concentración de fósforo comprendida en el ión fosfato, que en este caso equivale a  $798 \mu\text{g L}^{-1}$ , reafirmando la condición de hipertrofia del lago (límite propuesto por OECD  $> 100 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

Los patrones a través de evaluaciones previas de sus características fisicoquímicas revelan este sistema ha sufrido cambios rápidamente, a pesar de ser catalogado previamente como un sistema con alteración trófica y alta productividad primaria (Domínguez-Pascual, 2006; Gómez, 2014), las condiciones actuales (cambio climático, cambio de uso del suelo, sobreexplotación de los recursos e introducción de especies) han alterado aún más dichas particularidades. Los nutrientes disueltos aumentaron drásticamente en la última década, las concentraciones promedio de nitratos ( $\text{NO}_3$ ) registrados fueron  $> 14 \text{ mg L}^{-1}$  con oscilaciones de  $0.9$  a  $28.5 \text{ mg L}^{-1}$ . Estas concentraciones químicas son completamente disimiles a los reportados años atrás por Domínguez-Pascual, (2006), quien obtuvo concentraciones de nitratos que variaron de  $0.14$  a  $0.90 \text{ mg L}^{-1}$  con un promedio de  $0.28 \text{ mg L}^{-1}$ , representando ~98% menor concentración en comparación a nuestro registro. Reyes-Cardoso (2017)

confirma nuestros resultados, reportando que las concentraciones ya fluctuaban de 6 a 10.08 mg L<sup>-1</sup> durante su ciclo de evaluación (junio 2010-mayo 2011). Con respecto a los fosfatos, la concentración promedio fue de 14.41 mg L<sup>-1</sup>, similares aquellas registradas por Figueroa-Sánchez (2020) años atrás, que variaron de 5 hasta 15 mg L<sup>-1</sup>, pero mucho mayores a las obtenidas por Domínguez-Pascual, (2006) (1.04 mg L<sup>-1</sup>). La variación anual de clorofila-*a* a principios de la década pasada, refleja que la concentración promedio de este pigmento era de 20 µg L<sup>-1</sup> con variaciones desde 0.06 µg L<sup>-1</sup> y algunas atípicas en febrero y marzo de ~100 µg L<sup>-1</sup> en dos sitios de muestreo, asociada a transparencias promedio de 1.70 m (Domínguez-Pascual, 2006) pero un par de años posteriores comenzó a incrementar en un rango de 18 a 90 µg L<sup>-1</sup> (Arredondo et al., 2007). Durante la década la concentración se acrecentó hasta obtener un valor promedio de 179.9 µg L<sup>-1</sup> con una drástica disminución de la transparencia (0.66 m) (Gómez, 2014). De acuerdo con nuestros resultados, la concentración promedio de clorofila-*a* se duplicó con relación al registró anterior y como resultado de la biomasa de organismos fototróficos, la transparencia en este estudio fue 80% menor que la reportada por de Domínguez-Pascual (2006). Diversos lagos someros en el centro de México son rellenados con aguas residuales parcialmente tratadas, registrando condiciones de hipertrofia similares a las de Zumpango, por ejemplo, Carmona-Ruiz (2015) y Escalante-Cruz (2016) registraron en los lagos de Texcoco (Nabor carrillo y Recreativo) concentraciones de fosfatos y nitratos > 50 mg L<sup>-1</sup> y 2 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente; sosteniendo una alta productividad primaria reflejada en una alta concentración de clorofila-*a* (> 1000 µg L<sup>-1</sup>) que altera la transparencia del medio (< 11 cm). En el lago Tezozómoc las condiciones son similares, Oliva-Martínez et al., 2008 y Morlán-Mejía (2014), califican de eutrófico este cuerpo de agua basados en la alta biomasa fitoplanctónica (hasta 355.1 µg L<sup>-1</sup>) asociada a concentraciones de nitrógeno de hasta 16 mg L<sup>-1</sup>. De acuerdo con Laguna-Sánchez (2019) y Alcocer et al., 2007, la transparencia de los lagos de Chapultepec (Viejo, Mayor y Menor) es menor a 40 cm, como resultado de la alta productividad bruta y biomasa fitoplanctónica (clorofila > 500 µg L<sup>-1</sup>), sustentada por una alta reserva de nitrógeno > 14 mg L<sup>-1</sup>.

El incremento térmico del sistema durante los últimos 14 años es otro factor para destacar. De acuerdo con los datos recopilados de Domínguez-Pascual, (2006) y Arredondo et al., (2007), Zumpango era un lago con un clima húmedo-templado que presentaba temperaturas

promedio de 14-18 °C, con mínimas de hasta 12°C, no obstante, Figueroa-Sánchez et al., (2020) registraron (junio 2010-mayo 2011) que ésta variable tenía un promedio de 19°C pero con una temperatura máxima de 23°C. Reyes-Cardoso (2017) (marzo-noviembre 2015), observó valores térmicos en la zona pelágica entre 17 a 25°C, coincidiendo con lo obtenido en nuestra evaluación anual (abril 2016- marzo 2017) donde registramos cambio térmicos anuales de 16 a 26 ° con un promedio entre las zonas de evaluación > 21°C, un grado menos que el reportado por el mismo autor, representando aguas más cálidas. Una posible explicación es el calentamiento global que a nivel mundial se estima ha incremento en al menos 2 °C las aguas superficiales con algunos casos particulares que presentan tasas de calentamiento diez veces mayor (Houghton, 2001; Cardoso-Mohedano et al., 2019). En adición, el nivel de la columna de agua tenía una máxima profundidad > 5 m y en el actual trabajo fue registrada en 3.97 m, reflejando un proceso de desecación, posiblemente por el aporte sedimentario de material alóctono y autóctono (orgánico e inorgánico) (Dittrich et al., 2009; Wörmer et al., 2011). Morlán-Mejía (2014), confirmo que el mayor aporte de las partículas sedimentarias en un lago hipertrófico de la ciudad de México (Tezozómoc) está relacionado a la disminución de la profundidad del sistema como resultado de una alta productividad primaria, debido a que el material orgánico representa cerca del 70% del material sedimentado, tendiendo a incrementar con relación a la concentración de clorofila-*a*. La concentración de oxígeno disuelto se registró en un rango de 2.9 a > 18 mg L<sup>-1</sup>; sin embargo, en 2003 era de 2 a 9 mg L<sup>-1</sup> y de acuerdo con Figueroa-Sánchez (2020) en 2010 el promedio de este gas fue de 10 mg L<sup>-1</sup>, mismo valor registrado en esta investigación. Además, coincide con la concentración registrada en otros lagos urbanos hipertróficos de la ciudad de México como Tezozómoc, donde las concentraciones oscilan de 5 a 18.6 mg L<sup>-1</sup>(Oliva-Martínez et al., 2008) o los sistemas del bosque de Chapultepec y la Alameda oriente con concentraciones > 10.55 mg L<sup>-1</sup> (Pineda-Mendoza et al., 2020).

El pH del lago de Zumpango es alcalino (9.3 unidades promedio) y desde las primeras evaluaciones ha mantenido esta condición con poca variación, coincidiendo con los hallazgos de Domínguez-Pascual (2006) (7.4 a 9.6). Sin embargo, Figueroa-Sánchez et al., (2020) y Figueroa-Sánchez (2015), mostraron que en la zona litoral presentó una concentración de iones hidrógeno > 11.5 unidades típica de zonas hipertróficas. De acuerdo con la propuesta

PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017 (Modificación de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996) donde se estipulan los límites permisibles de contaminantes y condiciones fisicoquímicas en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores, el pH del medio en sistemas naturales debería de ubicarse en un rango de 6.5 a 8.5. No obstante, durante nuestra evaluación siempre estuvo sobre el límite. Igual que Zumpango, diferentes sistemas lacustres de la región tienden hacia la alcalinidad, por ejemplo, Jiménez-Contreras et al., (2018) y Gayosso-Morales et al., (2017) reportan que el pH en el sistema de Xochimilco es en promedio  $> 7.8$  con variaciones estacionales (secas y lluvias) de 7 a 12 unidades. Asimismo, Jiménez-contreras et al., (2009) reportó que la presa de Valle de Bravo tiene variaciones de pH desde 7.2 a 9 unidades, siendo 8 el valor promedio. De acuerdo con López-Archilla et al., (2004) el aumento del pH en sitios eutróficos e hipertróficos se debe al agotamiento de  $\text{CO}_2$  como consecuencia de una alta actividad fotosintética debido a que el mecanismo de amortiguación ( $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^{-1}/\text{CO}_3^{-2}$ ) se desplaza hacia la dominancia de los iones bicarbonato y carbonato. Esto concuerda con nuestra investigación, durante el año de evaluación la alcalinidad del medio fue representada por una alta concentración de bicarbonatos y carbonatos disueltos  $150 \text{ mg L}^{-1}$  y  $> 71 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. En comparación con otros sistemas eutróficos de la zona centro de México, Moreno-Gutiérrez et al., (2018) reportaron concentraciones de bicarbonatos de hasta  $266 \text{ mg L}^{-1}$  asociadas a unidades de pH de 10 en la presa Madín. Además, Espinoza-Rodríguez (2016) mostró que en algunas zonas de la presa Benito Juárez las unidades de pH se mantenían en promedio en 8.4 unidades y disminuyeron a 6.1 (ácido-neutro) con la remoción de la macrófita *Egeria densa*, aunque no se generaron cambios drásticos en la concentración de carbonatos y bicarbonatos porque siempre fueron  $< 20 \text{ mg L}^{-1}$ .

La riqueza de especies de rotíferos en el lago de Zumpango fue dominada por nueve miembros de la familia *Brachionidae*, representando más del 40% de las especies identificadas. Ésta en conjunto con la familia *Lecanidade* han sido reportadas como las más comunes en los sistemas epicontinentales loticos y lenticos de México, y sus representantes suelen ser el componente dominante (Vázquez-Sánchez et al., 2014; Nandini et al., 2019). En especial los géneros *Brachionus* y *Keratella* son considerados los más comunes, presentando altas abundancias, siendo catalogadas como pantropicales y euritípicas (Koste,

1978; Segers, 2007; Sarma et al., 2011). Sarma y Elías-Gutiérrez (2000) y Serranía-Soto y Sarma (2003) tras un exhaustivo muestreo en diversos depósitos acuíferos ubicados en el Estado de México, Hidalgo, Tlaxcala y Veracruz, identificaron > 80 especies, obteniendo que las especies más comunes en todos los sistemas fueron *K. cochlearis*, *K. americana*, *K. tropica* y *B. angularis*. Así mismo, Nandini et al., (2005) reportaron que en los canales del lago de Xochimilco tan sólo dos especies (*K. tropica* y *B. havanaensis*) de estos géneros representaban > 33% de la densidad de rotíferos total. También, Figueroa-Sánchez et al., (2014) coinciden en el reservorio de Valle de Bravo, un sistema con presencia de CianoFANs productores de microcistinas, la familia *Brachionidae* representan el 35% de las especies registradas. Estos hallazgos concuerdan con nuestros registros debido a que los géneros *Brachionus* y *Keratella* son los más representativo del sistema con cinco y tres especies, consecutivamente. Con excepción de *Filinia pejeri*, todas las especies de rotíferos identificadas en este trabajo ya habían sido reportadas previamente en el sistema (Serranía-Soto y Sarma, 2003; Serranía-Soto, 2006; Domínguez-Pascual, 2006; Figueroa-Sánchez et al., 2020).

La diversidad de especies de rotíferos en Zumpango vario de 0.22 a 3.0, siendo una de las más bajas registradas en comparación con otros sistemas epicontinentales de la región (Ver Tabla 2.). Coincidiendo con los valores de diversidad de sistemas eutróficos con dominancia de especies de cianobacterias como la presa Madín, donde Moreno-Gutiérrez et al., (2018) reportaron que la baja abundancia de especies de rotíferos y la diversidad <1 Bits ind<sup>-1</sup> era probablemente por la presencia cianobacterias no comestibles y posiblemente tóxicas como *Aphanothece* y *Microcystis*. Gayosso-Morales et al., (2017) evaluaron una menor diversidad en la pista de Remo y Canotaje (< 2.5 Bits ind<sup>-1</sup>), dominada por un Ciano Fan compuesto de especies de *Mircrocystis aeruginosa* y *Planktothrix agardhii*, en comparación con los canales de Xochimilco con dominancia de clorofíceas (> 3.4 Bits ind<sup>-1</sup>), argumentando que las especies micrófagas (*K. cochlearis*, *K. tropica*, *B. havanaensis* y *P. vulgaris*) son el principal componente debido a la alta tolerancia a las cianotoxinas disueltas y porque pueden ser más tolerantes a condiciones limitantes de alimento por su bajo umbral límite de concentración de alimento.

<i>Sistema Acuático</i>	<i>Índice Shannon-Wiener</i>	<i>Referencias</i>
Lago de Xochimilco (canales) (CDMX)	1.2 - 4 Bits ind <sup>-1</sup>	Nandini et al., 2005 García et al., 2009 Nandini et al., 2016 Gayosso-Morales et al., 2017 Jiménez-Contreras et al., 2018
Pista de Remo y Canotaje (Xochimilco) (CDMX)	1.3 - 2.5 Bits ind <sup>-1</sup>	Gayosso-Morales et al., 2017
Presa de Valle de Bravo (Edo. de México)	0.07 - 4.09 Bits ind <sup>-1</sup>	Ramírez-García et al., 2002 Nandini et al., 2008 Jiménez-Contreras et al., 2009 Figuroa-Sánchez et al., 2014
Presa Iturbide (Edo. de México)	1 - 4.3 Bits ind <sup>-1</sup>	Sarma et al., 2011
Presa Llano (Edo. de México)	1 - 4.2 Bits ind <sup>-1</sup>	Muñoz-Colmenares et al., 2017
Presa Valerio Trujano (Guerrero)	1.3 - 3.2 Bits ind <sup>-1</sup>	Vázquez-Sánchez et al., 2014
Presa Madín (Edo. de México)	0.2 - 2.3 Bits ind <sup>-1</sup>	Moreno-Gutiérrez et al., 2018
Humedal de Chimaliapan (Edo. de México)	4.2 - 5.5 Bits ind <sup>-1</sup>	García-García et al., 2012
La Cantera Oriente (CDMX)	1.1 - 3.7 Bits ind <sup>-1</sup>	Gutiérrez et al., 2017
Lago de Tequesquitengo (Morelos)	0.5 - 2.4 Bits ind <sup>-1</sup>	Nandini et al., 2019
Río La Antigua (Veracruz)	2 - 4 Bits ind <sup>-1</sup>	Nandini et al., 2017
Río Amacuzac (Morelos)	0.5 - 2.5 Bits ind <sup>-1</sup>	Nandini et al., 2019

Tabla.2.2. Índice de diversidad de Shannon-Wiener de diversos sistemas epicontinentales (Zamora-Barrios, 2020)

Diversas especies de zooplancton han sido utilizadas como estándares indicadores de las condiciones tróficas de los sistemas acuáticos. Sládeček (1983) bajo el conocimiento de que los braquionidos son usualmente asociados a condiciones eutróficas, y, por el contrario, los trichocerquidos a sistemas oligo-mesotróficos, desarrolló una proporción entre la riqueza de especies de rotíferos de cada familia ( $Q_{B/T}$ ). Donde, un  $Q_{B/T} < 1$  = oligotrófico, 1-2 = mesotrófico y  $> 2$  Eutrófico, bajo este contexto el  $Q_{B/T}$  (9/1) del lago de Zumpango es mucho mayor a 2, indicando un sistema eutrófico. En comparación con sistemas similares Serranía-Soto (2006) obtuvo que los lagos someros de Tezozómoc y Chapultepec mostraron una baja riqueza de especies (21 y 5, respectivamente), resultando en una proporción de 7:0 y 3:0. Sin embargo, ésta no era la condición del lago de Zumpango (eutrófica y de baja riqueza específica). De acuerdo con Serranía-Soto y Sarma (2003) y Serranía-Soto (2006), era posible identificar 59 especies de rotíferos, representando cerca del 20% de las especies registradas para México ( $> 320$  especies) con abundancia de organismos poco comunes como *Höraella thomassoni* y *Keratella morenoi*. Además, el valor de la proporción de  $Q_{B/T}$  (6/5) = 1.2 indicando un sistema mesotrófico, similar a lo obtenido en otros sistemas que sirven como fuente de agua potable (Presa de Valle de Bravo,  $Q_{B/T} = 1.3$  y Presa del Llano,  $Q_{B/T}=1$ ) (Figuroa-Sánchez et al., 2014; Muñoz-Colmenares et al., 2017). En adición, la abundancia total de rotíferos también es utilizada indicar alteraciones tróficas. De acuerdo con May y

O'Hare (2005) y Ejsmont-Karabin, (2012) si la densidad total es  $< 500 \text{ ind L}^{-1}$  indicaría una condición oligotrófica, mientras que si se encuentra en un rango de 500-1000  $\text{ind L}^{-1}$  el sistema sería considerado mesotrófico, densidades entre 3000 a 4000  $\text{ind L}^{-1}$  es típico de sistemas eutróficos y finalmente  $> 40000 \text{ ind L}^{-1}$  representa una situación de hipertrofia. Con base en esto, diversas especies de rotíferos muestran por sí solas densidades  $> 5000 \text{ ind L}^{-1}$  por ejemplo *K. cochlearis* en marzo registró 10270  $\text{ind L}^{-1}$  y *B. havanaensis* 5120  $\text{ind L}^{-1}$  en agosto; sin embargo, con excepción de febrero y marzo todos los meses están en las categorías de eutrófico-hipertrófico.

Las características o rasgos (morfológicos, fisiológicos o conductuales) pueden representar la función ecológica de los organismos en el sistema (Josué et al., 2019). Por lo tanto, es probable que las especies con rasgos similares funjan funciones similares (Ver tabla 3.3). De acuerdo con Obertegger y Flaim (2015) y Obertegger y Flaim (2018), existen rasgos en rotíferos que proporcionan información ecológica indispensable como, la presencia o ausencia de lorica, proporcionando protección contra depredadores, incrementada por la presencia de espinas que, puede estar sujeta a variabilidad fenotípica dependiendo de la abundancia de depredadores. Además, existen mecanismos de defensa activos, representados por movimientos abruptos o levantamiento de las espinas con la finalidad de evitar la ingesta por depredadores. Las características alimenticias juegan un papel esencial, por lo que la corona además de ofrecen locomoción, también es indispensable en la percepción de alimento, y está intrínsecamente relacionada con la estructura mastax y el tipo de trofos. El modo de alimentación está relacionado con el proceso de adquisición. En adición, el tamaño del cuerpo del rotífero influye en las dimensiones de alimentos que pueden consumir y la presión de depredación, y los rotíferos raptoriales de mayor tamaño pueden consumir suministros de mayor dimensión en comparación con los micrófagos. Con relación a estas características, a lo largo del estudio se observó una baja abundancia de elementos raptoriales ( $> 15\%$ ) y contrariamente, una mayor proporción de especies de zooplankton con un tamaño corporal pequeño donde más del 80% presentan un modo de alimentación micrófago que, de acuerdo con Krztoń et al., (2019) es basada en algas, principalmente  $> 20\mu\text{m}$  y bacterias. Los resultados coinciden con el estudio de Josué et al., (2019) y Krztoń et al., (2019), quienes

encontraron que los sistemas eutróficos con dominio de las cianobacterias ven reducida la dispersión funcional de la comunidad lo que lleva a la dominancia de especies que poseen rasgos funcionales similares, limitando el papel del zooplancton en un ecosistema.

<i>Especies</i>	<i>Lorica</i>	<i>Defensa</i>	<i>Tipo de corona</i>	<i>Tipo de trofos</i>	<i>Modo de alimentación</i>	<i>Volumen del cuerpo (x10<sup>6</sup> μ<sup>3</sup>)</i>	<i>Referencia</i>
<i>Brachionus angularis</i>	Lori-espinas	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleado	Micrófago	0.316	Páez et al., 2015
<i>Brachionus caudatus</i>	Lori-espinas	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleado	Micrófago	0.408-0.684	Walz et al., 1995; Páez et al., 2015
<i>Brachionus havanaensis</i>	Lori-espinas	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleado	Micrófago	0.457	Páez et al., 2015
<i>Brachionus budapestinensis</i>	Lori-espinas	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleado	Micrófago	0.267	Walz et al., 1995
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Lori-espinas	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleado	Micrófago	2.926	Páez et al., 2015
<i>Keratella americana</i>	Lori-espinas	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleado	Micrófago	0.037	Páez et al., 2015
<i>Keratella cochlearis</i>	Lori-espinas	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleado	Micrófago	0.252-0.043	Walz et al., 1995; Páez et al., 2015; Obertegger y Flaim, 2015
<i>Keratella tropica</i>	Lori-espinas	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleado	Micrófago	0.063	Páez et al., 2015
<i>Anuraeopsis fissa</i>	Loricado	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleado	Micrófago	0.066	Páez et al., 2015
<i>Lecane closterocerca</i>	Loricado	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleado	Micrófago		
<i>Lecane bulla</i>	Loricado	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleado	Micrófago	0.082	Páez et al., 2015
<i>Liliferotrocha subtilis</i>	Loricado	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleado	Micrófago	0.253	Walz et al., 1995; Monakov, 2003
<i>Trichocerca pusilla</i>	Loricado	Pasivo	Notommata	Virgado	Raptorial		
<i>Asplanchna sieboldii</i>	Iloricado	Pasivo	Asplanchna	Incudado	Raptorial		
<i>Conochilus dossuarius</i>	Iloricado	Pasivo	Conochilus	Maleoramado	Micrófago		Monakov, 2003
<i>Pompholyx sulcata</i>	Loricado	Pasivo	Euchlanis/Brachionus	Maleoramado	Micrófago	0.361	Monakov, 2003; Walz et al., 1995; Oh et al., 2017
<i>Filinia longiseta</i>	Iloricado	Activo	Conochilus	Maleoramado	Micrófago	0.38	Obertegger y Flaim, 2015
<i>Filinia pejleri</i>	Iloricado	Activo	Conochilus	Maleoramado	Micrófago		
<i>Filinia cornuta</i>	Iloricado	Activo	Conochilus	Maleoramado	Micrófago		



<i>Polyarthra vulgaris</i>	Iloricado	Activo	Asplanchna	Virgado	Raptorial		Allen, 1968
----------------------------	-----------	--------	------------	---------	-----------	--	-------------

Tabla.2.3. Matriz de rasgos funcionales para el conjunto de especies de rotíferos identificadas en el lago de Zumpango (Zamora-Barrios, 2020).

Estudios recientes en entornos naturales han proporcionado evidencia de la estrecha relación entre la biomasa cianobacterial y bacterias heterotróficas asociadas. Pineda-Mendoza et al., (2020) demostraron que los Ciano FANs (conformado por especies altas abundancias de *Microcystis*, *Arthrospira*, *Planktothrix* y *Synechococcus*) de la pista de Remo y Canotaje de Xochimilco y del lago de Chapultepec estaban asociados a altas abundancias de bacterias heterotróficas como, *Rhodobacter*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas* y *Porphyrobacter* algunas de ellas con la capacidad de capaz de utilizar de manera oportunista la microcistina-LR como única fuente de nitrógeno y carbono para su desarrollo. Así mismo, Guedes et al., (2018) mediante el marcador molecular 16S rDNA, asoció la gran abundancia de Bacteroidetes, particularmente Cytophagales con el florecimiento dominado por *Microcystis* y el aumentó en abundancia relativa de *Planctomycetes* que, también se correlacionó positivamente con las de *Synechococcus* y *Cylindrospermopsis raciborskii*. La alta densidad de rotíferos especialmente durante los meses posteriores a las mayores abundancias de cianobacterias podría estar asociado con otros componentes de la comunidad planctónica (comunidad bacteriana). Work y Havaens (2003) demostraron que diversas especies de zooplancton, durante densos florecimientos cianobacteriales basan su preferencia alimentaria en el consumo de bacterias heterotróficas (bacteriófagos), y especies como, *Keratella cochlearis*, *Filinia longiseta*, *Conochilus dossuarius*, *Anuraeopsis fissa*, *Brachionus calyciflorus*, *Brachionus angularis*, *Brachionus caudatus*, *Brachionus havanaensis* y *Lecane bulla* muestran altos porcentajes consumo bacteriano (50-100%) y a pesar de que pueden consumir cianoprocariontes, esto no significa que sea intencionalmente. En adición, existen especies que basan su alimentación exclusivamente en bacterias, tal es el caso de *Anuraeopsis fissa* esto explicaría sus máximas densidades durante el mes de agosto ( $> 400 \text{ ind L}^{-1}$ ) (Monakov, 2003). También, Sarma y Nandini (2019) demostraron que en sistemas hipertróficos con bajas concentraciones de microcistinas ( $<0.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ) los diferentes tamaños de partículas del seston ( $<3$ ,  $3-15$  y  $<15\mu\text{m}$ ) son una importante fuente de alimento suplementaria para rotíferos micrófagos, permitiendo mantener tasas de crecimiento positivas de las especies micrófagas (*Brachionus budapestinensis*, *B. caudatus* y *B. havanaensis*).

La alta depredación por vertebrados también favorece el incremento de especies de talla pequeña (<200  $\mu\text{m}$ ) ya que la presión sobre los microcrustáceos de tallas grandes reduce de manera indirecta la competencia por el recurso limitante e interferencia (Gilbert, 1990; Figueroa-Sánchez et al., 2014). Hansson et al., (2007) argumentaron que las poblaciones de herbívoros generalistas (*p.ej. Daphnia*) con tamaños > 2000  $\mu\text{m}$  sufren presión de selección por dos vías principales; depredación por peces y alimentación con base en recursos tóxicos como las cianobacterias. Así, altas concentraciones de microcistinas se correlacionaron positivamente con por organismos zooplantónicos de talla pequeña que son filtradores ineficientes. Conjuntamente, diversas especies de rotíferos presentan alta tolerancia a las microcistinas particuladas y disueltas; incluso entre ellos, existen diferencias en la susceptibilidad a la exposición a las cianotoxinas (Fulton y Paerl, 1987). Por ejemplo, *B. havanaensis*, una de las especies comunes y dominantes, mostró tasas de crecimiento positivas al exponerla a una dieta de *M. aeruginosa* productora de microcistinas con una baja proporción de suministro algal (proporción 75:25) (Alva-Martínez et al., 2007). A pesar de ser una especie con distribución en las regiones en las regiones Neártica y Neotropical, actualmente se encuentra predominando (densidades > 500 ind L<sup>-1</sup>) en sistemas hipertróficos con problemas de Ciano FANs de las regiones Paleártica y Oriental (Sarma et al., 2019). También Pérez-Morales et al., (2020), demostraron que otras especies micrófagas como *B. rubens*, *Plationus patulus* y *B. calyciflorus* tuvieron cierto grado de tolerancia manteniendo tasas de crecimiento positivas con dietas combinadas de *M. aeruginosa* (población natural) y *Scenedesmus acutus* en proporciones > 50%.

Con relación a los microcrustáceos, los cladóceros *Daphnia laevis* y *Bosmina longirotris* y resultaron ser el componente dominante con presencia durante todo el ciclo de evaluación. Existe evidencia de la capacidad de diversos cladóceros de consumir cianobacterias y mantener tasas poblacionales positivas, incluso en algunos casos mayores en comparación con un suministro calórico basado en clorófitas (De Bernardi et al., 1981; Tillmanns et al., 2008). Nandini et al., (2000) mostró que *Daphnia laevis* aislada de un sistema tropical con presencia de un Ciano FAN tóxico, no mostró disminución de sus variables demográficas (tabla de vida), por el contrario, la tasa reproductiva de este cladóceros fue 80% mayor

consumiendo células de cianoprocariontes ( $1$  y  $3 \times 10^6$ ) en comparación con *Chlorella*, destacando que ésta capacidad podría ser indispensable en biomanipulación también. La incógnita de la gran tolerancia de esta especie fue resuelta por Ferrão-Filho et al., (2017) quienes observaron un aumento significativo del doble de la concentración en la actividad de la enzima antioxidante catalasa, al someter a este cladóceros a diferentes concentraciones de cepas de cianobacterias tóxicas ( $0$ ,  $125$ ,  $250$ ,  $375$ ,  $500$  y  $1000 \mu\text{g L}^{-1}$  peso seco), indicando un compromiso (*trade-off*) entre la producción de antioxidantes y decremento en algunas características demográficas. Posiblemente es por lo que en nuestro sistema fue un componente dominante con altas densidades especialmente en secas cálidas ( $> 900 \text{ ind L}^{-1}$ ) y mostrar asociación en el eje (diagrama de correspondencia canónica) con las concentraciones de microcistinas particuladas y disueltas en comunión con las concentraciones de fosfatos, carbonatos y oxígeno disuelto. Estos resultados concuerdan con lo obtenido por Brandão et al., (2012) quienes observaron un patrón estacional en la fluctuación de *D. laevis*, con mayores densidades ( $>1070 \text{ ind L}^{-1}$ ) registradas durante los períodos de circulación (mayo-agosto). También, encontraron correlaciones significativas entre su densidad, la concentración de clorofila-*a*, el fósforo total y el estado eutrófico del lago.

*Daphnia laevis* es una especie considerada de amplia distribución en el continente americano (Matsumura-Tundisi, 1984). Sin embargo, es importante considerar que la falta de variación morfológica ha sido relacionada con la intensa dispersión y la hipótesis de que diversos microcrustáceos son cosmopolitas. No obstante, estudios filogenéticos y biogeográficos demuestran que tan sólo en Norte América existen al menos cuatro diferentes grupos crípticos (Taylor et al., 1998). *Daphnia laevis* no había sido previamente reportada en Zumpango; pero si otros sistemas cercanos eutróficos con presencia de densos Ciano FANs como, Pátzcuaro o Valle de Bravo donde solía mostrar densidades  $<2 \text{ ind L}^{-1}$  pero éstas han aumentado, obteniendo picos de abundancias demográficas de hasta  $15 \text{ ind L}^{-1}$ , siendo así, un componente principal de la biomasa de zooplancton especialmente durante los meses de invierno (Kraus, 1986; Ramírez-García et al., 2002; Figueroa-Sánchez et al., 2014; Nandini et al., 2008). El lago Zumpango es el segundo embalse más importante para la migración y anidación de aves acuáticas en el Valle de México (familias: *Podicipedidae*, *Ardeidae*, *Rallidae* *Scolopacidae*,

*Laridae* y *Anatidae*); sin embargo, debido a las transformaciones que sufrió lago Texcoco por el comienzo de la construcción del nuevo Aeropuerto Internacional de la Ciudad de México, este sistema ha comenzado a recibir aves acuáticas residentes y migratorias desplazadas (Jiménez-Guevara et al., 2018; Rodríguez-Casanova y Zuria, 2018). La alta migración favorece la dispersión pasiva de especies de zooplancton a través de diversos modos como, zoocoria, anemocoria y antropocoria (Havel y Shurin, 2004). Proctor (1964) y Taylor et al., (1998) demostraron que los efipios (estructuras o huevos de resistencia) de microcrustáceos como *Alona*, *Macrothrix*, *Cypridopsis*, *Physocypria* y *Daphnia laevis*, fueron eficazmente transportados por aves migratorias y lograban eclosionar inclusive de sus heces. Así mismo, Nandini et al., (2009) identificaron por primera vez en México (humedal de Chimaleapan) a *Daphnia curvirostris*, una especie típica de sistemas acuáticos europeos, pero con presencia en Canadá y Estados Unidos; argumentando que el establecimiento de las poblaciones de daphnidos se debe a una gran población de aves migratorias y a la baja presión de depredación de vertebrados debido a los bajos niveles de oxígeno por la descomposición de la materia orgánica. En adición, hipótesis alternas proponen que el dominio de especies ajenas al sistema podría ser una consecuencia indirecta de la modificación del hábitat en conjunto con la pérdida de especies nativas (Didham et al., 2005).

Diversos autores coinciden con los hallazgos obtenidos, demostrando la capacidad de *Bosmina longirostris* de coexistir con florecimientos de cianobacterias, presentando altas densidades con picos de abundancia  $> 100 \text{ ind L}^{-1}$  (Ramírez-García et al., 2002; Figueroa-Sánchez et al., 2014). A diferencia de los Daphnidos de gran tamaño ( $> 200 \mu\text{m}$ ) que suelen ser filtradores generalistas consumiendo un amplio espectro de suministros alimenticios de diversas dimensiones (Burns et al., 1968). En cambio, cladóceros pequeños como *Bosmina longirostris* son consumidores más especializados. A pesar de que, existe evidencia que en ciertos periodos podría llegar a consumir cianobacterias (evaluaron la presencia de pigmentos cianobacteriales cantaxantina y zeaxantina en *Bosmina* spp.) (Tönno et al., 2016). No obstante, DeMott, (1986) demostró que ésta especie tiene la capacidad de desarrollar palatabilidad; a través de una base neural quimio-sensorial que les permite obtener información del sabor y la calidad de los alimentos, restringiendo la ingesta de células tóxicas y cambiando su modo de alimentación de filtrador pasivo a selectivo. En adición, muchos

microcrustáceos incluida presentan gran tolerancia a los metabolitos secundarios producidos por las cianobacterias como lo demostró Chen et al., (2013) reportando que las células lisadas de un florecimiento presente en el lago Taihu, no tuvieron ningún efecto negativo, debido a que no se presentaron diferencias significativas entre la densidad y biomasa de los tratamientos y los controles, sobre los microcrustáceos, *Bosmina longirostris*, *Ceriodaphnia cornuta*, *Mesocyclops* spp., *Limnoithona sinensis*, *Sinocalanus dorrii* y *Schmackeria inopinus*, a pesar de la alta concentración de microcistinas disueltas en un rango de 9.7 a 44.9  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Por lo que no es de extrañarse la correlación entre su abundancia y las fracciones de microcistinas disueltas y particuladas.

### **Conclusiones**

A partir de la caracterización fisicoquímica del lago de Zumpango se puede concluir que ha sufrido un drástico deterioro y con base en la condición actual se sitúa como un sistema hipertrófico.

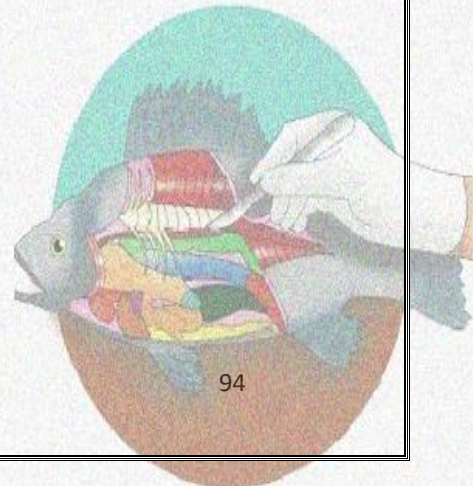
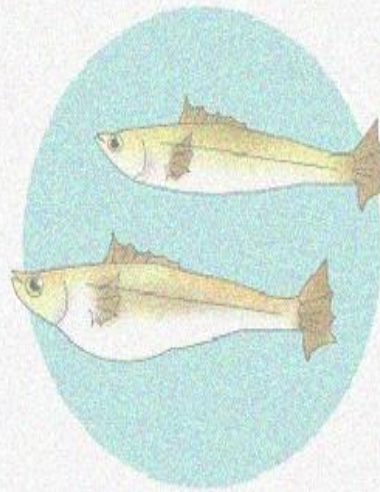
La estructura de la comunidad de zooplancton en el sistema está representada por 28 especies y es dominada por herbívoros no selectivos. Entre las 21 especies de rotíferos registradas, la familia de mayor representatividad fue la *Brachionidae*, siendo así, el componente micrófago representado por los géneros *Brachionus* y *Keratella* los más abundantes durante el periodo de evaluación. Respecto a los microcrustáceos, las familias *Daphnidae* y *Diaptomidae* fueron las que tuvieron mayor presencia, en especial las especies *Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia dubia*, *Bosmina longirostris*, *Mastigodiaptomus albuquerquensis* y *Acanthocyclops americanus*.

Entre el consorcio de cianobacterias presentes en el lago, *Planktothrix* cf. *agardhii* es la especie dominante durante el ciclo anual con un porcentaje de representatividad > 90%, presentando abundancias > 190,000 ind ml<sup>-1</sup>. No obstante, la mayor densidad de *Microcystis aeruginosa* en octubre que, representan el 60% de la abundancia total está correlacionada positivamente con la máxima concentración de equivalentes de microcistinas LR registradas en el sistema.

La concentración disuelta de oxígeno, carbonatos, nitratos, y la varianza en la conductividad y en las microcistinas-LR están asociadas con la abundancia de *Pompholyx sulcata* y *Polyarthra vulgaris*. Las densidades de las tres especies micrófagas del género *Keratella* son influenciadas por la profundidad del sistema, la transparencia y por las concentraciones de microcistinas particuladas y fosfatos.

## Capítulo III

# Acumulación de microcistinas en Seston, Zooplankton y Peces: Un caso de estudio en el Lago de Zumpango



## Capítulo III

### **Acumulación de microcistinas en Seston, Zooplancton y Peces: Un caso de estudio en el Lago de Zumpango**

#### **Resumen**

Las microcistinas producidas por los Ciano FANs en sistemas epicontinentales, se consideran tóxicas para diversos organismos incluido el zooplancton, que a menudo actúan como vectores de las cianotoxinas, debido a su rol funcional como consumidores primarios, ya que, al alimentarse de éstas, acumulan y transfirieren estos metabolitos a lo largo de la cadena alimentaria. Aunque los florecimientos de cianobacterias planctónicas son comunes y persistentes en los cuerpos de agua mexicanos, la información sobre la acumulación de cianotoxinas en múltiples eslabones de la cadena alimentaria es escasa. A pesar de que, el consumo de pescado es un elemento frecuente de la dieta de gran parte de la población nacional. En este estudio presentamos datos sobre las concentraciones de acumulación de microcistinas en el seston (material particulado suspendido mayor a 1.2  $\mu\text{m}$ ), zooplancton y peces (*Oreochromis niloticus* y *Chirostoma jordani*), producidas por un consorcio de cianobacterias en el lago de Zumpango, compuesto principalmente por *Planktothrix* sp., *Microcystis aeruginosa*., *Cylindrospermopsis* sp. y *Dolichospermum planctonicum*. Las muestras de zooplancton fueron obtenidas filtrando 600 L a través de un tamiz de malla de 200  $\mu\text{m}$  y los peces fueron colectados con el uso de una red de atarraya. Las microcistinas se extrajeron de las diferentes matrices por desintegración, usando homogeneización mecánica y metanol al 75%. Después de la extracción, las microcistinas se cuantificaron empleando el kit inmunológico de ELISA (Envirologix). Las concentraciones acumuladas, expresadas como equivalentes de microcistinas-LR, alcanzaron un valor máximo de 117  $\mu\text{g g}^{-1}$  en muestras sestónicas; en el zooplancton estaban en el rango de 0.0070 a 0.29  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Los taxones dominantes del zooplancton fueron los copepoditos de *Acanthocyclops americanus*, *Daphnia laevis* y *Bosmina longirostris*. Los resultados indican que en el tejido de *Chirostoma jordani* las concentraciones registradas fueron dos veces mayor al valor de consumo tolerable diario (0.04  $\mu\text{g/Kg/d}$ ), establecido por la OMS sobre productos de consumo humano provenientes de reservorios con presencia de Ciano FANs. Las microcistinas acumuladas en



la musculatura de *Oreochromis niloticus*, no representa un riesgo para la salud pública, a diferencia de *Chirostoma* que son consumidos completos por los comensales. Los datos se han discutido con énfasis en la importancia de monitorear regularmente los cuerpos de agua en México con presencia de florecimientos con la finalidad de disminuir el impacto toxicológico y sobre el riesgo que representa el consumo de productos contaminados con microcistinas.

## **Introducción**

Las cianobacterias tienen la capacidad de regular la biosíntesis de cianotoxinas (metabolitos secundarios), con efectos toxicológicos sobre una gran variedad de organismos acuáticos, terrestres, silvestres y domésticos e incluso seres humanos (Van Apeldoorn et al., 2007). Las microcistinas (MCs), son las cianotoxinas más abundantes tanto en ambientes de agua dulce como salobres, con cientos de variantes reportadas, diferenciadas dependiendo de los aminoácidos enlazados a la posición X y Z o 2 y 4 de la estructura general del heptapéptido (siete aminoácidos en una formación de anillo con una cadena lateral de  $\beta$ -aminoácido única (grupo ADDA)) (Chorus y Bartram 2000) (Fig 3.1). Nombradas así, porque fueron aisladas por primera vez de especies del género *Microcystis*; sin embargo, son producidas por varios géneros planctónicos y bentónicos como: *Anabaena*, *Phormidium*, *Planktothrix*, *Nostoc*, *Limnothrix*, *Anabaenopsis*, *Aphanocapsa*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Fischerella*, *Hapalosiphon*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Rivularia*, *Synechocystis* y *Synechococcus* (Codd et al., 2005; Rastogi et al., 2015).

La producción de MCs es estimulada por una combinación de factores ambientales como competencia, depredación, temperatura, intensidad de luz y la concentración de nutrientes (Merel et al., 2013). Después de la senescencia de los Ciano FANs o por medio de elementos que promuevan la lisis celular como, procedimientos de tratamiento de aguas o contaminantes químicos, las MCs son liberadas al medio (Hoeger et al., 2002; Dai et al., 2016). Su degradación natural es dependiente de la descomposición térmica y fotólítica, cambios de pH del medio (Harada y Tsuji, 1998; Schmidt et al., 2014), o degradación biológica por bacterias y hongos con la capacidad de hidrolizar la molécula y utilizarla como fuente de nitrógeno y carbono (Brinkman y Bourne, 2013; Li et al., 2017).

Una vez ingeridas, las MCs no pueden ser hidrolizadas por las enzimas peptidasas del estómago y son transportadas de manera activa a los hepatocitos mediante las proteínas transportadoras de aniones orgánicos del sistema biliar (OATP1B1 y OATP1B3) (Fontanillo et al., 2017). Las MCs tienen efecto inhibitorio sobre las enzimas serina y treonina encargadas de catalizar la fosforilación. El mecanismo de toxicidad es mediante la inhibición de la desfosforilación de los sustratos al enlazarse el aminoácido Adda de la microcistina al sitio catalítico de las proteínas fosfatasa (PP1, PP2A, PP2B, PP4, PP5 y PP6) (Mackintosh et al., 1990; Swingle et al., 2007), promoviendo necrosis o apoptosis celular, daños en los sistemas de reparación del DNA, la expresión genética y estrés oxidativo (Campos y Vasconcelos, 2010; Zanchett and Oliveira-Filho, 2013). Los principales síntomas de una intoxicación por ingestión de MCs son gastroenteritis, irritaciones, enfermedades hepáticas, incluyendo necrosis y cáncer que eventualmente podrían conducir a la muerte (Fontanillo y Kohn, 2018).

Debido a su alto grado de toxicidad y frecuencia alrededor del mundo (McLellana y Manderville, 2017), diferentes agencias ambientales incluida la Organización Mundial de la Salud (OMS), tienen establecido un valor de referencia de  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  para fuentes de agua potable de la variante LR de MCs (Chorus y Bartram, 1999). En México este mismo nivel se ha determinado bajo la NOM-250-SSA1-2010. Así mismo, con la finalidad de reducir los riesgos que las cianobacterias productoras de toxinas representan para la salud, se ha emitido una guía de valores de referencia para agua con fines recreativos, basada en la densidad celular y en la concentración de microcistinas. Las concentraciones recomendadas que representan un riesgo bajo asumen una concentración  $4 - 10 \mu\text{g L}^{-1}$  o  $< 20,000$  células de cianobacterias  $\text{ml}^{-1}$ .  $< 20 \mu\text{g L}^{-1}$  o entre 20,000 y 100,000 cels  $\text{ml}^{-1}$ , se consideran en la categoría de riesgos moderados y una concentración por encima de  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  o  $< 100,000$  cels  $\text{ml}^{-1}$ , con llevan un alto riesgo de efectos adversos para la salud (Chorus y Bartram, 1999; Churro et al., 2012; Paerl y Otten, 2013).

La gran mayoría de los reportes de intoxicación humana por cianotoxinas, valoran la exposición directa a través del suministro de agua potable (Liu et al., 2011; Tian et al., 2013), fallas clínicas en pacientes sometidos a hemodiálisis renal con cianotoxinas disueltas

(Jochimsen et al., 1998; Azevedo et al., 2002), contacto e ingesta de células de cianobacterias durante el desarrollo de actividades recreacionales (Pilotto et al., 1997; Stewart et al., 2006) y consumo de suplementos dietéticos orales provenientes de cultivos contaminados con cepas de cianoprocariontes productoras de toxinas (Saker et al., 2006; Costa et al., 2018). Sin embargo, éstas no son las únicas rutas de exposición; la evidencia sugiere que existen vías indirectas a través de vectores acumulando estos metabolitos secundarios. Las principales rutas a través de la ingesta de productos contaminados incluyen, consumo de hortalizas y frutos regadas con agua tratada con presencia de cianotoxinas (Drobac et al., 2013) e ingesta de organismos acuáticos (mariscos), provenientes de sitios con dominancia de cianobacterias productoras de toxinas (Ibelings y Chorus, 2007), una problemática recurrente en estanques acuícolas alrededor del mundo (Mohamed et al., 2003; Drobac et al., 2016).

De acuerdo con Ibelings y Chorus (2007), el concepto de bioacumulación hace referencia al proceso, por el cual, concentraciones de cianotoxinas en el tejido de un organismo exceden la concentración disuelta en el medio debido a la exposición por todas las vías (Ibelings y Chorus, 2007). Existe evidencia que demuestra que estos metabolitos secundarios son acumulados y posiblemente transferidos en las cadenas alimentarias acuáticas (Ferrão-Filho y Kozlowsky-Suzuki, 2011).

Los peces pueden ingerir y acumular cianotoxinas de manera directa por el consumo de agua con presencia de estos metabolitos, o al nutrirse de las células de cianoprocariontes como parte de la dieta habitual de los organismos omnívoros o fitoplanctívoros (p.ej. Carpa plateada) (Ibelings et al., 2005)). La vía indirecta, se desarrolla al entrar en contacto las células epiteliales con la fracción de cianotoxinas disueltas (piel y branquias) (Ibelings y Chorus, 2007). La exposición por la cadena alimentaria ha sido propuesta como la tercera vía de entrada de las cianotoxinas.

Con relación a los modelos clásicos de las redes tróficas y por su equivalencia funcional, compartiendo el mismo nivel trófico, las poblaciones interactuantes de zooplancton representan un componente clave de los sistemas acuáticos, principalmente por su función ecológica como consumidores primarios; transformando y transfiriendo la energía

proveniente de los productores primarios y del circuito microbiano hacia niveles tróficos superiores, formando así, parte de la dieta habitual de los consumidores secundarios y terciarios en las cadenas alimentarias de las comunidades acuáticas (Porter, 1996; Ventelä et al., 2002). Así, el zooplancton podría ser un importante vector de cianotoxinas a lo largo de la cadena alimentaria (Ferrão-Filho et al., 2002; Berry et al., 2012). Sin embargo, la literatura disponible sobre su acumulación es escasa, sobre todo, se requieren trabajos que analicen la presencia de microcistinas en uno o múltiples componentes de las cadenas alimentarias.

Las MCs son moléculas resistentes a la desnaturalización por ebullición, manteniendo su estabilidad a temperaturas superiores a los 300°C en condiciones de laboratorio (Wannemacher, 1989). La cocción de los alimentos contaminados con MCs, no favorece su degradación, por el contrario, incrementa su biodisponibilidad, fragmentando los enlaces covalentes con las subunidades catalíticas de las fosfatasa, aumentando el riesgo durante la ingesta de caldos o sopas de mariscos (Morais et al., 2008; Zhang et al., 2010). Aunado a los componentes tóxicos, los peces que tiene contacto con las cianobacterias presentan un déficit de nutrientes proteicos y lipídicos, y presentan un sabor desagradable, asociados a la acumulación de compuestos como geosmina y 2-metilisoborneol (Liang et al., 2015).

La OMS también ha establecido un valor guía de consumo tolerable diario de alimentos contaminados con microcistinas en tejido, principalmente para proteger a los comensales con afinidad por los recursos provenientes de sistemas naturales, este valor fue establecido en 0.04 µg/Kg/d, y derivado del nivel sin efecto adverso observable (por sus siglas en inglés, NOAEL, no observed adverse effect level) de 40 µg kg<sup>-1</sup> de microcistina-LR, asentado en un estudio histopatológico sobre ratones, y respaldado por el valor nivel de efectos adversos más bajo observado (por sus siglas en inglés, LOAEL, lowest observed adverse effect level), obtenido en un estudio crónico del efecto de extractos crudos de *Microcystis* en el agua de consumo diario de cerdos; sin embargo, se aplica un valor de incertidumbre de 1000 principalmente debido a la variabilidad entre especies (Fawell et al., 1994; Chorus y Bartram, 1999).

México tiene una producción anual de pescado de 1.7 millones de toneladas de los sectores de pesca y acuicultura; y el promedio de consumo por persona es de alrededor de 12 kg por

año (CONAPESCA, 2016). La carpa y la tilapia son las especies de peces más reproducidas en las prácticas de acuicultura a nivel mundial, parte de su alimentación se basada en el consumo fitoplancton, incluidas cianobacterias y detrito (Jhingran, 1995). La especie tropical omnívora *Oreochromis niloticus*, constituye hasta el 80% de la producción total (FAO, 2010). Esta especie se introdujo en México en 1964 y actualmente se producen anualmente cerca de 128 mil toneladas para consumo humano (SAGARPA, 2016). *Oreochromis niloticus* tiene la capacidad de ingerir y digerir cianobacterias tóxicas (Semyalo et al., 2010). Incluso se ha sugerido su uso en biorremediación debido a su capacidad para reducir las poblaciones de algas nocivas (Lu et al., 2006). Sin embargo, los peces omnívoros también pueden promover los Ciano FANs al alterar el estado trófico de los sistemas, removiendo los sedimentos durante la búsqueda de alimentos y, por lo tanto, liberar nutrientes a la columna de agua a través de la bioturbación (Cline et al., 1994; Adámek y Maršálek, 2013), o por ictioeutrofización a través de la ingestión, digestión y excreción de macrófitas (Opuszyński, 1980).

En México los peces del género *Chirostoma* se ubican principalmente en cuerpos de agua del centro del país, es representado por diversas especies endémicas. Principalmente, la especie *Chirostoma jordani* ha sido consumida ampliamente por los mexicanos desde tiempos prehispánicos, debido a su alto contenido en proteínas (74.36% en 100 g), minerales, lípidos y carbohidratos, es considerada como un alimento de alto valor nutricional (Melo-Ruiz et al., 2014). Pero, su abundancia en los cuerpos de agua ha disminuido debido a la pérdida del hábitat y por la introducción de especies exóticas (Hernández-Batista et al., 2015). Los adultos de *Chirostoma* o “Charales” (> 5 cm), se comercializan secos o frescos, logrando su máxima producción en el país en el año 2016 (> 12 mil toneladas) (Navarrete-Salgado, 2017). Sin embargo, su captura se desarrolla en sitios que presentan altas densidades de cianobacterias (Dzul-Caamal et al., 2014). Especies de peces pequeños como *Chirostoma* y *Goodea* representan un mayor riesgo para la salud humana, debido a que estos géneros son consumidos en su totalidad, incluyendo vísceras. Además, se ha demostrado su baja capacidad de depuración de cianotoxinas y bioacumulación con niveles superiores a los encontrados en la columna de agua (Berry et al., 2011).

## Antecedentes

Uno de los primeros estudios que, evaluó la acumulación de microcistinas en diferentes componentes de la cadena alimentaria fue realizado por Ferrão-Filho et al., (2002). Cuantificaron durante seis meses en Jacarepagua, un embalse dominado por *Microcystis aeruginosa*, la concentración de cianotoxinas en seston por cromatografía líquida de alta resolución y en zooplancton por el ensayo de ELISA. La comunidad de zooplancton estaba compuesta por rotíferos (*Brachionus angularis* y *B. plicatilis*), cladóceros (*Moina micrura* y *Ceriodaphnia cornuta*) y el copépodo *Metacyclops mendocinus*. Las microcistinas en el zooplancton oscilaron entre 0.3 y 16.4  $\mu\text{g g}^{-1}$ , mientras que en las muestras sestónicas fueron de indetectables a 5.8  $\text{ng g}^{-1}$ . Los autores concluyeron que el zooplancton es un acumulador eficiente de microcistinas y que pueden ser vectores potenciales en la transferencia de tales toxinas a niveles tróficos superiores en la cadena alimentaria acuática.

En México existen tres registros previos de acumulación de cianotoxinas en tejidos y órganos de especies de interés comercial. Berry y Lind (2010) fueron los primeros investigadores en alertar que el gasterópodo *Pomacea patula catemacensis*, una especie endémica del lago de Catemaco, y de gran consumo local, bioacumula concentraciones de cilindrospermopsina (CYN) y toxinas paralizantes de moluscos (saxitoxinas), representando una amenaza potencial para la salud humana. Obtuvieron muestras de las fracciones disueltas y partículas del Ciano FAN compuesto 95% por especies del género *Cylindrospermopsis*, así como los extractos del gasterópodo, obtenidos con metanol al 75% para las microcistinas y con ácido fórmico al 5% para cilindrospermopsina y saxitoxinas. Usando ELISA se logró la detección de CYN y saxitoxinas a bajas concentraciones en el seston; sin embargo, las concentraciones de ambas toxinas en los caracoles fueron mayor a los niveles disueltos (3.35 y 1.04  $\text{ng g}^{-1}$ , respectivamente) correspondiendo a valores de factores de bioacumulación de 157 y 196.

Berry et al., (2011). Midieron en el lago de Pátzcuaro, Michoacán, México, la concentración de microcistinas disueltas, acumuladas en el seston y bioacumuladas en músculo y vísceras de especies de peces comerciales de consumo humano: *Chirostoma* spp., *Goodea* sp. y *Cyprinus carpio*. La concentración de las fracciones de microcistinas disueltas se encontraron en un rango de 0.16–0.19  $\mu\text{g L}^{-1}$ , mientras que en las muestras de seston midieron

concentraciones de hasta  $0.36 \mu\text{g L}^{-1}$ , con respecto a las concentraciones de microcistinas detectadas en los peces, *Chirostoma* spp. presentó los menores valores de concentración ( $18.5 \text{ ng g}^{-1}$ ), por el contrario, el pez fitoplanctívoro *Goodea* sp. obtuvo valores de  $867 \text{ ng g}^{-1}$  en vísceras y  $157 \text{ ng g}^{-1}$  en musculatura. Las variantes de microcistinas detectadas fueron LA, LY, LR y RR. Los autores concluyen que el lago de Pátzcuaro está caracterizado por un florecimiento tóxico y que las especies de peces de gran importancia comercial acumulan altas concentraciones de microcistinas, poniendo en riesgo a los comensales.

Con la finalidad de analizar, si existía bioacumulación en los niveles tróficos superiores, y sí representa una ruta de exposición humana a las cianotoxinas. Berry et al., (2012) evaluaron la concentración acumulada en músculo de nueve especies de peces *Rhamidia* sp., *Oreochromis aureus*, *Vieja* sp., *V. fenestrata*, *Heterandria jonesii*, *Bramocharax caballeroi*, *Cichlasoma urophthalmus*, *C. helleri* y *Dorosoma mexicana*, y en el tejido del caracol endémico *Pomacea patula catemacensis* (conocidos localmente como “tegogolos”), especies capturadas y consumidas localmente en el lago de Catemaco. Mediante kits de ELISA determinaron la concentración de cilindrospermopsinas y toxinas paralizantes de moluscos. Los resultados mostraron que la concentración de ambos metabolitos secundarios estaba por debajo  $1 \text{ ng g}^{-1}$ . No obstante, mediante el cálculo del factor de bioacumulación demostraron que las concentraciones en algunos organismos superaban los niveles de las toxinas diluidas en la columna de agua, indicando bioacumulación. La concentración de estas cianotoxinas se correlacionó con la abundancia de células de *Cylindrospermopsis*. Las especies de peces *D. mexicana* y *B. caballeroi* (filtradores herbívoros) y *V. fenestrata* y *H. tuxtlaensis* (herbívoros/omnívoros), mostraron los mayores niveles de acumulación para ambas toxinas, sorpresivamente los valores más bajos medidos fueron presentados por *O. aureus*, de (herbívoro), los autores suponían que ésta acumulara mayor concentración, Sin embargo, este organismo consume principalmente cianobacterias de talla grande y *Cylindrospermopsis* es una cianobacteria de talla pequeña, evitando de esta forma la ingesta debido a la selección de partícula.

Una de las primeras evaluaciones de cianotoxinas en diferentes eslabones de la cadena alimenticia, fue realizada por Larson et al., (2014). Tomando muestras en cuatro lagos en el

centro de Suecia; Ekoln, Lilla Ullfjärden, Valloxen y Storsjön, todos ellos dominados por taxones productores de microcistinas hepatotóxicas como, *Planktothrix prolífica*, *Microcystis aeruginosa* y *Dolichospermum* sp. Entre sitios la concentración de microcistinas más alta registrada en las muestras de agua fue la del lago Lilla Ullfjärden, durante un evento de Ciano FAN de *P. prolífica* ( $35 \mu\text{g L}^{-1}$ ). La mayor acumulación de MC se midió en invertebrados; sin embargo, fue generalmente baja en peces. Los niveles máximos de acumulación en cada nivel trófico fueron de  $9 \mu\text{g g}^{-1}$  en zooplancton,  $10 \mu\text{g g}^{-1}$  en bentos y  $2,7 \mu\text{g g}^{-1}$  en hígado de peces pequeños de la familia *Osmeridae*. En el músculo de los peces, los niveles más altos registrados fueron  $0.10 - 0.18 \mu\text{g g}^{-1}$ . Con base en el valor de consumo diario tolerable de la Organización Mundial de la Salud de  $0.04 \mu\text{g kg}^{-1}$  de peso corporal, concluyen que el riesgo para humanos, relacionado el consumo de peces de estos sitios es mínimo.

Valadez-Pérez (1998). Realizo el primer trabajo de acumulación de elementos químicos en el lago de Zumpango. Argumentando que, la intoxicación por metales pesados es una de las patologías más importantes dentro del campo de la toxicología, analizo las concentraciones de metales pesados y el riesgo para la salud humana a través del consumo de peces (carpas), recolecto 30 organismos con las mismas características, obteniendo musculatura, riñón e hígado de cada individuo. Todas las muestras fueron digeridas en horno de microondas, para después ser analizadas por espectrofotometría de absorción. Las concentraciones encontradas de cadmio, arsénico y plomo en la musculatura fueron 47.06, 7.06 y 260 ppb. El plomo fue el metal más acumulado en todos los tejidos evaluados. La acumulación de cadmio, arsénico y plomo registradas, sugieren tomar precauciones en el consumo de carne de peces del lago.

### **Pregunta**

- ¿Están los organismos zooplantónicos y nectónicos del lago de Zumpango acumulando microcistinas en sus órganos y tejidos?

### **Hipótesis**

- El zooplancton, es el enlace más importante entre productores primarios y los consumidores de niveles tróficos superiores, como los peces. De esta forma el zooplancton puede ser un importante vector de las cianotoxinas a lo largo de la cadena



alimentaria, permitiendo la transferencia hacia organismos que presentan mayor sensibilidad a estos compuestos, incluyendo a los seres humanos. El riesgo de intoxicaciones a través del consumo de agua potable con presencia de cianotoxinas, ha sido ampliamente documentado, no obstante, las rutas adicionales de exposición a las cianotoxinas (acumulación en tejido de organismos consumidos por el ser humano, “mariscos”), han sido poco evaluadas. (H<sub>0</sub>) Si las microcistinas son acumuladas por los organismos zooplantónicos y nectónicos, entonces podrían ser transferidas en la cadena trófica a través del proceso de depredación, y el consumir organismos contaminados con microcistinas podría representar un riesgo, si los niveles se encontrarán por encima del valor permisible por la Organización Mundial de la Salud (0.04 µg/Kg/d consumo tolerable diario). (H<sub>1</sub>) El zooplancton y necton, no acumula microcistinas en sus tejidos, por lo tanto, no se transfieren mediante la depredación, y los consumidores terciarios no están expuestos a las cianotoxinas por esta ruta indirecta.

## **Objetivos**

- Cuantificar las variaciones estacionales de microcistinas disueltas y particuladas en la zona superficial de la columna de agua en el lago de Zumpango, a lo largo de un año.
- Determinar la acumulación de microcistinas en dos niveles de la cadena alimentaria, mediante la extracción y cuantificación de microcistinas en seston, zooplancton y peces de interés comercial, provenientes de un sistema natural con presencia de un Ciano FAN.

## **Materiales y Métodos**

### *Colecta de muestras*

Se realizó un muestreo mensual de abril 2016 a marzo 2017 en lago de Zumpango, ubicado en el Estado de México. En el cuerpo de agua se pre-establecieron cinco zonas de muestreo (ver mapa en área de estudio); el sitio 1 es la zona más cercana al embarcadero, donde diariamente los habitantes locales obtienen recursos provenientes del lago que son mercadeados en pequeños locales aún costado del embalse, además en esta zona está siendo

planificada la edificación de una piscifactoría con la finalidad de aumentar la productividad comercial del sitio. Se recolectaron muestras biológicas de los florecimientos cianobacteriales, zooplancton y peces.

*Estimación de la concentración de microcistinas disueltas y particuladas (Seston).*

Para analizar las concentraciones de equivalentes de microcistinas en seston y disueltas en el medio, fue colectado un litro de agua superficial (0-0.5 m) mensualmente, con esto, se obtuvieron 12 muestras para su posterior análisis en el laboratorio. Las muestras fueron almacenadas en frascos de vidrio ámbar (previamente desinfectadas) para prevenir la degradación de estos metabolitos secundarios y transportadas al laboratorio bajo refrigeración ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ); una sub-muestra fue inmediatamente preservada con formaldehído al 3 % con el objetivo de identificar y cuantificar la abundancia de las principales especies de cianobacterias planctónicas presentes en ese momento en el sistema. Las muestras fueron etiquetadas con los datos de localidad, fecha, hora y forma de preservación.

En el laboratorio las muestras fueron previamente filtradas a través de una malla de 200  $\mu\text{m}$  para remover el zooplancton  $> 200 \mu\text{m}$  y posteriormente revisadas para eliminar por completo el zooplancton restante de forma manual ( $<200 \mu\text{m}$ ), y así atribuir el peso total principalmente al seston.

Con la finalidad de relacionar la concentración de equivalentes de microcistinas contenidas en el material particulado y disueltas en el medio acuoso, cada mes, un litro de muestra fue filtrado a través de un filtro de fibra de vidrio GF/C de poro de apertura de 1.2  $\mu\text{m}$  y 70 mm de diámetro (previamente deshidratados y pesados hasta obtener un peso constante). Con la finalidad de obtener el peso seco del material particulado, los filtros se colocaron en cajas de Petri durante 24 horas a  $45^{\circ}\text{C}$  en un horno de cultivo, y fueron pesados con una balanza analítica con una precisión de 0.0001 g (BOECO, modelo: BPS 41) para posteriormente calcular el peso seco del material sustrayendo el peso inicial del filtro pre-pesado. En los casos donde el filtro era saturado debido a la alta densidad celular, más filtros pre-pesados fueron requeridos.

El metanol ha sido recomendado como el solvente más adecuado para la extracción de microcistinas de muestras biológicas, debido a su alta eficiencia de extracción y su rápida eliminación mediante evaporación (Chorus y Bartram, 1999; Cerasino et al., 2017). Los filtros pesados fueron cuidadosamente cortados en pequeños trozos con tijeras nuevas y previamente esterilizadas. Las microcistinas fueron extraídas usando como solvente una mezcla de metanol grado HPLC 75% y agua destilada 25%. Se añadieron 20 ml de solvente a los filtros y se permitió la extracción durante 24 horas. La desintegración celular total se obtuvo mediante homogenización mecánica con un macerador de tejidos (IKA, Modelo: Ultra-Turrax) por un periodo de 10 min, ultrasonificación por 10 min a 20 kHz (Cole-Palmer Instruments, modelo: CP 130PB-1). El material fue centrifugado a 3000 r.p.m para eliminar las partículas suspendidas (Fastner et al., 1998; Cerasino et al., 2017).

El solvente orgánico fue eliminado mediante evaporación (Evaporador rotativo), sometido a una temperatura de 45°C. Este proceso se repitió tres veces en total, añadiendo 20 ml de solvente en cada ocasión y usando el mismo matraz de evaporación (Chorus y Bartram, 1999; Cerasino et al., 2017).

El extracto se re-suspendió en agua destilada, se centrifugó a 3000 r.p.m. por 15 minutos y se filtró nuevamente (filtro de fibra de vidrio GF/C). Tanto las microcistinas disueltas en el agua como las extraídas de las células se midieron mediante el kit inmunológico de ELISA (Quantiplate Kit for Microcystins, Envirologix), con un rango de detección de 0.16 a 2.5 ppb ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ). De acuerdo con el fabricante, este kit es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas de competencia, donde la microcistina en la muestra compete con la microcistina marcada con una enzima (peroxidasa) por un número limitado de sitios de unión de anticuerpos específicos, fijados a los pozos de las placas. Después de un simple paso de lavado, el resultado de la competencia se visualiza mediante la precipitación del cromóforo. La concentración de la cianotoxinas en las muestras es inversamente proporcional al desarrollo del color, una concentración mayor es representada por un menor desarrollo de coloración y viceversa.

La concentración de equivalentes de microcistinas contenidas en las células se reportó en  $\mu\text{g g}^{-1}$  (Ferrão-Filho et al., 2002):

$$\text{Contenido de microcistinas en Seston } \mu\text{g/g} = \frac{(\text{MCs extraídas } \mu\text{g/L})}{(\text{Peso de seston g/L})}$$

*Observaciones, Identificación taxonómica y cuantificación de cianobacterias.*

Las 12 sub-muestras preservadas en formaldehído al 3% (abril 2016 a marzo 2017) fueron observadas, fotografiadas y cuantificadas en un microscopio óptico equipado con objetivos de 10x a 100x (Nikon, Modelo: Eclipse E600). Para la examinación de los organismos en alta magnificación fue necesario el uso de aceite de inmersión para objetivos ( $\geq 100x$ ). Mediante la aplicación informática del programa Motic images plus 3.0 se obtuvieron las medidas del diámetro ( $\mu\text{m}$ ) para las células esféricas o semiesféricas, además del largo y ancho de las células vegetativas de las cianobacterias filamentosas.

Para la identificación morfológica de las especies de cianobacterias fue necesario el uso de claves taxonómicas especializadas (Anagnostidis y Komárek 1985; Anagnostidis y Komárek 1988; Anagnostidis y Komárek 1990; Hindák 2008). En los casos donde no fue posible designar con confianza a nivel de especie, se conservaron hasta nivel filogenético de género. El análisis cuantitativo de la abundancia de especies en los florecimientos se realizó mediante el método de gota de Lackey (APHA, 1998), este método es similar al conteo con la cámara de Sedgwick-Rafter; recomendado para recuentos con precisión en muestras que presentan alta densidad de especies de fitoplancton. Las muestras concentradas en contenedores de plástico de 200 ml de capacidad fueron homogeneizadas de manera manual. Con una micropipeta (volumen de 1-5 ml) calibrada con exactitud, se extrajo una submuestra de 1 ml que fue transferido a un gotero de alta precisión para obtener el número de gotas contenidas por cada ml, en este caso 15 gotas por cada ml. Para preparar los montajes húmedos de las muestras fue necesario colocar en un portaobjetos de vidrio (75 x 25 mm, 1 mm de espesor) una gota del material cianobacterial y colocar un cubreobjetos sobre la muestra. Se cuantificaron 5 gotas por ml con 3 réplicas por muestra.

*Estimación de la concentración de microcistinas acumuladas en zooplancton.*

De la zona superficial del sitio del primer sitio de muestreo, se filtraron 600 L de agua superficial a través de una malla para plancton de 50  $\mu\text{m}$  de luz de apertura, una sub-muestra fue concentrada en 100 ml y químicamente fijada (formalina 4%) para su posterior identificación y cuantificación en el laboratorio. Con la finalidad de evitar contaminación o sobreestimación de la concentración real de microcistinas que podría ser halladas debido a la presencia de cianobacterias en las muestras, éstas fueron filtradas usando una malla de 250  $\mu\text{m}$  y enjuagadas en repetidas ocasiones con agua destilada y se observó cada vez en el microscopio estereoscópico (Nikon, Modelo: SMZ 645) hasta que la muestra estuviera libre de cualquier cianobacteria o de cualquier material particulado. Posteriormente, el zooplancton fue transferido a un contenedor con dos litros de medio EPA (Environmental Protection Agency, agua moderadamente dura) a la temperatura del sitio de recolecta (dependía del mes de muestreo) y se mantuvo así por 1.5 h, permitiendo mediante la excreción la eliminación total de cianobacterias de su sistema digestivo (Ferrão-Filho et al., 2002; Ibelings et al., 2005). Para concentrar la biomasa del zooplancton, las muestras (libres de materia orgánica particulada) fueron filtradas a través de filtros de fibra de vidrio (GF/C), previamente deshidratados y con pesos constantes. Los filtros se colocaron en una caja de Petri con etiquetas donde se mencionaba el valor del peso invariable obtenido y se mantuvieron en el horno por 24 h sometidos a una temperatura de 45°C. Una vez deshidratada la biomasa, se obtuvo su peso (g) sustrayendo el peso del filtro con y sin biomasa del zooplancton.

Los filtros con la biomasa del zooplancton fueron cortados en piezas pequeñas y con el fin de permitir la extracción de las microcistinas, se les añadió 20 ml de metanol (75%), y se mantuvieron así durante 24 h a temperatura ambiente. Se homogeneizó mecánicamente el material (Homogeneizador de tejidos, IKA, Modelo: Ultra-Turrax) por un periodo de 10 minutos, continuado con un proceso de centrifugación durante 15 min a 3000 r.p.m. para obtener el sobrenadante y eliminar los remanentes (El Ghazali et al., 2010). Para eliminar el solvente del sobrenadante, y proceder con la cuantificación de microcistinas, se hizo uso de un evaporador rotativo, el ciclo evaporación-decantado fue repetido en tres ocasiones añadiendo 20 ml en cada ocasión (Chorus y Bartram, 1999; Cerasino et al., 2017).

La extracción fue re-suspendida en agua destilada, centrifugada, filtrada y cuantificada. La cuantificación de la microcistinas fue realizada mediante el ensayo competitivo de ELISA, donde la longitud de onda establecida para obtener la medida espectrofotométrica para la lectura de los pocillos en las placas fue a 450 nanómetros (nm) (Chu et al., 1990).

*Observaciones, Identificación taxonómica y cuantificación de zooplancton.*

Las sub-muestras preservadas de Zooplancton (600 L filtrados), obtenidas del sitio 1, se concentraron en 100 ml y fueron depositadas en recipientes de plástico (PVC) transparentes de boca ancha. Un previo análisis basado en observación y microdissección con agujas especializadas (tungsteno, 0.3 a 0.5 mm), afiladas con una solución de hidróxido de potasio al 10%, y montaje de preparaciones con glicerina al 5% fue requerido. Se desarrolló un compendio fotográfico de algunos caracteres anatómicos diacríticos (Cladoceros: antenas, anténula toracópodos, antenas, anténulas, postabdomen, Copepodos: prosoma, urosoma mandíbulas, maxílulas, maxilas, maxilípedos) que permitieron seguir las claves de identificación especializadas (Korovochinsky y Smirnov, 1998; Dussart y Defaye, 2001; Elías-Gutiérrez et al., 2008). Para el análisis cuantitativo del zooplancton (abundancia ind L<sup>-1</sup>), se hizo uso una cámara de recuento de acrílico transparente, con una capacidad de 20 ml, segmentada cada 0.5 centímetros como guía (APHA, 1998). Se realizaron tres alícuotas de 5 ml para cada muestra utilizando un microscopio estereoscópico Nikon, Modelo: Eclipse E600 para esto.

*Estimación de la concentración de microcistinas acumuladas en peces.*

Para obtener peces del Lago de Zumpango, fue requerido el uso de una red de captura tipo atarraya de forma cónica, rodeada de una línea de plomos, con una luz de malla de 37.5 mm (1 ½ pulgadas) (NORMA oficial Mexicana NOM-SAG/PESC-2016). Las especies de peces presentes en el sistema y capturadas fueron: los peces omnívoros del género *Oreochromis* (*Oreochromis niloticus*) “Tilapia” y peces zooplanctívoros de la especie *Chirostoma jordani*, conocidos comúnmente como “Charales” (ambas especies consumidas localmente y mercadeadas a orillas del lago). Los organismos fueron transportados al laboratorio en contenedores refrigerantes ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ).

En el laboratorio se registró la talla (largo y ancho en cm) de los peces zooplanctívoros capturados, mediante un vernier (MARCA), y el peso húmedo con el uso de una balanza analítica BOECO, modelo: BPS 41. Un total de 30 charales fueron tomados del sitio de muestreo en los meses de abril, junio, agosto, octubre, diciembre y febrero (5 organismos por mes). Debido a su tamaño pequeño (6.63 largo y 1.22 cm de ancho promedio) y que son degustados completos ya sea empanizados con harina de trigo (freídos en aceite) o secos (deshidratados por exposición al sol) en los mercados locales, también se obtuvo el peso seco de los Aterínidos mediante su deshidratación en un horno de cultivo a 45°C durante 24 h. A fin de determinar las concentraciones de microcistinas acumuladas en los tejidos de Tilapia, se efectuó una disección manual de 15 organismos capturados en Abril, Octubre y Febrero (5 individuos por mes), de los cuales, se extirparon los hígados, intestinos, branquias y músculos (10 g debajo de la aleta dorsal del lado izquierdo de los peces), estos fueron pesados y almacenados (-20°C) para su posterior extracción y cuantificación de microcistinas (Berry et al., 2011).

Igual que con el zooplancton, la extracción de microcistinas de cada pez y de los órganos se realizó utilizando metanol al 75% y mediante homogeneización mecánica durante 30 minutos. Los tejidos se centrifugaron a 3000 r.p.m durante 15 minutos y el sobrenadante resultante se pasó a través de filtros GF/C. El filtrado se colocó en un evaporador rotativo ajustado a 45 ° C (repetido 3 veces, decantando cada vez en el mismo matraz). La extracción fue re-suspendida en 20ml de agua destilada, se centrifugó y se filtró por segunda vez para eliminar completamente el material particulado. Las concentraciones de microcistina se cuantificaron utilizando el kit inmunológico ELISA (EL Ghazali et al., 2010). Las microcistinas acumuladas en zooplancton y peces se reportaron como  $\mu\text{g g}^{-1}$  y  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ , respectivamente.

$$\text{Acumulación en tejidos en ng/g} = \frac{(\text{MCs extraídas ng/ml}) \times (\text{Volumen extraído ml})}{(\text{Peso del tejido g})}$$

#### *Análisis estadístico*

El diseño gráfico para la presentación de los datos y los análisis estadísticos se hicieron utilizando el programa Sigma Plot 11. Para determinar el grado de relación entre las

concentraciones de microcistinas disueltas en cada mes de muestreo frente a las concentraciones evaluadas en el Seston, y la posible relación entre la concentración acumulada en el zooplancton con relación a su abundancia total (variables aleatorias cuantitativas), se realizó un análisis estadístico de coeficiente de correlación de Pearson para cada concentración obtenida.

## **Resultados**

### *Concentraciones de microcistinas disueltas y particuladas.*

A partir del análisis de correlación de Pearson y como propensión general, las concentraciones obtenidas mes con mes de la extracción de microcistinas de las células y disueltas en el medio acuoso, tienen un coeficiente de correlación positivo con un valor de  $P < 0.050$ . Estos resultados obtenidos indican, de acuerdo con este análisis que las concentraciones evaluadas tienden a aumentar juntas (Fig. 3.2).

Las concentraciones de equivalentes de microcistinas disueltas en el lago de Zumpango, estuvieron en un rango de  $0.10$  a  $1.4 \mu\text{g L}^{-1}$ . Los meses de agosto y octubre, periodo de tiempo que abarca la estación de lluvias, presentaron las mayores concentraciones de estos metabolitos secundarios disueltos en el medio ( $0.53$  y  $1.48 \mu\text{g L}^{-1}$ , correspondientemente), en cambio en el mes de junio las concentraciones evaluadas para estos compuestos tóxicos resultaron ser las más bajas ( $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ ), durante el año de estimación. En promedio, entre los 12 meses estudiados, la concentración anual fue de  $0.33 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Las mayores cuantificaciones de cianotoxinas en seston o particuladas fueron halladas en los meses de octubre y Diciembre ( $34.13$  y  $27.13 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente). Mínimas concentraciones fueron evaluadas durante los meses de mayo, junio y julio ( $0.94$ ,  $1.53$  y  $1.18 \mu\text{g L}^{-1}$ ). En el resto del estudio las concentraciones fueron menores a  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  (Fig. 3.2).

Comparando entre los promedios durante los meses que comprenden las temporadas estacionales (secas cálidas, lluvias y secas frías), durante secas frías existe mayor producción de estos compuestos, asociados a su presencia en la materia particulada, con una concentración promedio de  $15.69 \mu\text{g L}^{-1}$ . Durante secas cálidas la concentración promedio



obtenida representó aproximadamente 1/3 de la concentración en la temporada de secas frías ( $3.40 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (Fig. 3.2).

Los valores de la sumatoria entre las concentraciones de las microcistinas particuladas + disueltas (concentración total de microcistinas), muestran que durante el periodo de tiempo entre los meses de octubre a enero las concentraciones obtenidas están por encima de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  y los meses restantes por debajo de este límite, siendo nuevamente el mes de octubre con  $35.6 \mu\text{g L}^{-1}$  cuando se alcanzó la mayor concentración de microcistinas totales.

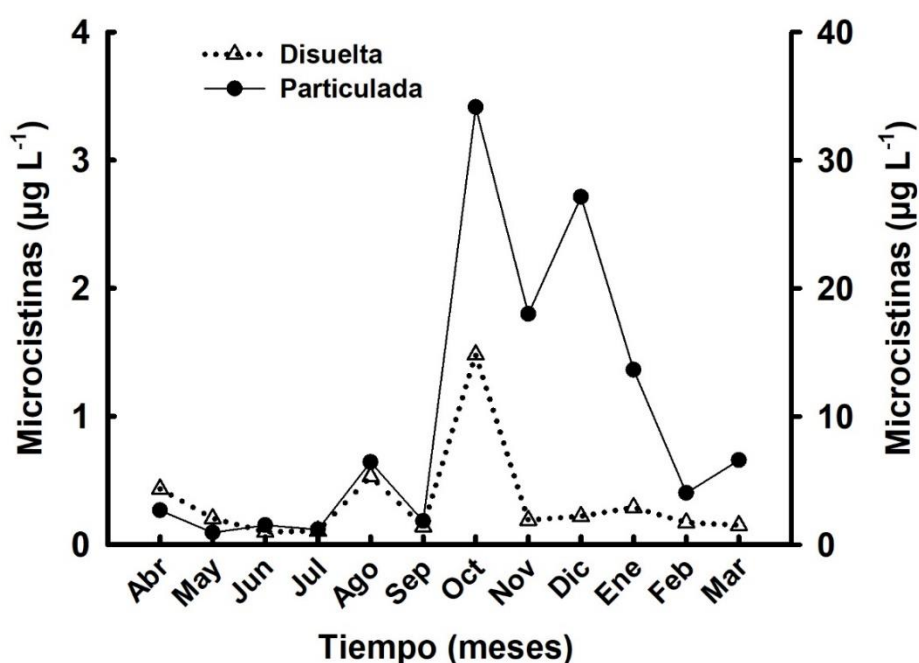


Figura.3.2. Concentración de equivalentes de microcistinas LR disueltas y particuladas en el sitio 1 del lago de Zumpango durante un periodo anual de abril 2016 a marzo 2017.

#### *Acumulación de microcistinas en Seston, zooplancton y Peces.*

Concentraciones de equivalentes de microcistinas-LR fueron registradas en todas las muestras evaluadas provenientes del lago de Zumpango. Como tendencia general, la concentración promedio de estos metabolitos decrece gradualmente conforme avanza la posición en la cadena trófica evaluada (seston > zooplancton > peces).

El análisis gráfico de la variación de microcistinas acumuladas durante un ciclo anual, en el eslabón trófico que corresponde a los productores primarios (con relación a su peso seco),

está representado por la figura 3.3. Considerando la mayor concentración registrada en octubre como el 100% ( $177.6 \mu\text{g g}^{-1}$ ), la concentración hallada en septiembre aumento drásticamente un 70% en este nivel trófico y disminuyó 86% de octubre a noviembre, reflejando un pulso de producción de microcistinas asociado a cambios en la proporción de especies que componen la estructura de la comunidad de los productores primarios. En un escenario estacional, la menor acumulación se reconoció en el periodo climático correspondiente a secas cálidas, alcanzado una concentración promedio de  $16.6 \mu\text{g g}^{-1}$ ; grandes fluctuaciones ocurren durante la fase de lluvias presentando el mayor y el menor valor de acumulación ( $2.5 \mu\text{g g}^{-1}$ ), con un valor promedio de  $46.3 \mu\text{g g}^{-1}$ .

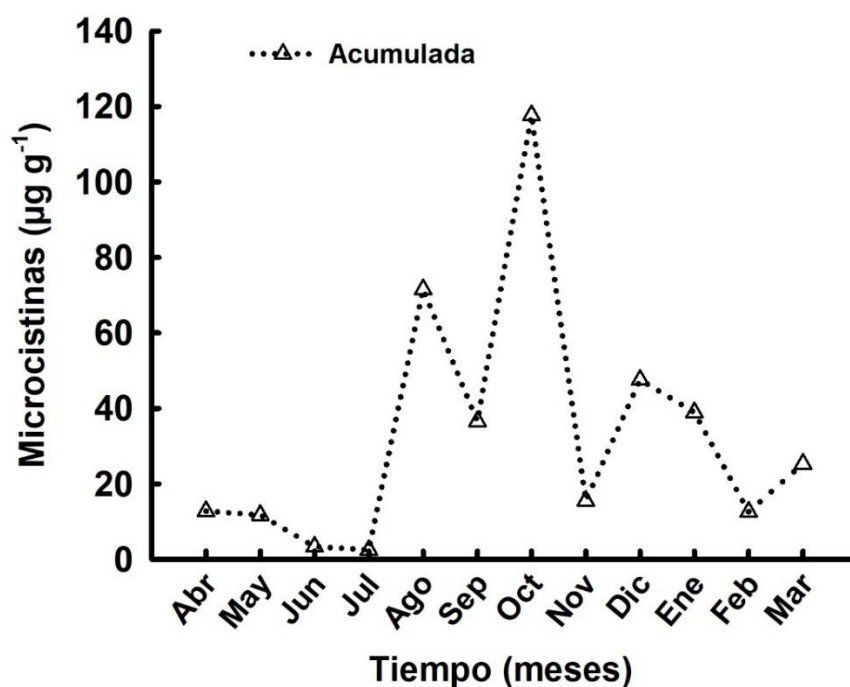


Figura.3.3. Concentración de equivalentes de microcistinas LR acumuladas en seston en el sitio 1 del lago de Zumpango durante un periodo anual de abril 2016 a marzo 2017.

La evaluación de microcistinas acumuladas en seston y zooplancton, reveló una correlación positiva, tendiendo a aumentar juntas ( $P = 0.01$ ). Aunque la correlación no fue estadísticamente significativa ( $P = -0.435$ ), se destaca que los meses donde se presentaron las mayores concentraciones de microcistinas acumuladas en el zooplancton, están asociados, en cierto grado, con una disminución en las abundancias totales de los organismos zooplanctónicos y viceversa, como énfasis de esto, en el mes de Mayo se observaron los

valores menores de acumulación de cianotoxinas ( $0.070 \mu\text{g g}^{-1}$ ), y resultó ser el mes con la mayor abundancia de organismos del zooplancton ( $968 \text{ ind L}^{-1}$ ) (Fig. 3.4).

Con relación a las concentraciones acumuladas durante el ciclo anual, las más altas concentraciones de acumulación en el zooplancton, al igual que la mayor concentración de microcistinas particuladas (ver fig. 3.1), fueron presentados durante los meses de octubre y diciembre ( $0.29$  y  $0.28 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente), nuevamente relacionado con un decremento de las abundancias totales del zooplancton  $<300 \text{ ind L}^{-1}$ , es decir  $\sim 30\%$  de la máxima abundancia presentada en el estudio. La concentración de acumulación media anual hallada en zooplancton, y que podría pasar al siguiente nivel trófico sería de  $0.15 \mu\text{g g}^{-1}$ . Con excepción del mes de noviembre, a partir agosto y hasta febrero, meses que abarcan las estaciones de lluvias y secas frías, los valores de concentraciones fueron superiores a  $0.20 \mu\text{g g}^{-1}$ . El resto del año, principalmente secas cálidas, las microcistinas fueron  $\geq 0.10 \mu\text{g g}^{-1}$ .

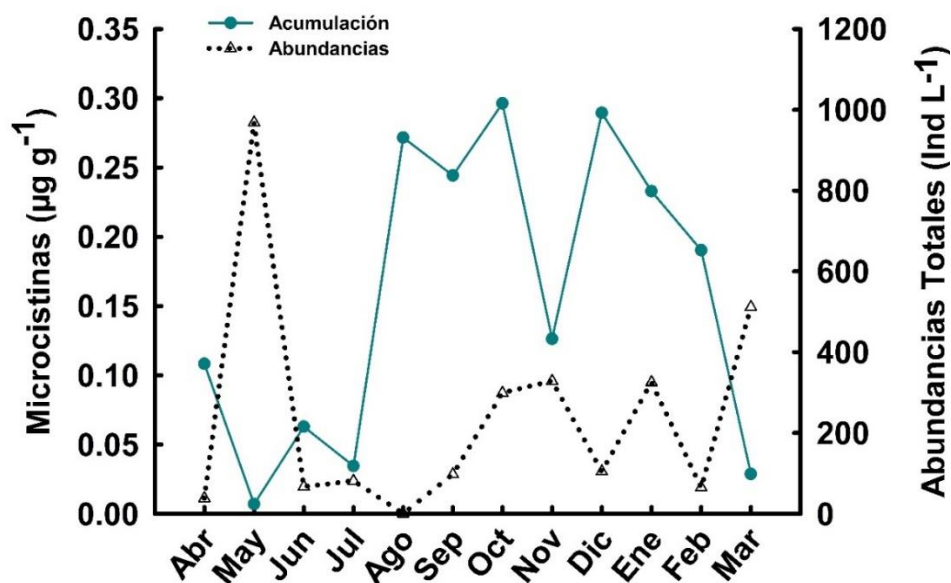


Figura.3.4. Concentración anual de microcistinas acumuladas por el zooplancton vs la abundancia total en el sitio 1 del Lago de Zumpango.

En las muestras se registraron ocho especies de zooplancton, dos copépodos (*Acanthocyclops americanus* y *Mastigodiatomus albuquerquensis*), cinco cladóceros (*Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia dubia*, *Moina micrura*, *Bosmina longirostris* y *Diaphanosoma birgei*) y un rotífero (*Asplanchna sieboldii*). En el tamizado de 600 L, los copepoditos de *A. americanus*,

fueron los organismos de mayor presencia durante los meses de evaluación, con un promedio 97.2 ind L<sup>-1</sup> (promedio de abundancia anual), después por *D. laevis* y *B. longirostris*, ambas mostraron una alta abundancia anual (70.6 y 40.8 ind L<sup>-1</sup>, respectivamente) (Fig. 3.5). Las densidades de *A. americanus* adultos fueron entre 2 y 5 ind L<sup>-1</sup> durante la mayoría de los meses; por otro lado, la densidad del calanoide *Mastigodiatomus* alcanzó su punto máximo en octubre (14.1 hembras y 18.3 ind L<sup>-1</sup> machos), pero fue inferior a 3 ind L<sup>-1</sup> durante el resto del año.

Comparando entre meses, mayo presentó la mayor abundancia de individuos zooplanctónicos (968.3 ind L<sup>-1</sup>). En contraste, en el mes de agosto se observa una drástica disminución de organismos en el sistema acuático, por debajo de 1 individuo por litro (0.61 ind L<sup>-1</sup>). En los meses de mayo y marzo se presentaron las mayores abundancias de los copepoditos de *A. americanus* con 306.6 y 448.6 ind L<sup>-1</sup> respectivamente, a pesar de estas altas abundancias, *D. laevis* fue el organismo que mostró la máxima abundancia entre especies, alcanzando 568.3 ind L<sup>-1</sup> en el mes de mayo, casi el doble de la abundancia de *B. longirostris* en el mes de octubre (249.8 ind L<sup>-1</sup>), que fue cuando obtuvo su mayor representatividad en el sistema. Caso contrario, *D. birgei* sólo fue registrada en el mes de mayo y con una mínima presencia (0.33 ind L<sup>-1</sup>).

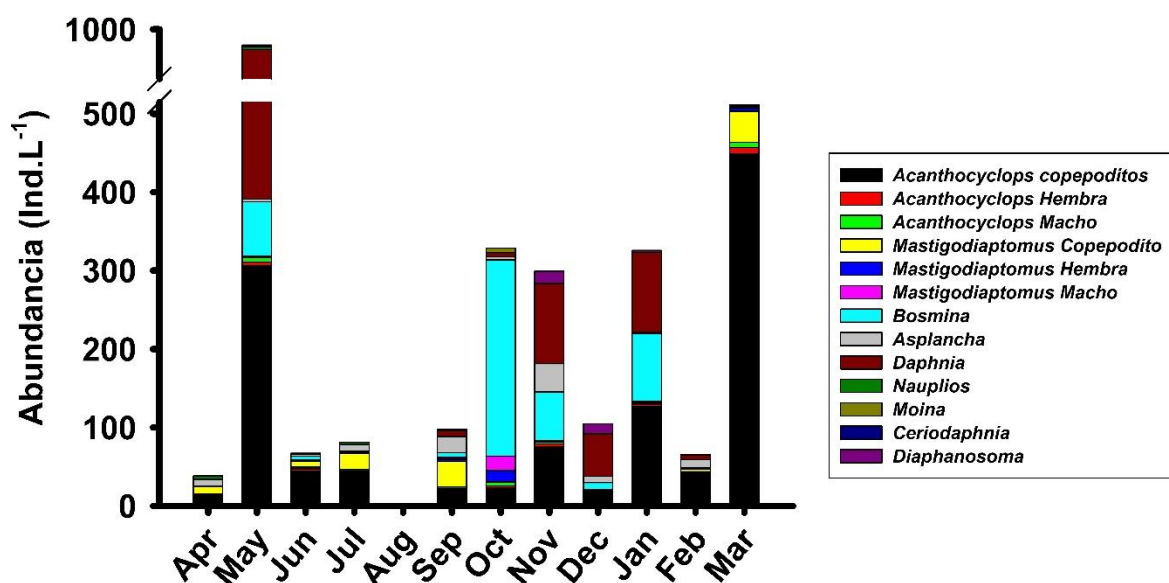


Figura.3.5. Proporción de especies de zooplancton que componen la abundancia en el sitio 1 del lago de Zumpango en el filtrado de 600 L.

Las concentraciones obtenidas, producto de la extracción de microcistinas de los diferentes órganos y tejido del pez *Oreochromis niloticus*, muestran una tendencia de acumulación, donde el hígado es el órgano en el que se registraron la mayor cantidad éstas cianotoxinas (rango de 5.28 a 9.66  $\mu\text{g K}^{-1}$  peso húmedo) (Ver Fig. 3.6). El intestino se posicionó como el segundo lugar de acumulación, presentando concentraciones entre 3.98 y 7.81  $\mu\text{g K}^{-1}$  (peso húmedo). En la musculatura, principal órgano consumido por los seres humanos, se detectaron altas concentraciones en el mes de octubre con una concentración  $> 1.9 \mu\text{g K}^{-1}$ , relacionándose así, con la alta densidad de células de *Microcystis aeruginosa* y con altas concentraciones de equivalentes de microcistinas-LR producidas y acumuladas en toda la cadena trófica (Ver proporción de cianobacterias en capítulo II). De manera similar, en octubre se encontró la mayor acumulación en los hígados de los peces evaluados (hasta 14.13  $\mu\text{g K}^{-1}$ ). Durante los meses de abril y febrero las concentraciones promedio halladas en músculo fueron menores a la unidad (0.49 y 0.42  $\mu\text{g K}^{-1}$ ).

### *Oreochromis niloticus*

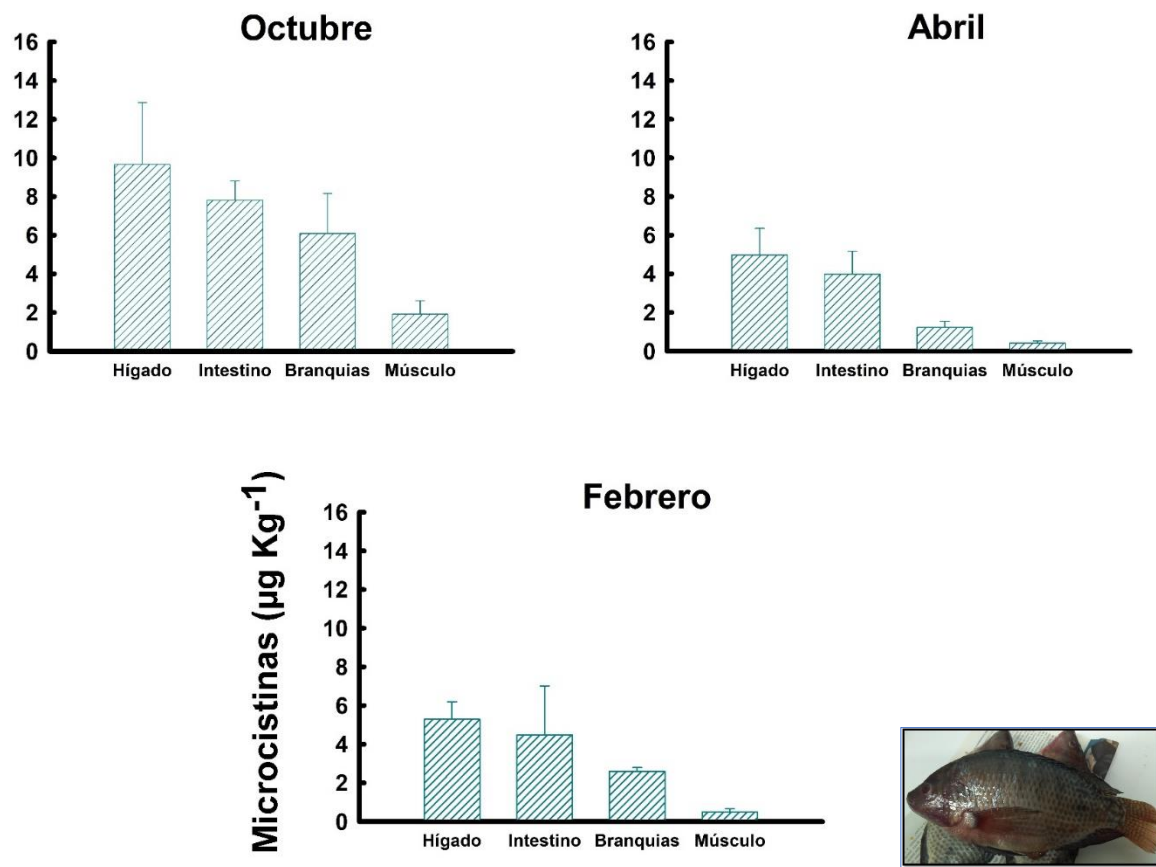


Figura.3.6. Concentración de microcistinas acumuladas en tejido u órganos (hígado, músculo, intestino y branquias) del pez *Oreochromis niloticus*, recolectado en los meses de abril, octubre y febrero en el lago de Zumpango. Promedio basado en cinco replicas  $\pm$  error estándar.

Respecto a la acumulación en el Aterínido *Chirostoma jordani*, las concentraciones de microcistinas en peces completos están en un rango de 5.02 hasta 24.05  $\mu\text{g K}^{-1}$  deshidratados o 1.55 a 7.22  $\mu\text{g K}^{-1}$  en peso húmedo. En la Fig.3.7. se muestra que los meses de mayor concentración de estos metabolitos secundarios son octubre y diciembre, con un promedio de 22.05 y 24.05  $\mu\text{g K}^{-1}$  (peso seco), correspondientemente. De abril a agosto hubo una disminución en las concentraciones acumuladas de cianotoxinas que oscilaron entre 2.53 y 3.72  $\mu\text{g K}^{-1}$ . En febrero se encontraron las menores concentraciones de microcistinas de los seis meses evaluados, con un promedio de 5.05  $\mu\text{g K}^{-1}$  en peso seco. Es de importancia destacar que todos los peces evaluados de esta especie registraron gran acumulación de microcistinas incluso por encima de los límites permisibles tanto por la Organización

Mundial de la Salud (OMS), como por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) (ver apartado de discusión).

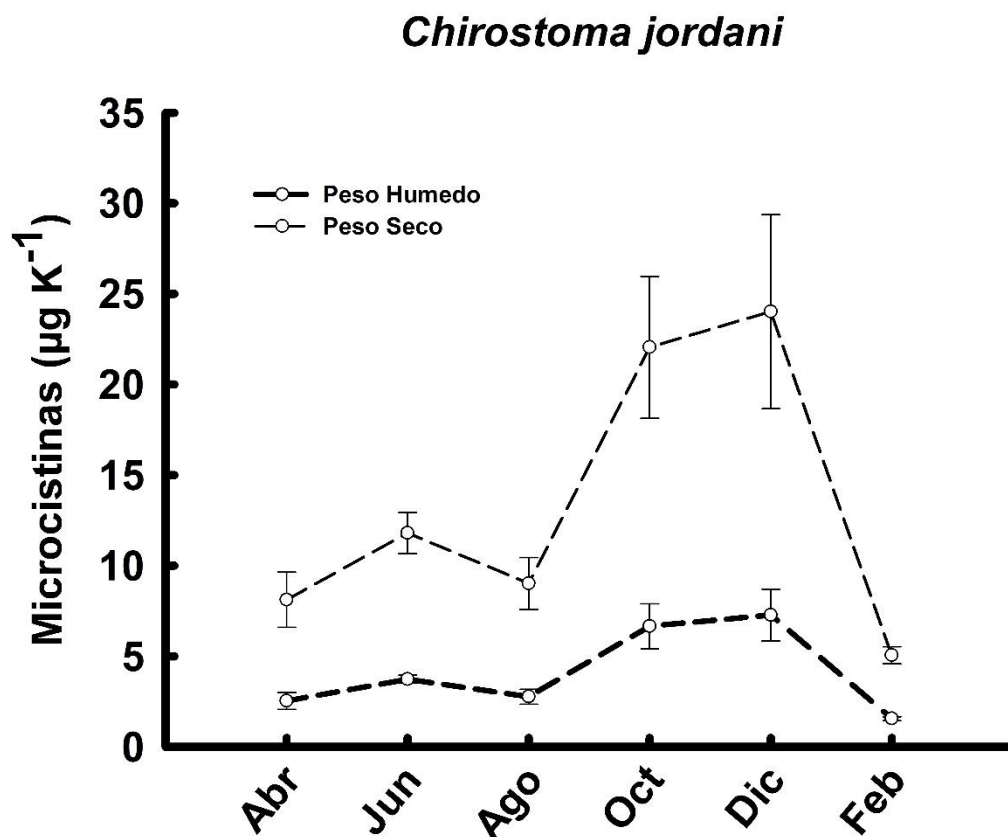


Figura.3.7. Concentración de microcistinas acumuladas en de la especie *Chirostoma jordani* en el lago de Zumpango, colectados durante los meses de abril, junio, agosto, octubre, diciembre y febrero. Promedio basado en cinco replicas  $\pm$  error estándar.

### Discusión

Después de la senescencia de los Ciano FANs o la lisis celular, las cianotoxinas son liberadas al medio ambiente donde tienen una alta estabilidad. Las microcistinas son moléculas muy estables, resistentes a la degradación térmica (Wannemacher, 1989; Lambert et al., 1994). Bajo situaciones que imitan condiciones naturales en un embalse, como masas de agua superficiales con altas temperaturas (21-30°C) y pH básicos, su estabilidad y persistencia no son severamente alteradas, degradándose alrededor del 50% aún transcurridos más de 80 días. Bajo pH de 1 a 9 unidades y con temperaturas de 40°C, estos metabolitos secundarios alcanzan una vida media entre 3 y 10 semanas (Harada et al., 1996; Harada y Tsuji, 1998).

Las concentraciones de equivalentes de microcistinas-LR disueltas, oscilaron entre 0.1 y 1.4  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; especialmente en el mes de octubre las concentraciones excedieron el límite establecido por la Organización Mundial de la Salud de un  $\mu\text{g L}^{-1}$  para aguas cuyo propósito es el suministro para consumo humano, esto con la finalidad de prevenir los efectos deletéreos gástricos o la inducción de tumoraciones (OMS, 1998). Las concentraciones halladas en el presente estudio, se encuentran en el rango observado en otros cuerpos de agua mexicanos como el Lago Texcoco (0.20 a 2.4  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (Zamora-Barrios et al., 2017), el Embalse Valle de Bravo (0.5 a 5.56  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (Alillo-Sánchez et al., 2014; Figueroa-Sánchez et al., 2014) y el Lago Pátzcuaro (0.16 a 0.19  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (Berry et al., 2011). Si bien, estos sitios tienen diferentes propósitos (almacenamiento para consumo humano, actividades recreacionales, navegación y suministro de agua para uso agrícola y ganadero); están relacionados a actividades humanas, representando un potencial riesgo de salud sanitaria (Vasconcelos et al., 2010).

Las concentraciones de microcistinas particuladas y disueltas en el medio se relacionan positivamente, ambas tienden a aumentar juntas. Esto también fue encontrado por Romo et al., (2012), donde en esta relación, el seston tenía una concentración de microcistina hasta diez veces más alta que la fracción disuelta. En este trabajo, la relación promedio de la fracción intracelular fue 30 veces mayor que las concentraciones extracelulares. Con la excepción de *Cylindrospermopsis raciborskii*, que se ha sugerido que tiene la capacidad de exudar los metabolitos secundarios libremente (Figueredo et al., 2007), y a pesar de que algunas especies cuentan con transportadores de membrana ABC, que les permiten liberar pequeñas fracciones de metabolitos que actúan como infoquímicos con células vecinas (Neilan et al., 2013); las microcistinas producidas por las cianobacterias son consideradas endotoxinas y su liberación total al medio está regulada por la muerte celular o lisis de la membrana celular (Okumura et al., 2007). Sin embargo, incluso durante la fase de crecimiento exponencial, se ha documentado liberación durante el proceso de descomposición (Watanabe et al., 1992). Se han evaluado otras alternativas que promueven disrupción de las células; contaminantes químicos que generan la lisis y por ende la liberación de cianotoxinas de las células (Dai et al., 2016).



La fracción particulada se encontró en el rango de 0.94 a 34.13  $\mu\text{g L}^{-1}$ , con una acumulación en seston que oscila entre 2.51 y 117.68  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Estas concentraciones son bajas en comparación con las reportadas por Ferrão-Filho et al., 2002, en dos estaciones de la Laguna Jacarepagua, donde encontraron concentraciones que oscilan desde indetectables a  $> 120 \mu\text{g L}^{-1}$  con valores de acumulación de no detectables a 0.0058  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Las microcistinas detectadas en muestras sestónicas en cuerpos de agua mexicanos varían de 4.9 a 78  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Vasconcelos et al., 2010); Vasconcelos et al., (2010) realizaron un estudio previo en el lago de Zumpango, donde obtuvieron una concentración superior 60  $\mu\text{g L}^{-1}$ , lo que representa 46% más a la concentración más alta detectada durante el período en este estudio en muestras del lago.

El zooplancton actúa como transmisor biológico, ya que durante los florecimientos se ven obligados a consumir cianobacterias tóxicas, encapsulando así las cianotoxinas alcanzando niveles tróficos superiores (Sotton et al., 2014). El zooplancton a menudo tiene concentraciones altas de cianotoxinas en relación con su biomasa ( $> 1300 \mu\text{g g}^{-1}$ ) (Ibelings et al., 2005), y es el único grupo donde se ha demostrado claramente la biomagnificación (Kozlowsky-Suzuki et al., 2012). Las concentraciones de microcistina contenidas en el zooplancton de Zumpango (0.007 a  $\sim 0.3 \mu\text{g g}^{-1}$ ) fueron órdenes de magnitud más bajas que el valor promedio de 383  $\mu\text{g g}^{-1}$  reportado por Ferrão-Filho y Kozlowsky-Suzuki (2011) y Pham y Utsumi (2018). Esto se debe probablemente al hecho de que los estudios mencionados anteriormente incluyen filtradores generalistas de tallas grandes ( $> 3,5 \text{ mm}$ ), como *Daphnia*, mientras que, en el lago de Zumpango, el tamaño corporal promedio de los cladoceros es ( $< 1 \text{ mm}$ ) y estas especies no se alimentan bien en cianobacterias (Tönno et al., 2016).

El zooplancton principal que contribuyó a la abundancia total fue copepoditos de *Acanthocyclops exilis*, *Daphnia laevis* y *Bosmina longirostris*. Los dos primeros taxones tienen una alta producción de enzimas antioxidantes como la glutatión-s-transferasa y catalasas, aumentando su capacidad de desintoxicación de tóxicos ambientales como las microcistinas (Kozlowsky-Suzuki et al., 2009, Ferrão-Filho et al., 2017). Se necesitan estudios adicionales para explicar las sensibilidades de diferentes especies de zooplancton a

las cianotoxinas; *Simocephalus* sp., *Moina macrocopa* y ostracodos a menudo toleran mejor estos metabolitos que otras especies (Nandini y Rao, 1998; Fernández et al., 2016). Se ha sugerido que la capacidad de *Bosmina* para soportar las cianobacterias se debe a su capacidad para alimentarse selectivamente y, por lo tanto, eliminar las cianobacterias tóxicas de su dieta (DeMott, 1986).

En general, la jerarquía de acumulación en peces depende de su modo de alimentación; el modo es zooplanctívoros < carnívoros < fitoplanctívoros < omnívoros (Kozłowski-Suzuki et al., 2012). Aquí también observamos tendencias similares, ya que el pez zooplanctívoro *Chirostoma* tiene niveles más altos de microcistinas que el pez omnívoro *Oreochromis*. La mayoría de los estudios muestran que la bioacumulación es mayor en vísceras e hígado en comparación con el músculo (Xie et al., 2005; Romo et al., 2012), mientras que otros indican lo contrario (Hauser-Davis et al., 2015). Aquí encontramos que la concentración de microcistinas acumulada en *Oreochromis* era menor en el músculo; el hígado tenía alrededor de 12.5% ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) más y los intestinos, 6.5% ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ). Palikova et al., (2011) mostraron que *Oreochromis niloticus* acumuló hasta 350  $\mu\text{g K}^{-1}$  de microcistinas en la hepatopáncreas y, a diferencia de las carpas que pueden eliminar todas las cianotoxinas después de 2 semanas (Adamovský et al., 2007), disminuyendo el riesgo para los consumidores. Las concentraciones detectadas en el músculo en varios estudios están en un rango de 0.065  $\mu\text{g k}^{-1}$  (Prieto et al., 2007) a 102  $\mu\text{g k}^{-1}$  (Mohamed et al., 2003). En los peces evaluados en febrero y abril las concentraciones en este tejido comestible son 0.42 y 0.49  $\mu\text{g k}^{-1}$ , posiblemente relacionado con la baja concentración de microcistinas en el seston durante esta temporada. Incluso una baja concentración y acumulación de microcistinas puede tener un efecto adverso en humanos y animales. Los principales síntomas de la intoxicación por microcistina son gastroenteritis, irritaciones, enfermedades hepáticas que incluyen necrosis hepática, cáncer y eventualmente la muerte (Fontanillo y Kohn, 2018). Evitar el consumo de hígado y otras vísceras de pescado ayuda a disminuir el efecto por intoxicación, aunque se ha demostrado que la cocción del músculo de pescado no erradica los efectos adversos debido a la alta estabilidad de las moléculas de microcistinas, incluso a temperaturas superiores al punto de ebullición del medio (por encima de 300°C) (Wannemacher, 1989). En el caso de *Oreochromis niloticus* se ha demostrado que los tejidos cocinados en microondas reducen

las concentraciones de microcistinas en un 25% y 50% por hirviendo por ebullición, durante un período de 5 minutos. Sin embargo, cuando el tejido de los peces se hierve, las microcistinas se transfieren al medio (Guzmán-Guillen et al., 2011) debido al debilitamiento de los enlaces covalentes en las moléculas diana, como las proteínas fosfatasa, glutatión o cisteína, aumentando el riesgo para la salud humana, especialmente cuando se hierve para ser consumida en forma de sopas o caldos (Morais et al., 2008; Zhang et al., 2010). Además de los compuestos tóxicos, los peces que han estado en contacto con cianobacterias tienen una baja calidad nutricional y tienen un sabor incipiente, al igual que los peces en contacto con los sedimentos. Los peces alimentados exclusivamente con cianobacterias presentan altas concentraciones de geosmina y 2-metilisoborneol (Vallod et al., 2007; Varga et al., 2013; Liang et al., 2015).

El Aterínido, *Chirostoma* es endémico de la región central de México. Tiene una gran importancia cultural en la dieta de los mexicanos. En del lago Pátzcuaro, las concentraciones de microcistinas acumuladas en los peces de *Chirostoma* sp. son superiores a  $18 \mu\text{g K}^{-1}$  peso seco (Berry et al., 2011). Este es el primer informe sobre microcistinas en *Chirostoma jordani*, con las concentraciones más altas entre 22 y  $24 \mu\text{g K}^{-1}$  en octubre y diciembre, después de las lluvias momento de descomposición de los florecimientos de *Microcystis*. Es evidente que, a diferencia de otros taxones de peces, *Chirostoma* no tiene una buena capacidad de desintoxicación de microcistinas. Jia et al., (2014) muestran que los peces de tamaño pequeño tienden a acumular una mayor concentración de microcistinas en el riñón o el corazón, porque la biotransformación y la excreción no están tan desarrolladas, en comparación con los peces de tallas grandes.

Para proteger a los consumidores, la OMS (1998) ha establecido un valor de CTD (Consumo Tolerable Diario) de  $0.04 \mu\text{g/Kg/d}$  para productos expuestos a microcistinas-LR (Chorus y Bartram, 1999), de acuerdo con las regulaciones de la Agencia de Protección Ambiental (EPA) los límites permisibles son mayores a un orden de magnitud inferior; consumo crónico ( $0.003 \mu\text{g/Kg/d}$ ) o consumo ocasional ( $0.006 \mu\text{g /Kg/d}$ ) (Catherine et al., 2017). Suponiendo que una persona (60 Kg) consume alrededor de 200 g (peso seco) de *Chirostoma* a diario, especialmente en octubre o diciembre, el consumo diario promedio es 1.8 y 2.0 veces más

alto que el valor CTD. Sin embargo, considerando el peso promedio de un niño, entre los 2 y 5 años (13.77 Kg OMS, 2018) y el consumo de 1/4 (50 g) de un adulto, el riesgo es aún mayor. Respecto a los límites permisibles, el consumo de *Chirostoma jordani* representa un riesgo latente durante todo el año, pero *Oreochromis niloticus* solo en invierno cuando las concentraciones son  $<0.006 \mu\text{g}/\text{Kg}/\text{d}$  (Fig. 3.8).

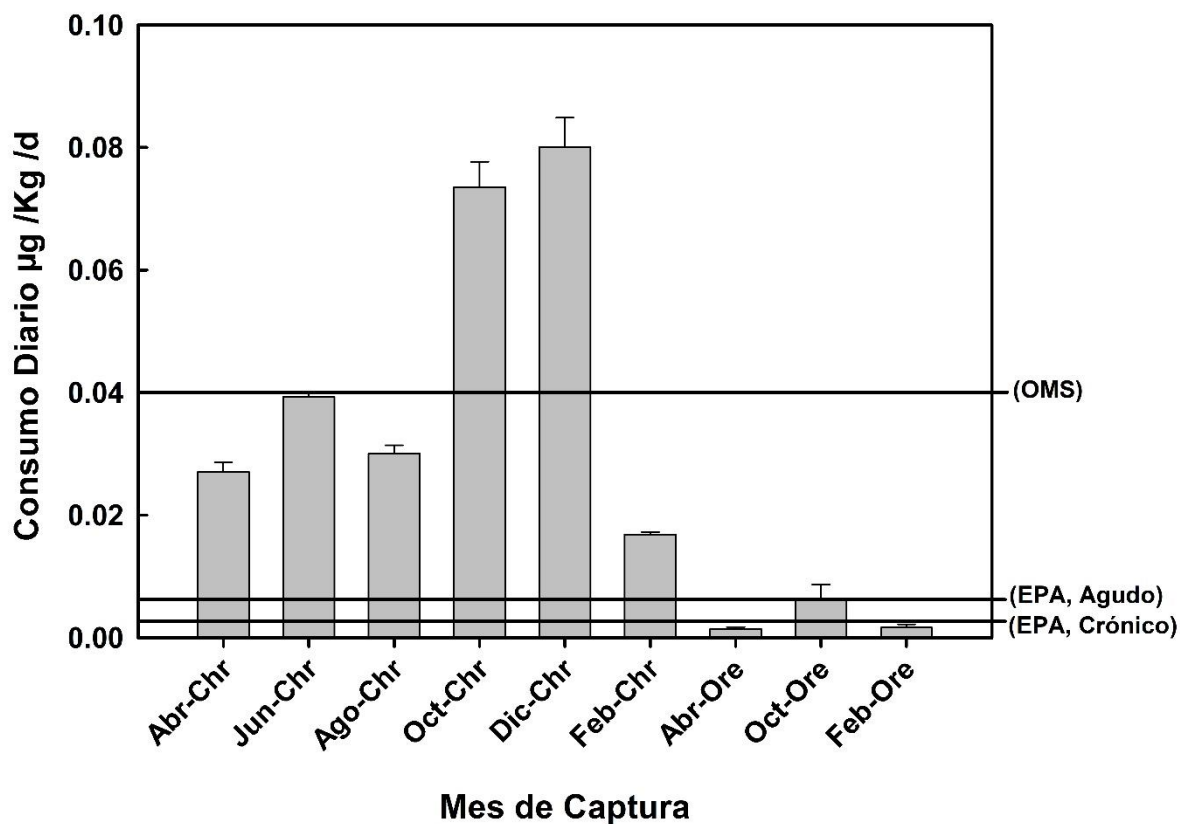


Figura.3.8. Límites permisibles de Consumo Tolerable Diario (OMS y EPA) de acuerdo con las Concentración de microcistinas acumuladas en *Chirostoma jordani* y *Oreochromis niloticus* (músculo) en el lago de Zumpango. Promedio basado en cinco replicas. Se presenta la media  $\pm$  error estándar.

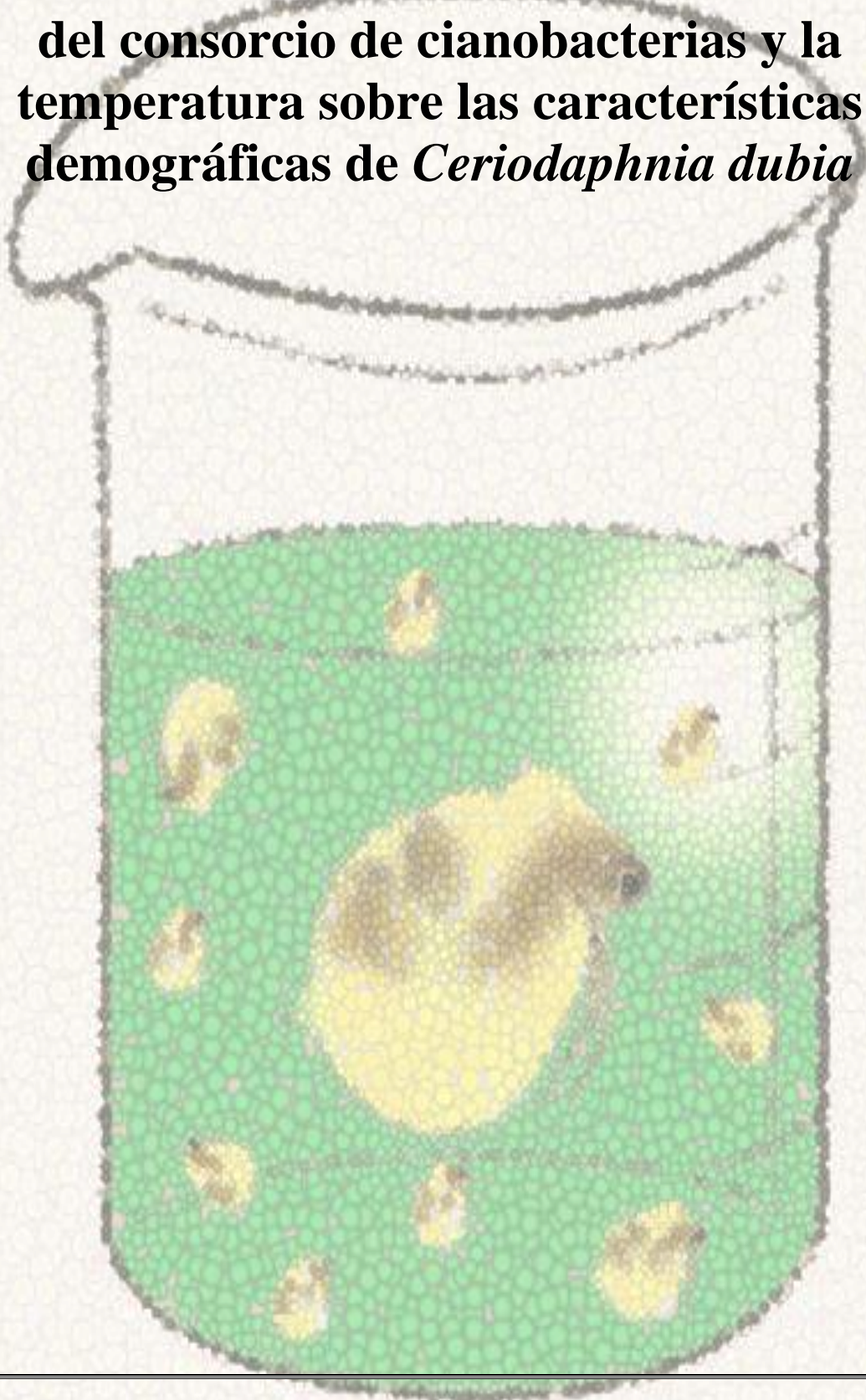
### Conclusiones

Este estudio indica que las concentraciones de equivalentes de microcistinas-LR ya sea disuelta o particuladas, registradas en el sitio 1 del lago (zona de pesca y mercadeo), pueden ser transferidas y acumuladas tanto en el zooplancton como en los peces.

De acuerdo con los límites permisibles de Consumo Tolerable Diario establecidos por la OMS y la EPA para productos expuestos a microcistinas-LR, las concentraciones acumuladas en los peces colectados, representan un riesgo para la comunidad local, especialmente para aquellos que degustan especies pequeñas como *Chirostoma jordani* que son consumidas enteras. Las especies más grandes (*Oreochromis niloticus*), con excepción del mes de octubre, no acumulan altas concentraciones de microcistinas en su musculatura, siendo así, una mejor opción dietética. Dado que los productos de la acuicultura son una fuente importante de proteínas en México y muchos cuerpos de agua albergan altas densidades de cianobacterias, me gustaría enfatizar la urgencia de realizar estudios similares en otros estados de México.

## Capítulo IV

**Efecto combinado de los extractos crudos del consorcio de cianobacterias y la temperatura sobre las características demográficas de *Ceriodaphnia dubia***



## Capítulo IV

### **Efecto combinado de los extractos crudos del consorcio de cianobacterias y la temperatura sobre las características demográficas de *Ceriodaphnia dubia***

#### **Resumen**

Las cianobacterias suelen dominar la comunidad del fitoplancton en sistemas acuáticos tropicales, y tener un efecto adverso sobre los organismos del zooplancton debido a la producción de cianotoxinas. Se ha documentado que el lago de Zumpango, en el corazón de la Ciudad de México, está dominado por un Ciano FAN persistente todo el año. Por esta razón, el objetivo del estudio fue evaluar los efectos toxicológicos de los extractos crudos cianobacteriales sobre el cladóceros *Ceriodaphnia dubia*. Los compuestos activos de las cianobacterias se extrajeron mediante ciclos de congelación a  $-70^{\circ}\text{C}$ , descongelación y sonicación. La concentración de microcistinas se midió con el kit inmunológico de ELISA. Realizamos experimentos estáticos de tipo agudo con ocho concentraciones del extracto crudo diluido con agua moderadamente dura (4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 y 18%) en recipientes de 20 ml y con 10 neonatos de *C. dubia* por cada tratamiento. Los experimentos fueron colocados en incubadoras con tres distintas temperaturas ( $18, 23$  y  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). De acuerdo con el valor de  $\text{CL}_{50}$  obtenido se desarrollaron pruebas de toxicidad crónica (crecimiento poblacional y tabla de vida) con cuatro concentraciones subletales que contenían 1.47, 2.94, 5.88 y 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$  de equivalentes de microcistinas-LR, y sometidos a tres regímenes de temperatura. Los resultados muestran que las tasas de crecimiento poblacional de los cladóceros son reducidas debido a la presencia del extracto, por la alteración de las variables demográficas de supervivencia y fecundidad. Se discute sobre la importancia de las evaluaciones sobre la interacción zooplancton-cianobacteria, y se argumenta que en sistemas eutrofizados con dominancia de cianobacterias productoras de toxinas y con incrementos térmicos producto del calentamiento global, aquellos organismos capaces coexistir y desarrollar estrategias que minimicen el efecto deletéreo podrían tener un mayor éxito ecológico.

## Introducción

Como consecuencia de las actividades antropogénicas el planeta se encuentra experimentando drásticos cambios ambientales (Moss, 2018). Los sistemas epicontinentales son susceptibles a dichos cambios, manifestándose en variaciones de la temperatura del medio, disminución del nivel de agua y en alteraciones de las características fisicoquímicas (Alcocer et al., 2015). Todos estos factores en conjunto promueven cambios en las comunidades acuáticas (Wrona et al., 2006). A partir del inicio de la revolución industrial en la segunda mitad del siglo XVIII, la temperatura global ha incrementado de 1.5 a 2 °C, sin embargo, se pronostica un incremento de hasta 5°C durante este siglo (Houghton, 2001), aunque la tendencia general no refleja aún, un claro aumento de la temperatura en los lagos de México (Alcocer et al., 2015). No obstante, existen casos puntuales que muestran tasas de calentamiento diez veces mayor a la media internacional (Cardoso-Mohedano et al., 2019), alteraciones en la precipitación hidrológicas (López-Espinoza et al., 2019), incremento de la temperatura del aire (Jáuregui, 2004; Ruiz-Angulo y López-Espinoza, 2015), cambios en el flujo de calor interno entre zonas estratificadas (Merino-Ibarra et al., 2008), períodos de estratificación más largos y estables, y cambios en la sucesión de productores primarios (Caballero et al., 2016).

El calentamiento global en sinergia con otros factores ambientales promueve la formación y persistencia de Ciano Fans, estimulando su proliferación de manera directa o indirecta, causando estragos en el funcionamiento y estructura ecológica de los sistemas acuáticos (Visser et al., 2016; Huisman et al., 2018). De forma directa, el incremento térmico favorece un aumento de la capacidad fotosintética y aceleración de la tasa metabólica que se refleja en una rápida tasa de crecimiento (Coles y Jones, 2000; Mackey et al., 2013), asimismo, como células procariontes, las cianobacterias muestran preferencia por condiciones relativamente cálidas, presentando sus máximas tasas de crecimiento poblacional por encima de 25°C, desplazando por competencia a una gran variedad de antagonistas eucariontes (Lürling et al., 2013; Paerl, 2014). El aumento de las temperaturas también estimula la reintegración de células o colonias de géneros meroplanctónicos como *Microcystis* (Padisák, 2003; Cirés et al., 2013) y puede incitar la inoculación temprana de los acinetos de especies del orden



*Nostocales* (Carey et al., 2012; Cirés et al., 2013). Además, promueve la propagación y establecimiento biogeográfico de especies invasoras, restringidas a regiones tropicales y subtropicales, pero actualmente comunes en climas templados (Sinha et al., 2012; Kokociński et al., 2017). Los efectos indirectos de la temperatura incluyen mayor estabilidad de estratificación de la columna de agua por periodos de tiempo prolongados, debido a cambios en la densidad del medio (Joehnk et al., 2008; Paerl y Otten, 2013) y disminución de la viscosidad del agua, causando pérdida por sedimentación de aquellos productores primarios sin estructuras de regulación de flotabilidad (Joehnk et al., 2008; O'Neil et al., 2012).

Las cianobacterias producen una amplia variedad de biotoxinas, y aunque el papel ecológico se mantiene en debate entre sí, ofrecen una ventaja contra la herbívora o como fuente competitiva alelopática hacia sus equivalentes eucariontes, o sí son utilizadas fisiológicamente para aumentar la eficiencia celular (Holland y Kinnear, 2013). El calentamiento global de los sistemas acuáticos también tendrá efecto sobre su producción y liberación de estos metabolitos secundarios (Castro et al., 2004). Las tendencias en laboratorio indican que temperaturas mayores a 20 °C estimulan la síntesis de nodularina por *Nodularia spumigena*, saxitoxinas por *Aphanizomenon* sp. (Dias et al., 2002; Hobson y Fallowfield, 2003). Tanto en sistemas naturales como en experimentos de incubación, se ha mostrado que la reducción de la biomasa de un Ciano FAN compuesto por *Planktothrix agardhii* debido al incremento térmico regula la liberación de microcistinas extracelulares, especialmente entre 20 y 25 °C (Walls et al., 2018). No obstante, también ha sido observado que la producción de microcistinas decrece un 37% a temperaturas superiores a 35°C, con relación a las concentraciones registradas a 27 °C (Bui et al., 2018). Aunado a lo anterior, en poblaciones naturales de cianobacterias coexisten genotipos productores de cianotoxinas y sus contrapartes no productoras que son taxonómicamente indistinguibles, el crecimiento de cepas de *Microcystis* con el operón MCY tiene un crecimiento más acelerado con el incremento de la temperatura, cambiando la proporción a favor de la dominancia de las cepas tóxicas (Davis et al., 2009).

Existen diversas metodologías (químicas, enzimáticas, inmunológicas, moleculares y bioensayos) desarrolladas para determinar, identificar y evaluar la concentración de cianotoxinas y conocer el potencial tóxico de las cianobacterias (Codd et al., 2001). Los bioensayos proporcionan información de los efectos sobre entidades biológicas como poblaciones, organismos, cultivos celulares, moléculas purificadas, efectos genéticos específicos y condiciones fisiológicas (depende de la sensibilidad que se busca evaluar) (Meriluoto et al., 2017). Diversos bioensayos sobre la toxicidad de las cianobacterias se han desarrollado utilizando cultivos de cepas monoclonales (Hughes et al., 1958; Watanabe y Oishi, 1985; Zamora-Barrios et al., 2015) o cianotoxinas purificadas (DeMott et al., 1991; Ghadouani et al., 2004; Huang et al., 2012). Sin embargo, en los sistemas naturales las especies de cianobacterias se encuentran combinadas formando un consorcio, tanto de especies con cepas productoras, expresando los genes involucrados, cepas no productoras y cepas que a pesar de contar con el gen no lo expresan (Neilan et al., 2013). Las muestras biológicas de los Ciano FANs acuosos pueden contener otros productos químicos disueltos, reflejando efectos sinérgicos o antagonistas (Leaó et al., 2009; Yang et al., 2012), *p.ej.* además de las diversas variantes de microcistinas, *Microcystis* tiene la capacidad de producir otros péptidos no ribosomales que inhiben las enzimas proteasas de *Daphnia* (Rohrlack et al., 2005; Schwarzenberger et al., 2012). También otros cianopeptidos como, carboxipeptidasas, aeruginosinas, microgininas, cianopeptolinas, anabaenopeptinas, aeruginosamida, etc. son producidos con la misma frecuencia que las microcistinas (Pawlik-Skowrońska et al., 2019; Janssen, 2019). Es recomendado evaluar efecto toxicológico de las cianobacterias a través de bioensayos principalmente, cuando existen consorcios de Ciano FANs productores de diversas biotoxinas y no sólo las cianotoxinas conocidas o si los florecimientos son dominados por especies poco estudiadas que podrían contener metabolitos desconocidos con toxicidad variable (Bláha et al., 2017).

En los últimos años, los estudios sobre extractos crudos de cianoprocariontes están ganando popularidad, especialmente debido a la relevancia de los resultados, representando condiciones más realísticas a las presentadas en sistemas naturales, especialmente durante el colapso del Ciano FAN (Pawlik-Skowrońska et al., 2019). Estos extractos se obtienen como resultado de la disrupción celular por lisis, obtenida por ciclos repetidos de congelación,

descongelación y sonicación (Pietsch et al., 2001). Pocos trabajos han demostrado el efecto de los extractos crudos de cianobacterias en organismos que están expuestos al contacto directo de las cianotoxinas, particularmente en el zooplancton, a pesar de ser un eslabón crucial en las comunidades acuáticas (Zamora-Barrios et al., 2015).

Los organismos zooplantónicos tienen la capacidad de reflejar diversas respuestas a las presiones ambientales que experimenten (Hietala et al., 1997; Rossi et al., 2006). Ésta variación inter-clonal pueden promover cambios en las características morfológicas, fisiológicas y conductuales durante el ciclo de vida de un organismo (Pigliucci, 2001). Se ha documentado que el aumento en la densidad de cianobacterias productoras de toxinas induce cambios en las poblaciones zooplantónicas, como resultado de la plasticidad de cada individuo, seleccionando a las especies o genotipos más tolerantes (Hairston et al., 1999; Gustafsson et al., 2005; Hansson et al., 2007).

Los cladóceros son un componente importante en las cadenas alimentarias, actuando como enlace en la transferencia de energía proveniente de los productores primarios y del circuito microbiano hacia depredadores vertebrados e invertebrados (Consumidores secundarios y terciarios) (Lampert y Sommer, 2007), y son utilizados para evaluar la interacción zooplancton-cianobacteria (Lemaire et al., 2012). Además de la temperatura, latitud y diversas características fisicoquímicas, las zonas templadas y tropicales también divergen en la composición de especies que estructuran las comunidades acuáticas (Sarma et al., 2005). Los sistemas templados son dominados por especies generalistas de gran tamaño como *Daphnia magna* (Ger et al., 2016). Por esta razón, desde 1970 se instauró a *Daphnia magna* como el organismo modelo para la evaluación, a través de su sensibilidad, el efecto deletéreo de diversos contaminantes (Versteeg et al., 1997). En cambio, los cladóceros en sistemas tropicales están dominado por herbívoros más pequeños <3mm como, *Diaphanosoma* y *Ceriodaphnia* (Fernando, 2002; Sarma et al., 2005). El uso de especies nativas provenientes de la zona de valoración provee un panorama más realista del riesgo específico y disminuye la posibilidad de entrada de especies exóticas potencialmente invasoras (Rosen et al., 2009; Lopes et al., 2011). En Norte América diversas agencias ambientales (APHA, EPA y Environment Canada Otawwa, Ontario), incluyendo la agencia Mexicana CONAGUA

(Comisión Nacional del Agua) recomiendan el uso en bioensayos de toxicidad a especies nativas de la región como es el caso de *Ceriodaphnia dubia* (Mendoza-Cantú et al., 2007).

Las pruebas toxicológicas incluyen bioensayos agudos y crónicos; las primeras buscan obtener la concentración media letal media (CI<sub>50</sub>) y son dependientes de la mortandad de los organismos expuestos por un periodo de tiempo (usualmente 24 o 48 h) (Rico-Martínez et al., 2016). Las pruebas crónicas evalúan alteraciones subletales durante periodos de tiempo más prolongados, representando cambios importantes durante la historia de vida de los organismos (Dahms et al., 2011). La tasa de crecimiento de la población es una variable unificadora que permite determinar la aptitud o el éxito ecológico de los organismos, conecta diversas facetas de la ecología de una población; por lo tanto, los análisis de la regulación de la población, la dependencia de la densidad, la competencia por recursos y los efectos del estrés ambiental, son fácilmente explicados con la tasa de crecimiento de la población como variable de respuesta (Sibly y Hone, 2002; Wilson et al., 2006). La historia de vida de los organismos suele ser evaluadas a través de experimentos de tabla de vida y crecimiento de la población, ambos aportar parámetros demográficos importantes asociados a la supervivencia y fecundidad de organismos expuestos a estresores ambientales (Allan, 1976; Sarma y Nandini, 2006). A diferencia de los estudios de crecimiento poblacional, en tabla de vida los organismos no están sometidos a competencia intraespecífica, es por ellos que las tasas de crecimiento en ambas evaluaciones difieren (Case, 1999).

### **Pregunta**

- ¿Cómo afectan los extractos crudos del consorcio de cianobacterias la dinámica poblacional (variables demográficas) de *Ceriodaphnia dubia*?

### **Hipótesis**

- El zooplancton es ampliamente utilizado en bioensayos debido a su relevancia ecológica y su sensibilidad a los cambios en la calidad del agua; sin embargo, la tolerancia puede variar dependiendo de las condiciones que experimente. Por lo tanto, se debe generar evidencia, mediante pruebas experimentales, que permitan identificar, (H<sub>0</sub>) si existen diferencias en la susceptibilidad de *Ceriodaphnia dubia* al exponerlas a concentraciones crónicas de extractos crudos del consorcio de

cianobacterias presentes en el sistema, y tres diferentes temperaturas (18°, 23 y 30°C), serán reflejadas en variaciones de sus eficiencias biológicas (reducción de su supervivencia y fecundidad), y conforme mayor sea la concentración, el efecto negativo se potencializará. (H<sub>1</sub>) Los organismos evaluados son altamente tolerantes a los extractos, y a pesar de la concentración, sus variables demográficas no serán afectadas negativamente y serán similares a un tratamiento libre de extracto.

## **Objetivos**

- Cuantificar la concentración de equivalentes de microcistinas-LR presente en el extracto crudo cianobacterial, mediante el Kit inmunológico de ELISA.
- Evaluar el efecto agudo de los extractos crudos del consorcio de cianobacterias presentes en el lago de Zumpango, a través de bioensayos de toxicidad con diversas concentraciones con la finalidad de determinar el valor de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>).
- Evaluar el efecto crónico de los extractos crudos del consorcio de cianobacterias presentes en el lago de Zumpango, sobre las variables demográficas de *Ceriodaphnia dubia* (cladóceras), mediante los experimentos de crecimiento poblacional y tabla de vida bajo tres regímenes de temperatura (18°, 23 y 30°C).

## **Materiales y métodos**

### *Extracto Crudo Cianobacterial*

Con envases de plástico de boca ancha de 10 L de capacidad se recolectó una muestra del florecimiento superficial del consorcio de cianobacterias presentes en la zona litoral (Sitio 5) del lago de Zumpango. Con el fin de obtener el contenido intracelular total (extracto crudo), se congeló la muestra a una temperatura de -70°C durante dos días, promoviendo así, la cristalización de la membrana celular, y se permitió descongelar a temperatura ambiente por un periodo de 24 horas. Este ciclo congelado/descongelado es repetido en cinco ocasiones, sonicando durante 10 min a 20 watts entre cada ciclo hasta alcanzar la lisis celular total (Pietsch et al., 2001; Zamora-Barrios et al., 2017) (Ver diagrama 4.1). El extracto se mantuvo

a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta el día de la utilización en los ensayos toxicológicos con el cladóceros *Ceriodaphnia dubia*.



Diagrama.4.1. Proceso gráfico de preparación del extracto crudo: sónicar/Congelar/Descongelar.

#### *Cultivo de Scenedesmus acutus*

La microalga *Scenedesmus acutus*, utilizada como alimento para los cladóceros, fue cultivada en botellas transparentes de dos litros con medio de cultivo estándar Bold, agregando 0.5 g de  $\text{NaHCO}_3$  cada tercer día (Borowitzka y Borowitzka, 1988), se proveyó de aireación e iluminación continuas, proporcionada por lámparas fluorescentes de luz blanca de 60 watts. La microalga se cosecho después de diez días, tiempo en el cual alcanza su óptimo desarrollo exponencial, y su densidad celular fue cuantificada a través del uso de la cámara de Neubauer.

#### *Aislamiento y aclimatación de Ceriodaphnia dubia*

*Ceriodaphnia dubia* fue recolectada del lago de Zumpango, filtrando 40 L a través de una malla para zooplancton, depositando la muestra filtrada en recipientes de vidrio de dos litros de capacidad, y fue transportado al laboratorio de zoología acuática de la FESI, donde, manualmente fueron transferidas mediante una pipeta Pasteur, diez hembras partenogenéticas con embriones visibles en la cámara embrionaria, y fueron colocadas en 50 ml de agua moderadamente dura (medio EPA), una por cada recipiente, suministradas de *Scenedesmus acutus* como fuente de alimento, sometidas a temperatura ambiente ( $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) y bajo un fotoperiodo 16:8 (luz/oscuridad). Una vez que comenzaron a reproducirse las poblaciones monoclonales, debido a que obtuvieron una aclimatación a las condiciones de laboratorio, se aisló nuevamente un organismo de la población que mostró las mejores características de salud, es decir, sin señales de estrés como alta mortandad, disminución de la coloración, presencia de machos y/o efipios (OECD,2012). El cultivo madre o stock se

mantuvo en vasos de precipitado de 1 L, alimentando a los individuos con una dieta exclusiva de *S. acutus* a una densidad de  $1 \times 10^6$  cels  $\text{ml}^{-1}$  y fue el único alimento provisto para su manutención. El mantenimiento general consistió en un recambio del medio cada tercer día, filtrando el medio a través de una malla de 150  $\mu\text{m}$ , eliminando así, la materia orgánica particulada sedimentada y se suministraba medio nuevo y alimento fresco. Los cultivos fueron mantenidos bajo estas condiciones hasta su utilización en los bioensayos de toxicidad.

### **Bioensayos de Toxicidad**

#### *Determinación de la Concentración Letal Media (Prueba $CL_{50}$ )*

La USEPA, recomienda el desarrollo de pruebas preliminares de rango de toxicidad, antes de llevar a cabo una prueba aguda, en especial en una muestra de campo, en la cual, es desconocida su capacidad toxicológica. La prueba consistió en exponer diez organismos de *C. dubia* a diferentes diluciones del extracto crudo obtenido del consorcio de cianobacterias, durante 24 horas. En 20 ml fueron preparadas cinco proporciones diferentes del extracto crudo y medio EPA (20:0,16:4, 12:8, 8:12, 4:16) y un tratamiento control que sólo contenía medio EPA sin alimento. Con el resultado obtenido se propusieron las concentraciones que fueron utilizadas en las pruebas de toxicidad aguda para la obtención del valor  $CL_{50}$ .

La sensibilidad del cladócero *Ceriodaphnia dubia* a los extractos crudos, se evaluó mediante un bioensayo letal de 24 horas con ocho diferentes concentraciones de exposición, con cuatro replicas por tratamiento, un control positivo y uno negativo. Los experimentos se llevaron a cabo en viales de vidrio de borosilicato con una capacidad de 20 ml. Las concentraciones de exposición a evaluar fueron 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 y 18% del extracto crudo diluido con medio EPA, se realizaron dos pruebas agudas una con presencia de alimento (*S. acutus*  $1.0 \times 10^6$  cels  $\text{ml}^{-1}$ ) y otra con los mismos tratamientos, pero sin alimento. Además, para el evaluar el efecto de la temperatura aunada a las concentraciones del extracto, los tratamientos fueron colocados en cámaras de incubación bajo diferentes temperaturas. Para iniciar el experimento se inocularon 10 neonatos de *C. dubia* (<24 horas de nacidos), tomados de la tercera puesta y se depositados en el tratamiento correspondiente. Los experimentos estáticos de tipo agudo fueron colocados en incubadoras con tres temperaturas distintas (18, 23 y  $30^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ ). La mortandad de los organismos se cuantificó mediante un microscopio estereoscópico, y se

calculó la dosis letal media con el programa “probit Individuals, end points”, con un intervalo de confianza del 95% (Finney, 1978). A partir de estos resultados, se determinaron las concentraciones que se utilizaron en los experimentos de exposición crónica de Crecimiento poblacional y Tabla de vida.

#### *Concentración de microcistina-LR*

Para la cuantificación de la concentración microcistinas-LR en los extractos crudos, se usó el kit de ELISA “QuantiPlate for Microcytins de EnviroLogix™” (Portland, EUA), siguiendo las instrucciones de uso del fabricante. El kit es un ensayo competitivo entre la microcistina LR en la muestra y la microcistina LR marcada con una enzima (peroxidasa) por los sitios de reacción. Después de un simple paso de lavado, el resultado de la competencia se visualiza con un paso de desarrollo de color. La concentración en  $\mu\text{g L}^{-1}$  es reportada como equivalentes de microcistinas LR.

#### *Crecimiento Poblacional*

Las pruebas de toxicidad crónica con extractos crudos se realizaron sobre *C. dubia*, analizando su respuesta demográfica a diferentes concentraciones de toxicidad. Se seleccionaron cuatro concentraciones crónicas que representan el 5, 10, 20 y 30% del valor promedio obtenido de las pruebas de  $CL_{50}$ . Se utilizó como testigo control medio EPA con *Scenedesmus acutus* a una concentración de  $1.0 \times 10^6$  cels  $\text{ml}^{-1}$ . Se inocularon 10 individuos en viales de vidrio transparente de borosilicato con un volumen de 20 ml, y se realizaron cuatro replicas por cada uno de los tratamientos. Tanto los tratamientos como los testigos se sometieron a tres regímenes de temperatura (18, 23 y  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ ), según correspondía, y fueron sometidos a un fotoperiodo 16:8 h (luz/oscuridad). Los viales eran agitados periódicamente para minimizar la sedimentación de la fuente de alimento. Cada 24 horas se renovó el medio y se obtuvo la densidad de los organismos en los 20 ml. Para el análisis cuantitativo de la abundancia poblacional, los organismos eran gentilmente lavados y filtrados a través de mallas de Nitex con un tamaño de apertura de 150  $\mu\text{m}$  (una por cada tratamiento), y depositados en cajas de vidrio transparentes con medio sintético (EPA) a la temperatura correspondiente (18, 23 o  $30^\circ\text{C}$ ), y con ayuda de un microscopio estereoscopio, se obtenía el número de cladóceros en cada vial y finalmente se transferían a nuevos viales con su



respectiva concentración de tóxico. El experimento se dio por concluido en el momento, en el cual, las poblaciones comenzaron a declinar.

Los datos obtenidos fueron utilizados para la evaluación del crecimiento mediante el cálculo de la tasa de crecimiento de la población con la ecuación

$$r = (\ln N_t - \ln N_0)/t$$

Donde:  $N_0$  = densidad inicial de la población,  $N_t$  = densidad de la población al tiempo  $t$  en días (Krebs, 1985).

Con el programa SigmaPlot versión 11.0 se realizó la visualización gráfica del incremento diario poblacional. Las tasas intrínsecas de crecimiento poblacional ( $r$ ,  $d^{-1}$ ), obtenidas para cada tratamiento se sometieron a un análisis de ANOVA de una vía. A partir de estos resultados y usando una prueba de comparaciones múltiples entre las medias (pruebas de rango post hoc de Tukey), se obtuvo la significancia de la variación en las respuestas a las diferentes concentraciones de extractos crudos y temperaturas.

#### *Tabla de Vida*

Al igual que el experimento anterior, se utilizaron los extractos crudos del sitio seleccionado. Para la realización del experimento se inocularon 10 neonatos del cladóceros *Ceriodaphnia dubia* en estado óptimo (<24 h de edad y provenientes de la tercera cohorte de hembras amicticas), en contenedores de vidrio transparentes de borosilicato de 20 ml de capacidad. Para cada tratamiento se realizaron cuatro replicas con cuatro concentraciones del extracto crudo (5, 10, 20 y 30% del  $CL_{50}$ ), y provistos con  $1.0 \times 10^6$  cels  $ml^{-1}$  de *Scenedesmus acutus* como fuente de alimento. El testigo control constó de agua moderadamente dura y *S. acutus* a la misma densidad que en los tratamientos toxicológicos. Para establecer condiciones controladas los bioensayos se colocaron en las incubadoras a 18, 23 y  $30 \pm 1^\circ C$  con iluminación un ciclo de iluminación 16:8 h durante los días de experimentación. Cada día se cuantificó la supervivencia de los organismos y el tamaño de la cohorte, los nuevos neonatos eran retirados en cada ocasión. Los organismos sobrevivientes eran transferidos a medio nuevo con su temperatura apropiada, previamente se colocaba el medio EPA hasta alcanzar la temperatura correspondiente y se adicionaba la fuente de alimento justo en el momento de

transferir a los organismos. Los experimentos fueron considerados como concluidos cuando el último individuo de cada tratamiento murió.

Con los datos producto de la cuantificación diaria, se calcularon las variables demográficas de tabla de vida con las ecuaciones (Krebs, 1985):

$$\text{Promedio de vida} = \sum_0^{\infty} l_x \infty$$

$l_x$  = Proporción de organismos que sobreviven al inicio del intervalo  $x$ .

$$\text{Esperanza de vida } e_x = \frac{T_x}{n_x}$$

$e_x$  = Esperanza promedio de vida para los organismos que están vivos al comienzo del periodo de edad  $x$ .

$T_x$  = Sumatoria de número de individuos vivos en promedio, durante el intervalo de edad.

$n_x$  = Número de individuos al inicio del intervalo de edad  $x$ .

$$\text{Tasa Reproductiva bruta} = \sum_0^{\infty} m_x \infty$$

$m_x$  = Proporción de hembras nacidas en el intervalo de tiempo  $x$ .

$$\text{Tasa Reproductiva neta } R_o = \sum_0^{\infty} l_x m_x$$

$R_o$  = Índice de multiplicación por generación o promedio del número de descendientes por hembra.

$$\text{Tiempo generacional } G = \frac{\sum_0^{\infty} l_x m_x X}{R_o}$$

$G$  = Duración promedio de una generación o periodo promedio que transcurre entre el nacimiento de la hembra progenitora y la descendencia.

#### Tasa intrínseca de incremento poblacional resuelta iterativamente

$$r = \sum_{x=0}^{\infty} e^{-r_m x} l_x m_x = 1$$

$$r_m = \frac{\log_e(R_o)}{G}$$

$r_m$  = índice de estimación aproximada de incremento poblacional para generaciones traslapadas.

Con la utilización del programa SigmaPlot versión 11.0 se graficaron visualmente, las variables demográficas de los experimentos y mediante una ANOVA de una vía, y una prueba post hoc se determinaron si existían diferencias significativas entre de los tratamientos en cada variable demográfica de la tabla de vida de *C. dubia*.

## Resultados

Los resultados de la prueba aguda ( $CL_{50}$ ), demostraron que los extractos crudos de cianobacterias resultaron ser tóxicos para *Ceriodaphnia dubia*. Existe una relación inversa entre el aumento de la temperatura y la sensibilidad de los organismos, entre mayor es el incremento térmico se requiere menor concentración del extracto crudo para causar la mortandad de los organismos expuestos (Ver Figura 4.1). La presencia de una fuente de alimento (*Scenedesmus acutus*) aumenta la resistencia de *C. dubia*, disminuyendo su

sensibilidad, incluso a la mitad. Los individuos sometidos a 30°C obtuvieron valores de CL<sub>50</sub> de 5.7 sin alimento y 10.1 con alimento.

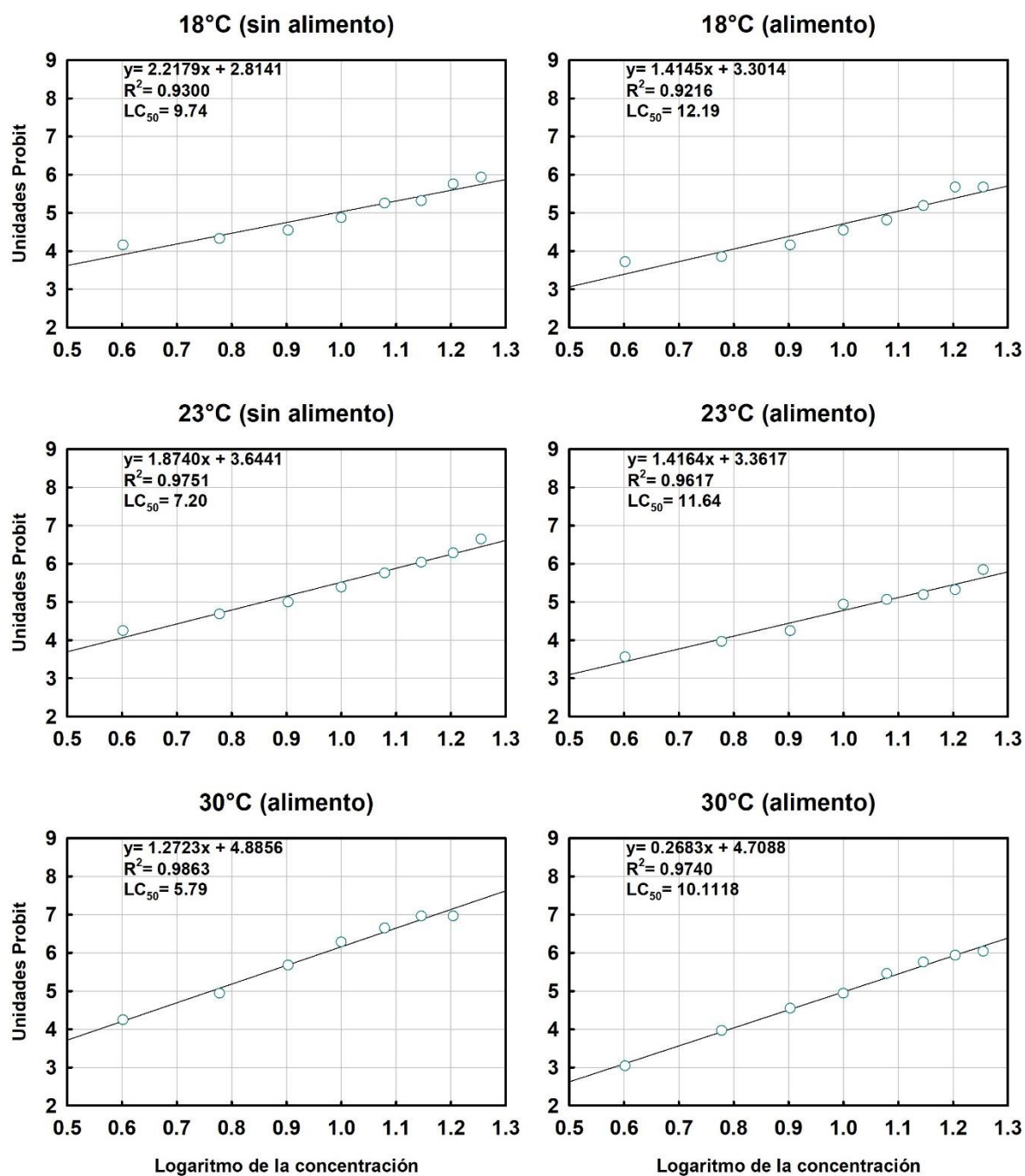


Figura.4.1. Regresión lineal del logaritmo de las concentraciones de los extractos crudos vs los valores de las unidades probit, y los valores de CL<sub>50</sub>, obtenidos de los experimentos de exposición de tipo agudo sobre *Ceriodaphnia dubia*.

### *Crecimiento Poblacional*

Las curvas de crecimiento poblacional con el cladóceros *Ceriodaphnia dubia*, expuesto a cuatro concentraciones de extracto crudo (5, 10, 20 y 30% del valor de CL<sub>50</sub>), contenían 1.47, 2.94, 5.88 y 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$  de equivalentes de microcistinas LR, consecutivamente.

Las tendencias generales, en el experimento de crecimiento poblacional con el cladóceros, indican que el aumento de la concentración del extracto crudo de cianobacterias atenúa el efecto negativo sobre las curvas de incremento, caracterizado por la disminución de la máxima abundancia con respecto a los tratamientos control (Control > 1.47 > 2.94 > 5.88 > 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) Además, se observó un crecimiento más acelerado con el aumento de la temperatura. Los controles expuestos a 18 y 23°C obtuvieron su mayor abundancia en el día 19 (6.45 y 7.75 ind ml<sup>-1</sup>), mostrando un retraso durante la fase lag, en contraste, a 30°C fueron alcanzadas en el día 13 de experimentación (7.1 ind ml<sup>-1</sup>) (Ver figura 4.2).

El tratamiento que contenía 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$  a 18°C, presento un aletargamiento de su máxima abundancia promedio, sobrepasando el día 25 de experimentación (~3.25 ind ml<sup>-1</sup>), por el contrario, en el testigo se duplico ésta densidad con ~6.5 ind ml<sup>-1</sup> en el día 19 (Fig. 4.2). *C. dubia* declino sus poblaciones antes que el control en todos los casos restantes (día 18 en los tratamientos con 1.47 y 2.94  $\mu\text{g L}^{-1}$ , día 17 el extracto con 5.88  $\mu\text{g L}^{-1}$ ).

Las poblaciones de *C. dubia* expuestas a los extractos crudos a 23°C, mostraron un mayor crecimiento exponencial entre las tres temperaturas evaluadas. A pesar de presentar aletargamiento del crecimiento exponencial (~6 días), las poblaciones alcanzaron las mayores densidades demográficas en un rango de 4 a 8.3 ind ml<sup>-1</sup>, demostrando que el efecto de un toxico no sólo depende de la concentración, sino otros factores ambientales como la temperatura (Fig. 4.2). De acuerdo con el análisis de ANOVA de medidas repetidas de una vía, existe diferencia significativa, entre todas las curvas de crecimiento poblacional con presencia del extracto con relación al control ( $P < 0.01$ ) (Tabla 4.1). Los cladóceros expuestos al extracto con 5.88 y 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$ , vieron reducida su abundancia máxima en un 37 y 53% respectivamente, con relación al testigo sin presencia de tóxico (Fig. 4.2).

A pesar de no mostrar una fase estacionaria tan pronunciada, los individuos expuestos a los extractos crudos a la temperatura de 30°C vieron disminuida drásticamente su capacidad de crecimiento; el tratamiento con la mayor concentración mostró una clara divergencia entre todos los experimentos evaluados con una máxima abundancia de 3.2 ind ml<sup>-1</sup>, representando un decremento de su facultad demográfica del 50% en comparación con el control (Fig. 4.2). Ésta diferencia reitera que la regulación de la población depende de la concentración del extracto en el medio.

En los tratamientos con presencia cianotoxinas a diferentes temperaturas, la tasa de crecimiento de la población varió de 0.06 a 0.20 d<sup>-1</sup>. Sin importar la presencia del extracto, el incremento térmico promueve un aumento en esta variable demográfica. La tasa de incremento de la población de *C. dubia* en todas las temperaturas evaluadas, expuesta a los extractos crudos con 5.88 y 8.82 µg L<sup>-1</sup>, resultaron ser significativamente menores en comparación con los controles (P<0.05, prueba de Tukey) (Tabla 4.2). Los organismos en el tratamiento control sometido a 30°C, obtuvieron la máxima tasa de crecimiento entre todos los experimentos (0.224 d<sup>-1</sup>) (Ver Figura 4.3).

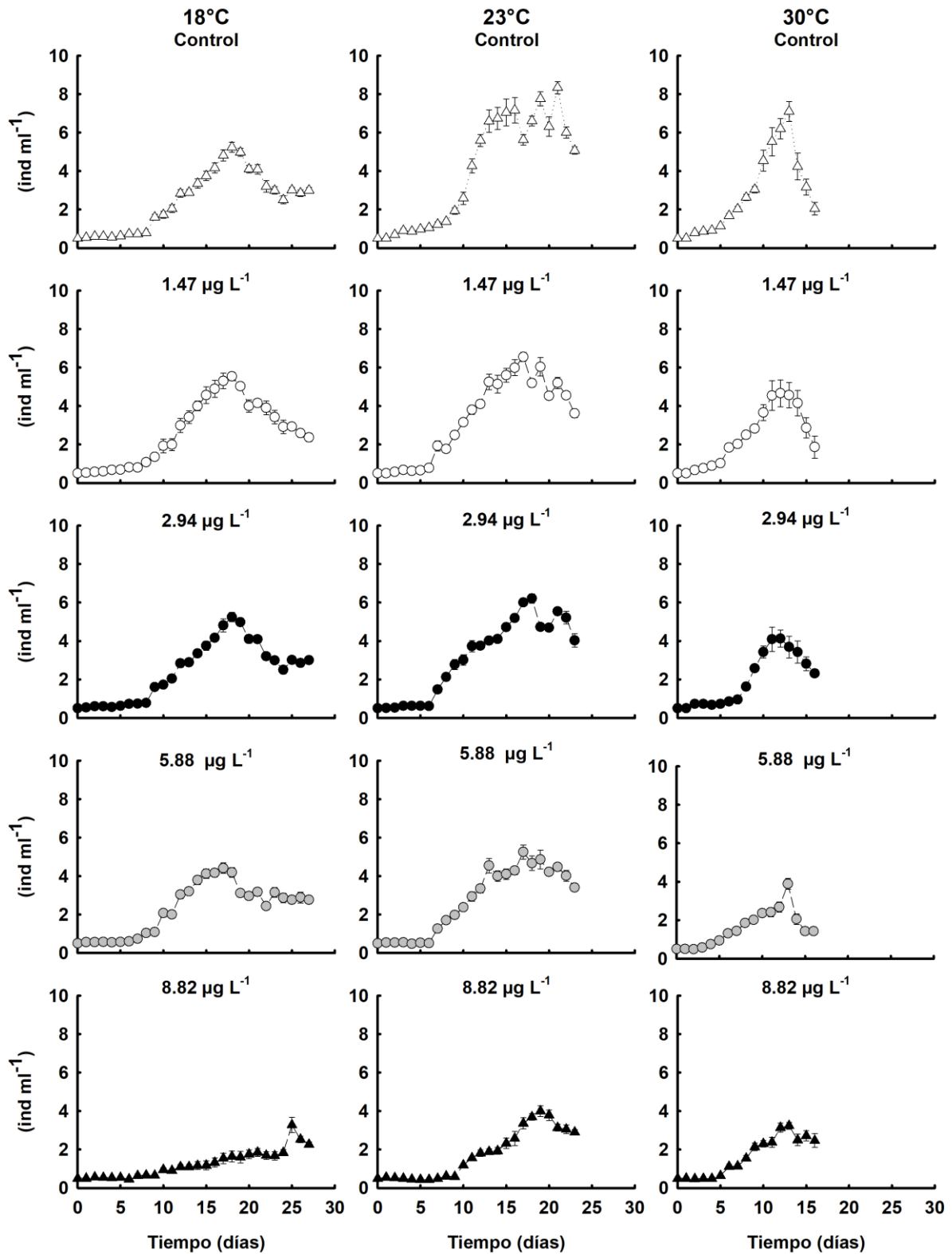


Figura.4.2 Crecimiento poblacional de un clon de *Ceriodaphnia dubia* expuesto a cuatro diferentes concentraciones crónicas de extractos crudos de un florecimiento cianobacterial y sometido a tres diferentes temperaturas (18, 23 y 30°C). Se presenta la media de cuatro replicas  $\pm$  error estándar.

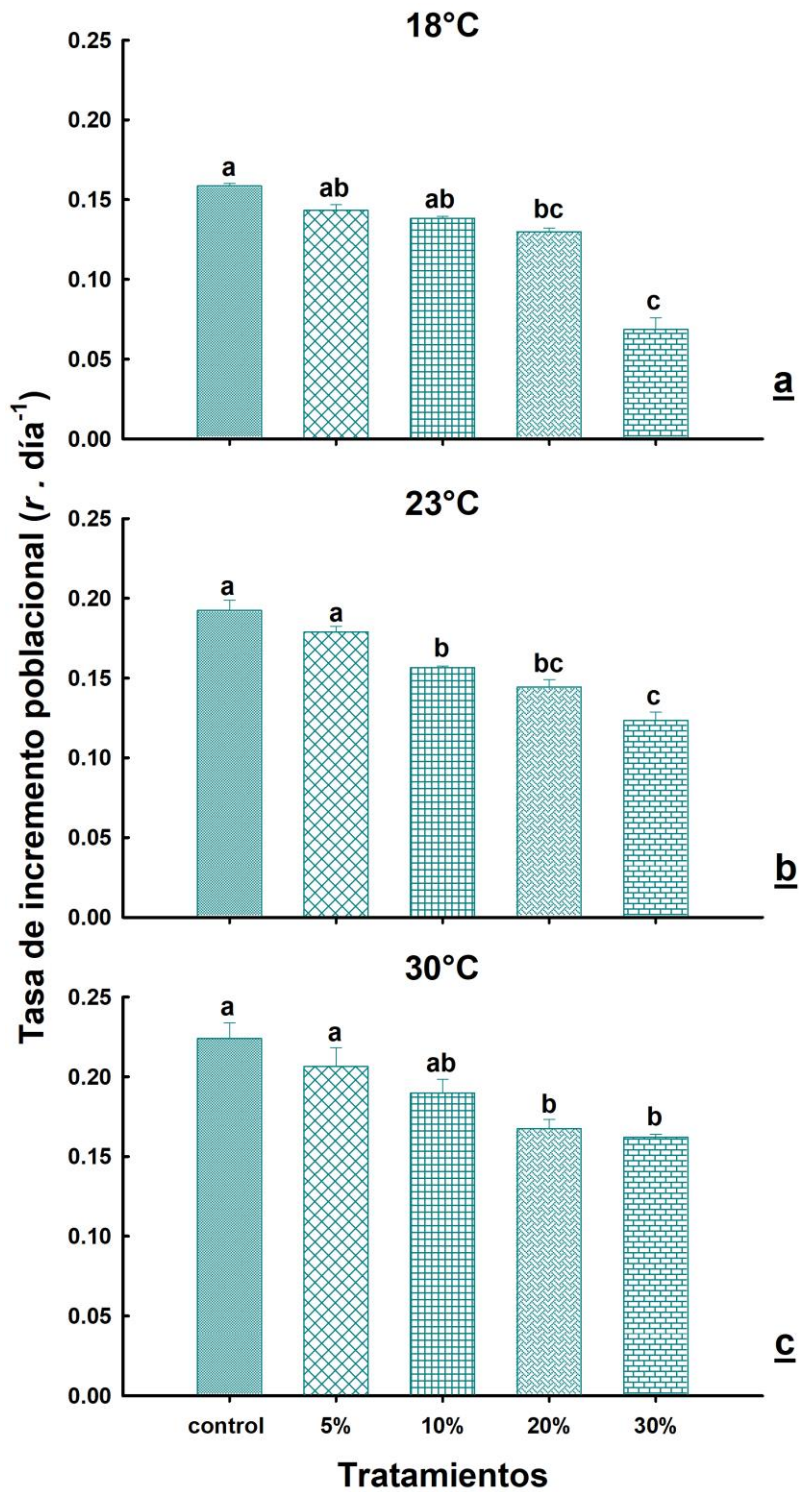


Figura.4.3. Tasas de crecimiento poblacional ( $r$ ) de *Ceriodaphnia dubia* expuesta a tres temperaturas (18, 23 y 30°C) y cuatro tratamientos crónicos de extracto crudo cianobacterial (1.47, 2.94, 5.88 y 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) y un control. Cada barra representa cuatro repeticiones  $\pm$  error estándar. Letras diferentes representan diferencia significativa entre tratamientos, evaluada a través de una prueba estadística de Tukey.

Tabla.4.2. Análisis de varianza de una vía (ANOVA), aplicada a la tasa de crecimiento poblacional de *Ceriodaphnia dubia*, expuesta a cuatro concentraciones de extracto crudo y tres temperaturas (18, 23 y 30°C). DF = grados de libertad, SS = suma de cuadrados, MS = media al cuadrado, F= prueba de Fisher y P = valor de criterio P.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Entre grupos 18°C	4	0.0192	0.00481	71.190	<0.001
Residual	14	0.000946	0.0000676		
Total	18	0.0202			
Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Entre grupos 23°C	4	0.0121	0.00302	36.209	<0.001
Residual	14	0.00117	0.0000833		
Total	18	0.0132			
Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Entre grupos 30°C	4	0.0114	0.00286	11.259	<0.001
Residual	14	0.00356	0.000254		
Total	18	0.0150			

#### Tabla de vida de *Ceriodaphnia dubia*

##### Supervivencia ( $l_x$ )

Los patrones generales de los gráficos de supervivencia de *Ceriodaphnia dubia*, muestran que existe una clara relación entre la temperatura y la supervivencia; conforme aumenta la temperatura, menor el número de días que prevalecen los organismos y viceversa (duración de vida a  $30 > 23 > 18^\circ\text{C}$ ) (Fig. 4.4). El resultado combinado de la temperatura y la concentración del extracto crudo de cianobacterias, promueven un efecto negativo sobre la supervivencia de *C. dubia*; el aumento de la temperatura y la concentración del extracto ocasionó un decremento de aproximadamente 25% de los días promedio de sobrevivencia, con relación a los tratamientos sometidos a la menor temperatura ( $18^\circ\text{C}$ ).

Las curvas de supervivencia presentada por los controles y los tratamientos con bajo porcentaje de extracto ( $1.47$  y  $2.94 \mu\text{g L}^{-1}$ ), principalmente en las temperaturas de  $18$  y  $23^\circ\text{C}$ , son representadas por pocas muertes a lo largo de la mayor parte del ciclo de vida de la población, pero marcadas por un drástico decremento debido a la longevidad de los organismos durante la parte final de experimentación. En contraste, los organismos expuestos a altas concentraciones del extracto crudo ( $5.88$  y  $8.82 \mu\text{g L}^{-1}$ ), en especial aquellos sometidos a  $30^\circ\text{C}$ , muestran una rápida mortandad de individuos en el comienzo de la tabla de vida ( $> 50\%$  durante los primeros 5 días), continuado de muertes menos abundantes pero constantes (Fig. 4.4).



### Fecundidad ( $m_x$ )

De manera general, las curvas de fecundidad muestran que el aumento en la temperatura acelera la edad de madurez reproductiva de *Ceriodaphnia dubia*, ya que el tiempo de la primera reproducción se alcanza antes, *p.ej.* en los tratamientos sin presencia de toxico a 30°C, esta presentó en el día 4 de experimentación, mientras que, bajo 18°C fue hasta el día 7 (Fig. 4.5). Los tratamientos con la mayor concentración del extracto (8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), muestran un retardo del día de primera reproducción en comparación con todos los tratamientos evaluados (18°C-5, 23°C-6 y 30°C-9 día). El periodo promedio reproductivo, resulto ser, al menos un día, mayor en los controles con relación a los tratamientos con extractos crudos (15 días para 30 y 23°C, y 18 días a 18°C) (Fig. 4.5).

El tratamiento con 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$  y sometido a 30°C presento el mayor pico reproductivo entre todos los experimentos y fue mostrado en día 11 de evaluación (5.29 neonatos  $\text{ind}^{-1} \text{d}^{-1}$ ). En promedio, los tratamientos expuestos a la temperatura intermedia (23°C), obtuvieron los máximos y más prolongados picos de fecundidad alcanzando más de 170 neonatos entre todos los tratamientos, lo que representa, 40% más que los tratamientos expuestos a 18°C. En los experimentos con presencia de extracto y expuestos a la temperatura de 30°C, la proporción de fecundidad tiende a incrementar conforme aumenta la concentración del extracto, como respuesta antes el estrés generado por la presencia de sustancias tóxicas disueltas (microcistinas).

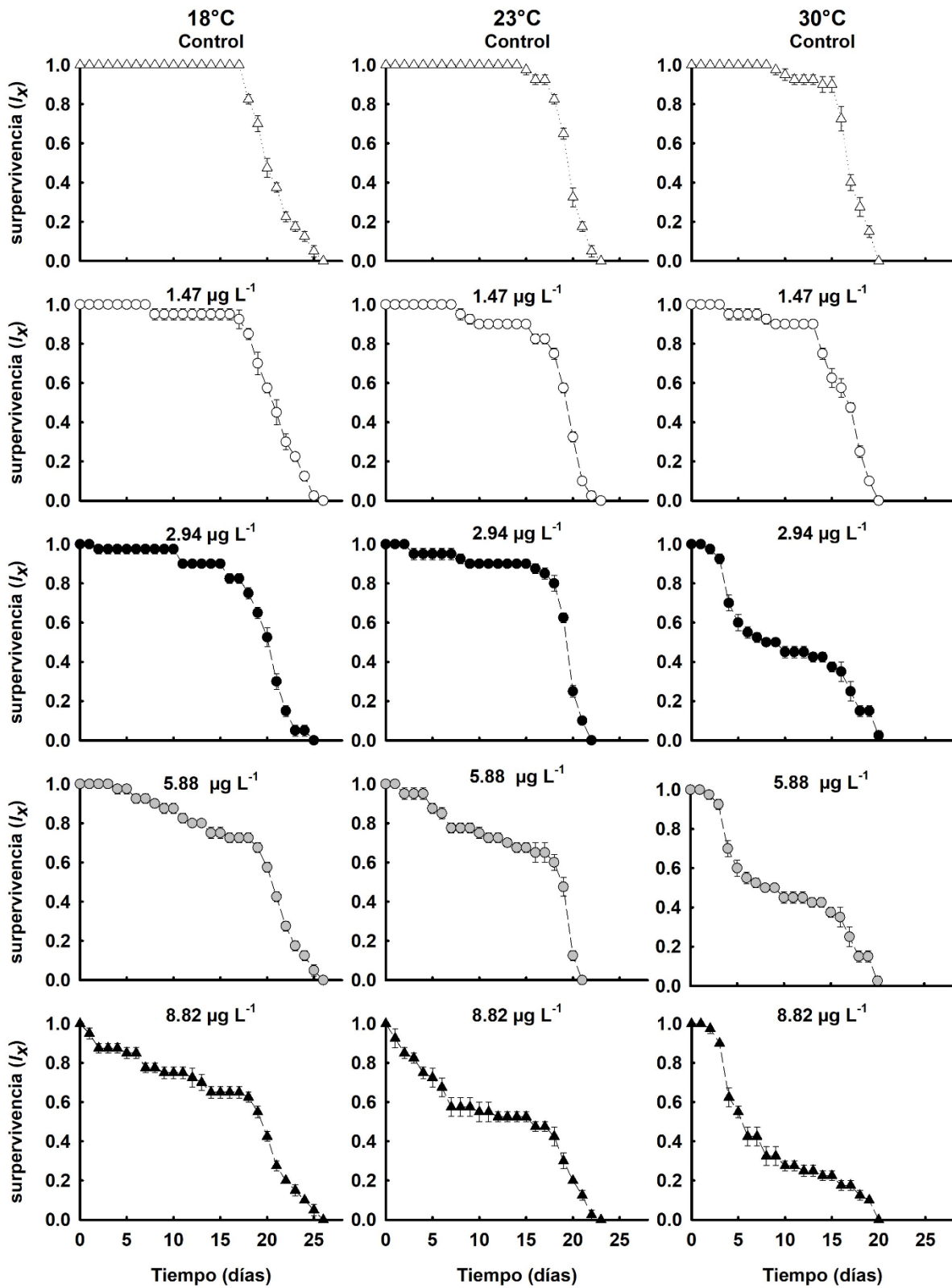


Figura.4.4. Curvas de supervivencia de *Ceriodaphnia dubia* a diferentes temperaturas (18, 23 y 30°C) y cuatro diluciones subletales de extracto crudo de cianobacterias proveniente del lago de Zumpango y controles (ausencia de extracto). Los símbolos representan los promedios  $\pm$  error estándar de cuatro réplicas de una cohorte de diez individuos cada uno.

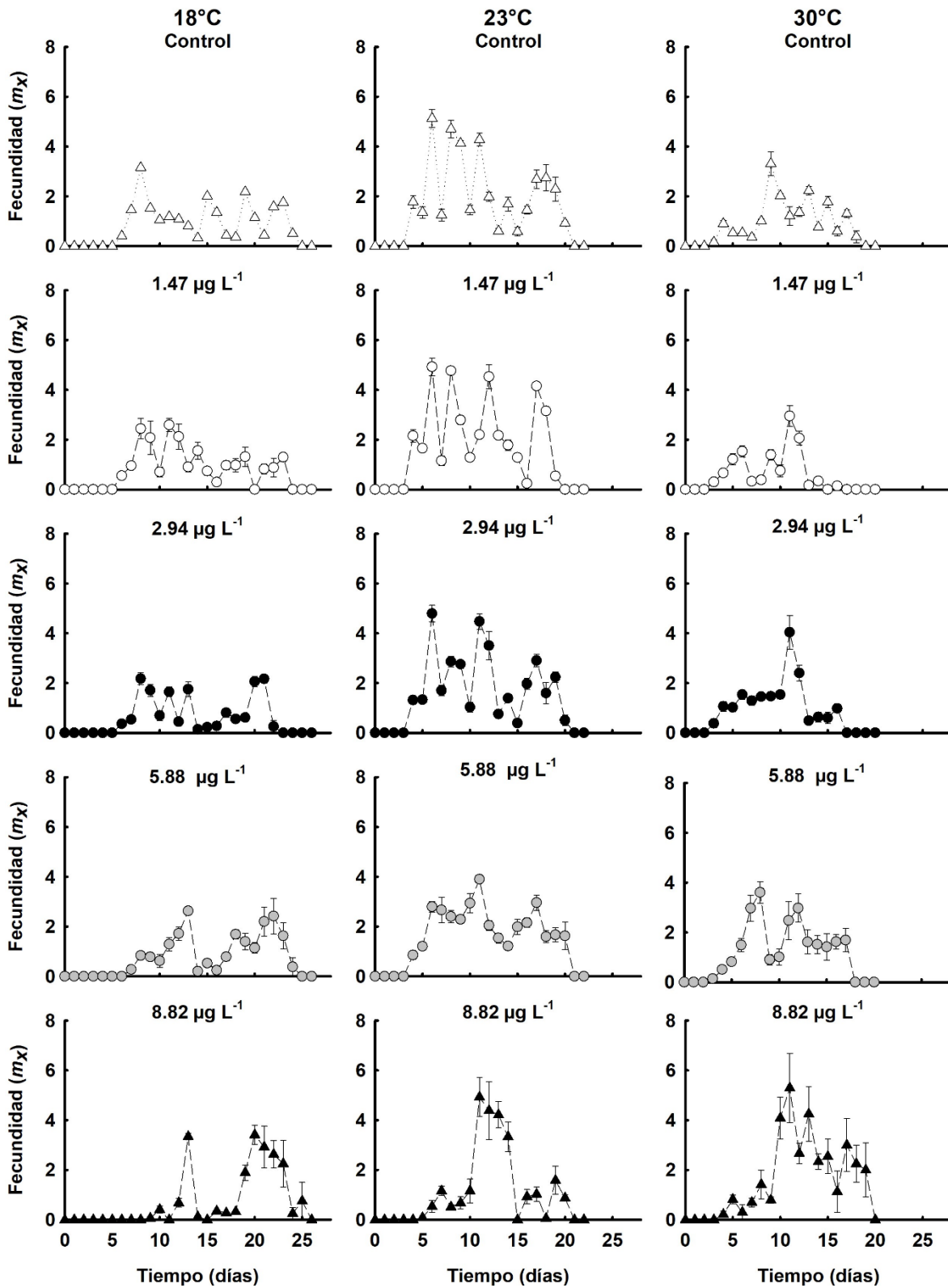


Figura.4.5. Fecundidad de *Ceriodaphnia dubia* a diferentes temperaturas (18, 23 y 30°C) y cuatro diluciones subletales de extracto crudo de cianobacterias proveniente del lago de Zumpango y controles (ausencia de extracto). Los símbolos representan los promedios  $\pm$  error estándar de cuatro réplicas de una cohorte de diez individuos cada uno.

### *Variables demográficas de Ceriodaphnia dubia sometida a 18°C*

En ambas características demográficas ligadas con la supervivencia (promedio y esperanza de vida), se aprecia un patrón de decremento conforme aumenta el porcentaje de concentración del extracto, sin embargo, con relación al tratamiento libre de extracto, sólo los tratamientos con 5.88 y 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$  de tóxico resultaron ser estadísticamente diferentes en estas variables demográficas ( $P < 0.005$ , test de Tukey) (Fig. 4.6).

Con respecto a la capacidad de incremento demográfico (tasa reproductiva bruta y neta), en la variable reproductiva bruta, las poblaciones de *Ceriodaphnia dubia* no mostraron ser significativamente diferentes, con un valor promedio de 20.11 neonatos hembras<sup>-1</sup> y con un rango de variación entre todos los tratamientos de 15.5 hasta 25.6 descendientes durante el tiempo de experimentación (Fig.4.7).

Por otro lado, con excepción del tratamiento que contenía extracto con 1.47  $\mu\text{g L}^{-1}$ , conforme aumenta la concentración, menor es su potencial neto reproductivo. El tratamiento con 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$  de equivalentes de microcistinas, a pesar de mostrar un incremento en este índice de natalidad, vio severamente reducida su capacidad reproductiva 56% con relación al tratamiento control.

El tiempo generacional de *C. dubia* (periodo de tiempo que transcurre entre el nacimiento de un neonato y su descendencia) en los experimentos con baja proporción de extracto y en el control es de alrededor de 12 días, de manera opuesta la presencia de mayor proporción de extracto genera un letargo de la duración promedio de una generación ( $> 14$  días), aumentando el tiempo con relación a la concentración (Ver Figura 4.8).

A partir de la concentración de extracto con 2.94  $\mu\text{g L}^{-1}$  y adelante, la tasa de crecimiento poblacional de *C. dubia*, se vio estadísticamente reducida con respecto al control ( $P < 0.05$ , Tukey), los organismos sujetos a la influencia del extracto con 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$ , mostraron la menor capacidad de incremento. Los individuos que componían el tratamiento con 1.47  $\mu\text{g L}^{-1}$ , no resultaron ser significativamente diferentes al tratamiento control, en ninguna de las variables demográficas estimadas de tabla de vida a esta temperatura.

#### *Variables demográficas de Ceriodaphnia dubia sometida a 23°C*

Entre los tratamientos control, 1.47 y 2.94  $\mu\text{g L}^{-1}$  de equivalentes de microcistinas, no existe diferencia estadística en los valores de promedios de vida ( $P>0.05$ , test de Tukey). Por otro lado, los tratamientos expuestos a los extractos crudos con 5.88 y 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$  tienen un promedio de vida menor, siendo el tratamiento con la mayor concentración el más vulnerable, reduciendo drásticamente este parámetro demográfico a tan sólo 12.7 días (Fig. 4.6). La esperanza de vida sigue el mismo patrón en ambas concentraciones con presencia de cianotoxina, disminuyendo 21 y 37% con relación al control.

Con excepción del tratamiento con 30% de extracto crudo del lago Zumpango, los cladóceros alcanzaron valores de tasa reproductiva bruta similares y no hubo diferencia significativa entre los tratamientos ( $P>0.05$ , Tukey). El tratamiento que obtuvo los mayores valores reproductivos durante el intervalo de tiempo de evaluación fue el control con 38.9 neonatos.

Respecto a la tasa neta de reproducción, la concentración del extracto tiene un gran efecto, decrementando la capacidad reproductiva de los individuos expuestos con el aumento de la concentración, obviamente el tratamiento con 30% presentó los menores valores en esta variable, obteniendo 12.8 neonatos por hembra, lo que representa 2/3 menos que la capacidad reproductiva obtenida por el control (Fig. 4.7).

La longevidad entre generaciones con presencia de extracto de 5 a 20% y el control resultaron ser similares ( $P>0.05$ , test de Tukey) con un rango de 10.53 a 11.04 días. El mayor obtenido en este experimento a 23°C fue registrado en el tratamiento con 30% de extracto (12.1 días), indicando que esta concentración tiene un efecto de aletargamiento de la duración promedio entre generaciones. La concentración del extracto tiene un efecto significativo sobre capacidad innata de incremento. El valor de  $r$  en el tratamiento con 30% de extracto fue 0.21, mientras que el del tratamiento control duplicó este valor (0.44) (Fig. 4.8). De manera similar los tratamientos con 10 y 20% de extracto también resultaron ser diferentes entre ellos y versus el tratamiento libre de extracto ( $P>0.05$ , test de Tukey).

### *Variables demográficas de Ceriodaphnia dubia sometida a 30°C*

El efecto de las diferentes concentraciones de extracto crudo de cianobacterias es dependiente de la temperatura de exposición ( $P < 0.001$ ). La esperanza y el promedio de vida de *C. dubia* fueron severamente afectados con relación a las otras temperaturas evaluadas. Conforme aumenta la concentración del extracto a una temperatura de 30°C se reducen ambas variables demográficas, especialmente en aquellos tratamientos mayores a 5%. No obstante, este último no fue severamente afectado, mostrando valores de 16 y 15.5 días, consecutivamente, en ambas variables demográficas y de acuerdo con el análisis de varianza, no fue estadísticamente diferente a los valores obtenidos por el control (Fig. 4.6).

Un claro compromiso de *C. dubia* fue reflejado en los experimentos sometidos a 30°C (termino traducido de ingles trade-off, ver en Soler et al., 2001). A pesar de la disminución de las variables de supervivencia, la tasa de reproducción bruta aumenta con relación a la concentración de extracto, reflejando una mayor inversión energética en la reproducción por cada hembra. Las hembras expuestas a 20 y 30% de extracto mostraron los mayores valores reproductivos 24.7 y 33.7 neonatos.hembra<sup>-1</sup>, lo cual es ~46% más que el tratamiento control que no se encontraba sometido a ningún estrés ambiental. Por otro lado, esto no se refleja en la tasa de reproducción neta, debido a que ésta variable si contempla la natalidad y la mortalidad en cada ciclo generacional, resultando en un menor número de hembras partenogénicas en cada generación en la presencia de los extractos crudos. Nuevamente el tratamiento con 30% del extracto resultó ser el más afectado respecto al control y a los tratamientos con menor concentración de cianotoxinas, obteniendo un valor de 8.1 neonatos.hembra<sup>-1</sup> (Fig. 4.7).

El rango de la variable demográfica de tiempo generacional fue de 8.9 a 11.7 días. Entre los tratamientos con presencia de extracto, conforme aumenta la concentración hay un aletargamiento entre ciclos. Entre el control y la mayor concentración no existe diferencia significativa ( $P < 0.05$ , test de Tukey). Finalmente, la tasa de crecimiento poblacional muestra que existen dos grupos diferenciados entre los experimentos a 30°C. Los organismos expuestos a 30% que alcanzaron un valor de  $r$  de 0.18 d<sup>-1</sup> y todos los tratamientos restantes se encontraron en un rango de incremento de 0.28 a 0.32 d<sup>-1</sup>. Este último valor fue conseguido por el tratamiento con 5% de extracto crudo de cianobacterias.

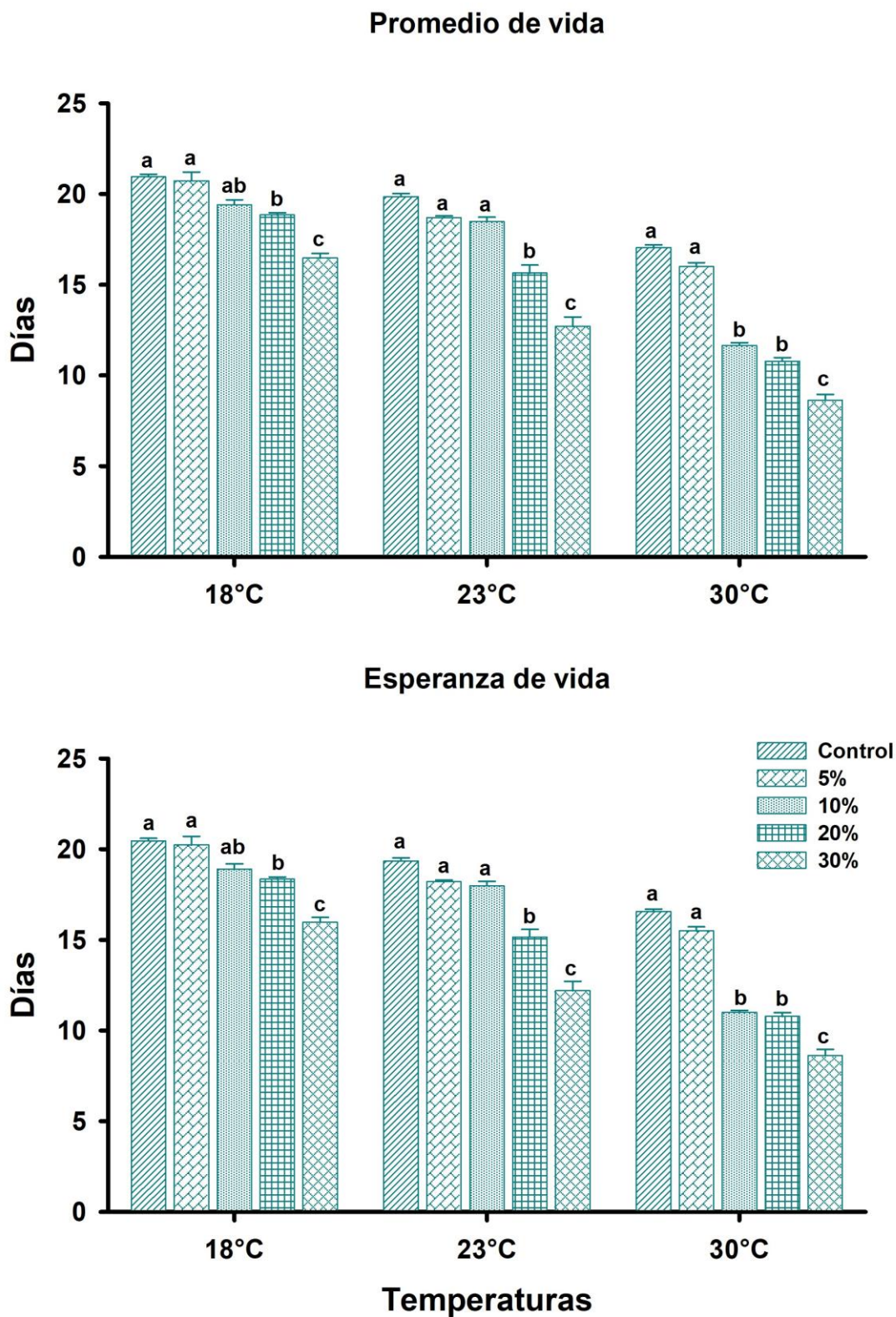


Figura.4.6. Promedio y Esperanza de vida de *Ceriodaphnia dubia*, sometido a bioensayos crónicos, con cuatro diferentes concentraciones de extractos crudos (5, 10, 20 y 30%), elaborado con el Ciano FAN presente en el lago de Zumpango, sometidos a 18, 23 y 30°C y usando *Scenedesmus acutus* a  $1.0 \times 10^6$  cels  $ml^{-1}$  como alimento. Se presenta la media de cuatro replicas  $\pm$  error estándar.

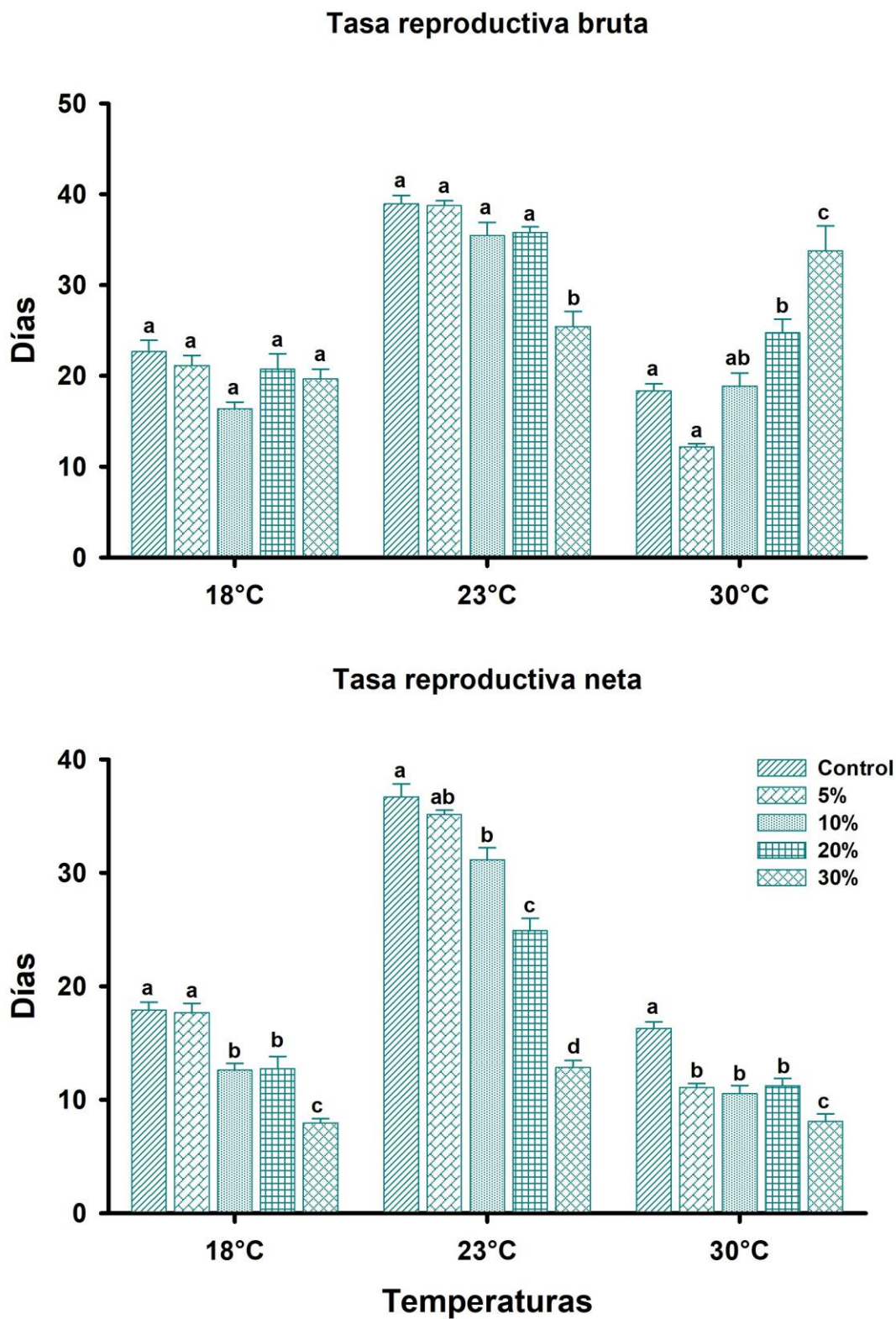


Figura.4.7. Tasa reproductiva bruta y neta de *Ceriodaphnia dubia*, sometido a bioensayos crónicos, con cuatro diferentes concentraciones de extractos crudos (5, 10, 20 y 30%), elaborado con el Ciano FAN presente en el lago de Zumpango, sometidos a 18, 23 y 30°C y usando *Scenedesmus acutus* a  $1.0 \times 10^6$  cels  $ml^{-1}$  como alimento. Se presenta la media de cuatro  $\pm$  error estándar.



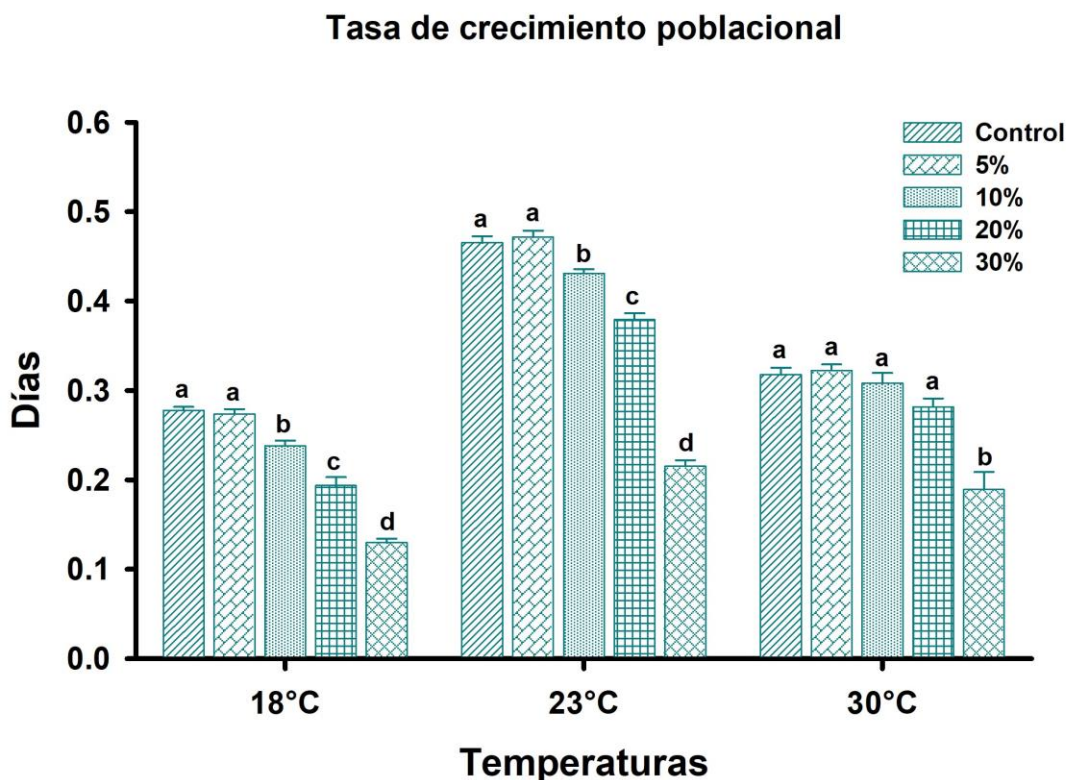
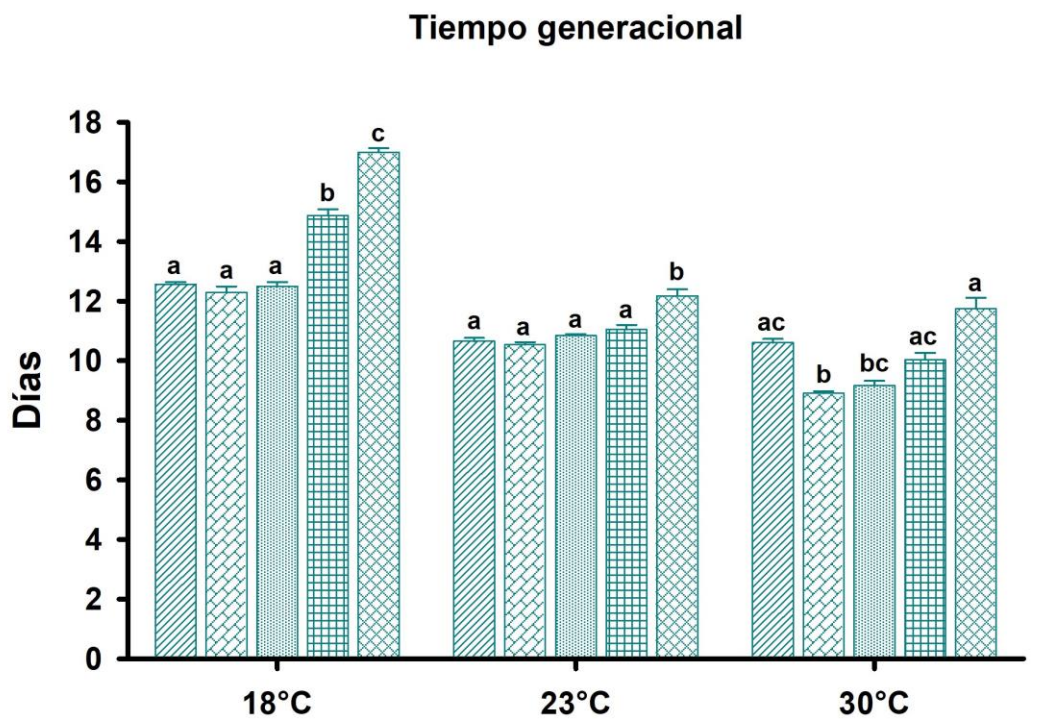


Figura.4.8. Tiempo generacional y tasa de incremento poblacional de *Ceriodaphnia dubia*, sometido a bioensayos crónicos, con cuatro diferentes concentraciones de extractos crudos (5, 10, 20 y 30%), elaborado con el Ciano FAN presente en el lago de Zumpango, sometidos a 18, 23 y 30°C y usando *Scenedesmus acutus* a  $1.0 \times 10^6$  cels  $ml^{-1}$  como alimento. Se presenta la media de cuatro replicas  $\pm$  error estándar.

Tabla.4.3. Análisis de varianza de dos vías, aplicada a las variables demográficas de tabla de vida de *Ceriodaphnia dubia*, expuesta a cuatro concentraciones de extracto crudo y tres temperaturas (18, 23 y 30°C). DF = grados de libertad, SS = suma de cuadrados, MS = media al cuadrado, F= prueba de Fisher y P = valor de criterio P.

<i>Fuente de variación</i>	<i>DF</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
<i>Promedio de vida</i>					
<i>Concentración extracto (A)</i>	4	345.39	86.34	267.03	<0.001
<i>Temperatura (B)</i>	2	431.23	215.61	666.80	<0.001
<i>Interacción de A x B</i>	8	44.86	5.60	17.34	<0.001
<i>Residual</i>	45	14.55	0.32		
<i>Total</i>	59	836.03	14.17		
<i>Esperanza de Vida</i>					
<i>Concentración extracto (A)</i>	4	345.272	86.318	269.604	<0.001
<i>Temperatura (B)</i>	2	435.622	217.811	680.306	<0.001
<i>Interacción de A x B</i>	8	46.488	5.811	18.150	<0.001
<i>Residual</i>	45	14.407	0.320		
<i>Total</i>	59	841.790	14.268		
<i>Tasa reproductiva bruta</i>					
<i>Concentración extracto (A)</i>	4	124.478	31.120	4.438	0.004
<i>Temperatura (B)</i>	2	2646.087	1323.043	188.676	<0.001
<i>Interacción de A x B</i>	8	1509.664	188.708	26.911	<0.001
<i>Residual</i>	45	315.551	7.012		
<i>Total</i>	59	4595.780	77.895		
<i>Tasa reproductiva neta</i>					
<i>Concentración extracto (A)</i>	4	919.036	229.759	64.859	<0.001
<i>Temperatura (B)</i>	2	2791.339	1395.669	393.988	<0.001
<i>Interacción de A x B</i>	8	815.393	101.924	28.773	<0.001
<i>Residual</i>	45	159.409	3.542		
<i>Total</i>	59	4685.177	79.410		
<i>Tiempo generacional</i>					
<i>Concentración extracto (A)</i>	4	72.227	18.057	150.121	<0.001
<i>Temperatura (B)</i>	2	152.089	76.044	632.219	<0.001
<i>Interacción de A x B</i>	8	23.149	2.894	24.057	<0.001
<i>Residual</i>	45	5.413	0.120		
<i>Total</i>	59	252.877	4.286		
<i>Tasa de incremento poblacional</i>					
<i>Concentración extracto (A)</i>	4	0.261	0.0652	215.443	<0.001
<i>Temperatura (B)</i>	2	0.296	0.148	489.460	<0.001
<i>Interacción de A x B</i>	8	0.0275	0.00344	11.375	<0.001
<i>Residual</i>	45	0.0136	0.000303		
<i>Total</i>	59	0.598	0.0101		

## Discusión

Los cambios en la temperatura afectan las características fisiológicas y ecológicas del zooplancton (Heinle, 1969). Las respuestas son manifestadas a través de alteraciones funcionales que se reflejan en la historia de vida de los individuos o a través de cambios en las características del hábitat y las interacciones (Berger et al., 2007). A diferencia de los rasgos genotípicos, muchas respuestas producto de la plasticidad fenotípica como la aclimatación a la temperatura se refleja durante el ciclo de vida de un individuo (Ger et al.,

2014). El cladócero *Ceriodaphnia* es comúnmente registrado en sistemas epicontinentales de México, especialmente con temperaturas  $> 20^{\circ}\text{C}$  (Elías-Gutiérrez et al., 2008), la tasa de crecimiento de los cladóceros se ve fácilmente manipulada por cambios en la temperatura debido a su condición ectotérmica (Müller et al., 2018) *Ceriodaphnia dubia* también ha sido recomendado por APHA como un organismo estándar en bioensayos de toxicidad (APHA, 1994).

La edad de primera reproducción es una importante variable demográfica que influye la tasa de crecimiento poblacional de los organismos del zooplancton. La gran mayoría de los cladóceros de zonas tropicales y subtropicales pueden alcanzar la maduración reproductiva (edad de primera reproducción) durante los primeros tres días de su ciclo de vida (Sarma et al., 2005). La alteración térmica causó un retraso en la edad de maduración reproductiva de *C. dubia* a bajas temperaturas, representada por prolongadas fases estacionarias (lag) del crecimiento poblacional, un efecto totalmente opuesto fue presentado a  $30^{\circ}\text{C}$ . Esto fue previamente registrado por Gama-Flores et al., (2011) quienes observaron que temperaturas por debajo de  $20^{\circ}\text{C}$  originaron fases estacionarias de hasta tres semanas en este mismo cladóceros. Esto fue comprobado por Anderson y Benke (1994) quienes mostraron, que a  $10$  y  $15^{\circ}\text{C}$  la edad de la primera reproducción fue presentada transcurridos 24 y 9 días, consecutivamente. En el género *Moina*, otro cladóceros de la región subtropical, se ha registrado el mismo efecto; en *Moina macrocopa* la maduración reproductiva es retrasada  $1/3$  a  $20^{\circ}\text{C}$  respecto a  $30^{\circ}\text{C}$  (Gama-Flores et al., 2015), concordando con lo registrado en el experimento de crecimiento poblacional a  $18^{\circ}\text{C}$ , donde la fase lag se mantuvo transcurridos nueve días,  $2/3$  más tiempo que a  $30^{\circ}\text{C}$ . Deng y Xie (2003) también mostraron que el estadio neonatal en *Moina irrasa* estuvo aletargada a  $10$  y  $15^{\circ}\text{C}$  (130.8 y 39.6 h) y fue especialmente más larga cuando se presenta baja concentración de suministro alimenticio en el ambiente (142.1 y 57.8 h). De acuerdo con Sarma et al., (2005) el retraso de la edad de reproductiva permite que los cladóceros en situaciones de estrés mantengan sus densidades limitadas, esperando que las condiciones favorables regresen y las poblaciones se recuperen.

Contrariamente, como un ajuste homeostático, el incremento térmico promueve la maduración temprana de los estadios neonatales y un aumento de la frecuencia reproductiva,

favoreciendo el crecimiento acelerado de *C. dubia*. Cowgill et al., (1985) registro que la edad de primera reproducción de *C. dubia* es de 96 h en temperaturas de 20-24°C, mismo tiempo registrado en el actual estudio a 23°C, sin embargo, el tiempo de esta variable demográfica disminuye conforme aumenta la temperatura a tan sólo 72 h a 30°C. Feniova y Zilitinkevich (2012), obtuvieron un desarrollo juvenil anticipado de hasta 4 días en cladóceros sometidos a 27°C con relación a temperaturas menores a 20°C, siendo el género *Ceriodaphnia* (organismos de prueba: *Daphnia magna*, *D. cucullata*, *D. galeata hyalina*, *Ceriodaphnia quadrangula*, *Simocephalus vetulus* y *Diaphanosoma brachyurum*) el que obtuvo una maduración sexual más acelerada (sólo tres días).

Diversos trabajos sobre cladóceros demuestran que, aunque obtuvieren un crecimiento acelerado debido al aumento en la variable de fecundidad, la tasa de crecimiento poblacional es alterada a alta temperatura. Nandini et al., (2007) evaluaron el efecto de la temperatura en el cladóceros *Moina macrocopa* y obtuvieron valores de incremento poblacional de 0.6 a 22° y 0.4 a 27°C, esto es explicado porque la supervivencia resulto ser dos veces mayor a 22°C, coincidiendo, con lo obtenido en este bioensayo, donde la supervivencia a 30°C fue 20% menor que a 23°C, resultando en una tasa de 0.32 y 0.46 d<sup>-1</sup>. No obstante, comparando ambos valores de incremento obtenidos por *C. dubia*, no son tan distantes, pero si, muy superiores a aquellos reportados por Gama-Flores et al., (2011) quienes obtuvieron una *r* de 0.03 a 0.07 d<sup>-1</sup> en una evaluación térmica entre 15 y 25°C.

De acuerdo con Jansen et al., (2017) la termo-tolerancia reflejada en cladóceros *p. ej. Daphnia magna* es una respuesta de adaptación genética o de plasticidad fenotípica. En este caso en el experimento de tabla de vida a 23°, *C. dubia* presentó los mayores valores de *r* (0.46 d<sup>-1</sup>), posiblemente porque se encuentra en el rango de temperatura que experimentaban los clones aislados en el lago de Zumpango (Zamora-Barrios et al., 2019; Figueroa- Sánchez et al., 2020), y, a pesar de mostrar una gran termo-tolerancia, su óptimo desarrollo se encuentra alrededor de esta temperatura debido a la adaptación arraigada. Este comportamiento también ha sido mostrado en otros miembros del zooplancton; Sarma et al., (1998) corroboraron que el rotífero *Brachionus calyciflorus* aislado de un reservorio mexicano con temperaturas promedio de 17 ± 2, mostró una reducción del pico de máxima

densidad a 30°C, debido a que este clon estaba mejor adaptado a temperaturas menos cálidas. Ma et al., (2010) confirman que todas las respuestas presentadas en las variables de tabla de vida por ocho clones de este mismo organismo, expuestos a 18, 23 y 28°C están estrechamente relacionadas a la temperatura que experimentaron previamente en su población geográfica natal, y en conjunto con la plasticidad fenotípica expresada a través de los efectos indirectos sobre el tamaño corporal y el volumen del huevo. El costo energético invertido en los procesos fisiológicos para compensar el estrés ambiental también puede ser reflejado en el crecimiento somático de los microcrustáceos. Aunque las características morfométricas no fueron evaluadas en este proyecto, es un factor para considerarse en evaluaciones posteriores. No obstante, Gama-Flores et al., (2011) muestran que las divergencias en el tamaño corporal en *C. dubia* están más relacionadas con la concentración de alimento y no con la temperatura.

Las tasas de crecimiento poblacional a 30°C resultaron ser mayores a las obtenidas por los individuos expuestos a 18 y 23°C. Esto podría ser el efecto de la interacción entre la temperatura y la baja concentración de microcistinas en los experimentos (1.47- 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Por un lado, existen trabajos que han registrado que bajas concentraciones de microcistinas disueltas pueden tener efecto estimulante sobre diversos miembros del zooplancton (Huang et al., 2012; Zamora-Barrios et al., 2017) por ejemplo, Chen et al., (2005) examinaron los mecanismos toxicológicos de microcistina-LR sobre *Daphnia magna* obteniendo que las bajas concentraciones de microcistinas (113  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), no tenían ningún efecto dañino en el dafnido. Por el contrario, tenían un efecto estimulante, específicamente sobre la capacidad reproductiva. También, Huang et al., (2012) obtuvieron que los máximos valores de incremento poblacional ( $1.2 \text{ d}^{-1}$ ) de *Brachionus calyciflorus* fueron alcanzados a una temperatura de 30°C y con concentraciones de 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ , puesto que el incremento térmico favoreció una mayor absorción de microcistinas potencializando los efectos estimulantes. Por su parte, Nandini y Rao (1998) mostraron que los efectos deletéreos ocasionados por el consumo de colonias de *Microcystis aeruginosa* fueron mitigados en *C. cornuta*, *M. macrocopa*, *D. carinata* a 30°C en comparación con aquellas expuestas a 20°C, y en *Simocephalus vetulus* alimentado con ésta misma cianobacteria, pero en forma individual, obtuvo valores  $> 0.3 \text{ d}^{-1}$ , superior a la tasa alcanzada con una dieta exclusiva de *Chlorella*.

Los autores argumentan que ciertos clones con una historia de coexistencia con cianobacterias tóxicas desarrollan tolerancia y su consumo por el zooplancton es comparable en calidad a una dieta exclusiva de clorófitas. En adición, otra explicación alterna podría ser que, cuando los miembros del zooplancton son sometidos a bajas concentraciones de tóxicos ellos compensan, invirtiendo más en reproducción y reduciendo su supervivencia, aumentando su capacidad competitiva y presentando historias de vida alternativas (Allan, 1976; Ebert, 1993; Sarma et al., 2002). Esto fue evidente en el comportamiento de *Ceriodaphnia dubia* a 30°C, reflejando un compromiso (*trade-off*), donde a pesar de presentar una disminución en las variables promedio de vida y esperanza de vida un % con relación a las otras temperaturas evaluadas, la variable demográfica de tasa reproductiva bruta aumenta conforme aumenta la concentración de microcistinas en el medio, dando como resultado un incremento en su tasa de crecimiento poblacional. Por otro lado, la temperatura en si tiene un efecto estimulador sobre las tasas de incremento poblacional. Asociado a esto, las temperaturas registradas a las que se desarrollan las máximas abundancias de las poblaciones de *Ceriodaphnia* en sistemas naturalmente son usualmente > 20°C, prefiriendo temperaturas cercanas a 26°C; sin embargo, tienen un rango de tolerancia térmica máxima de hasta 33°C (Verbitsky et al., 2014), justificando que puedan obtener tasas de crecimiento similares o incluso superiores entre 23 y 30°C como previamente lo mostró Hanazato y Yazuno (1985), quienes reportaron que el valor de incremento poblacional de las especies subtropicales *M. micrura* y *Diaphanosoma brachyurum* no varían drásticamente entre 20 y 30°C. Chen et al., (2009) también revelaron que *Daphnia similoides* puede crecer a alta temperatura (35°C) y obtener un valor de *r* cercano a la unidad siempre que el suministro alimenticio sea de buena calidad. Además, se ha documentado que existe una relación inversa entre la supervivencia y el esfuerzo reproductivo.

Finalmente, diversas investigaciones están enfocadas en averiguar los mecanismos detrás de la termo-tolerancia en cladóceros, favoreciendo la hipótesis ésta es dependiente de la regulación de genes vinculados a eficientizar la aceleración metabólica y la cuota energética (Smirnov, 2017; Müller et al., 2018). Los mecanismos de respuesta ante el estrés térmico incluyen: aumento en la síntesis de hemoglobina, incremento en la producción de glutatión peroxidasa, síntesis de proteínas de choque térmico para disminuir la desnaturalización

proteica, inducción de la síntesis vitelogenina, una proteína asociadas a la reproducción de hembras asexuales en cladóceros (Mikulski et al., 2009; Raborn et al., 2016; Jansen et al., 2017).

Las investigaciones con bioensayos han sido enfocadas en la evaluación de las cianobacterias y sus toxinas, exponiendo a los organismos a células vivas (como alimento) (Lürling y van der Grinten, 2003; Alva et al., 2007) y toxinas purificadas (DeMott et al., 1991; Huang et al., 2012). Sin embargo, los extractos crudos representan un panorama más realístico de la situación que experimentan los organismos durante la senescencia de los Ciano FANs en sistemas naturales, con aumentos drásticos de las concentraciones de cianotoxinas en combinación con otros compuestos disueltos que podrían causar sinergia en el efecto nocivo. DeMott et al., (1991) reportó que tres especies de daphnidos (*Daphnia pulicaria*, *D. hialina* y *D. pulex*), sometidos a Microcistina-LR purificada los valores obtenidos de LC<sub>50</sub> están en un rango de 9,600- 21,400 µg L<sup>-1</sup>. Así mismo, Chen et al., (2005) mostró que *Daphnia magna* resulto ser menos sensible de lo que ellos esperaban (LC<sub>50</sub>, 20,300 µg L<sup>-1</sup>). Ésta alta tolerancia es consistente con los resultados obtenidos en otros miembros zooplantónicos, Huang et al., (2012) confirmo que las concentraciones < 200 µg L<sup>-1</sup>, no tienen un efecto negativo sobre las variables demográficas del rotífero *Brachionus calyciflorus*, y el valor de LC<sub>50</sub> reportado por Chen et al., (2002) de ésta mista toxina para *B. plicatilis* es de 124.87 mg L<sup>-1</sup>; concentraciones por encima de lo comúnmente registrado en sistemas epicontinentales (Vasconcelos et al., 2010; Turner et al. 2018). El valor promedio de LC<sub>50</sub> del extracto crudo de cianobacterias hallado en esta evaluación para *Ceriodaphnia dubia* contenía 29.4 µg L<sup>-1</sup>, favoreciendo la hipótesis de Oberemm et al., (1997) que plantea que otros metabolitos producidos por las cianobacterias y diluidos en el medio pueden causar diferentes niveles de toxicidad debido a sinergia o antagonismo. Esto fue demostrado por Pawlik-Skowrońska et al., (2019) al exponer a *B. calyciflorus* y *D. pulex* a extractos de mezclas de cianobacterias, resultando en un efecto mucho mayor al obtenido con las cianotoxinas purificadas, debido al conjunto de metabolitos bioactivos como oligopeptidos, anabaenopeptinas, aeruginosamidas, aeruginosinas, cianopeptolinas, etc. que representan un riesgo potencial para las especies de zooplancton, a pesar de que las cepas no sean productoras de cianotoxinas.

Desde 1997 Oberemm y colaboradores, comenzaron a realizar evaluaciones del efecto que podrían tener los extractos crudos acuosos de cianobacterias, en contraste con la cianotoxina purificada microcistina-LR (0.5, 5 y 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) sobre vertebrados acuáticos (estadio embrionario del pez cebra). Los resultados demostraron que los extractos tienen un mayor efecto negativo, inhibiendo el desarrollo de estadios larvarios al ocasionar retraso de la organogénesis, ralentización de la circulación sanguínea, edemas en el área del corazón y defectos del tubo neural. Pietsch et al., (2001) también concuerda, que los extractos crudos del lago Müggelsee en Berlín tienen un mayor efecto que microcistinas purificadas (LR y RR), exponiendo a la microalga *Scenedemus armatus*, la macrofito *Ceratophyllum demersum*, el invertebrado *Chaoborus crystalinus* y a los huevecillos del pez *Danio rerio*, donde la concentración de microcistinas evaluadas en el extracto fue de 24.8  $\mu\text{g L}^{-1}$ . El primer trabajo realizado con extractos crudos cianobacteriales con organismos zooplanctónicos, fue presentado por Okumura et al., (2007), donde a través de  $\text{LC}_{50}$  mostró los efectos sobre la supervivencia de *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* y *Ceriodaphnia silvestrii*. Las pruebas de toxicidad aguda mostraron que el cladóceros más sensible fue *D. similis* obteniendo un valor de  $\text{LC}_{50}$  de 46  $\mu\text{g g}^{-1}$ , 43 y 38% menor tolerancia que *C. silvestrii* y *C. dubia*, argumentando que estos efectos toxicológicos pueden generar cambios drásticos en la composición de la biota presente en los sistemas con florecimientos. A partir de esto, diversos trabajos han evaluado el efecto de los extractos crudos sobre el zooplancton. Dao et al., (2010) evaluaron el efecto de los extractos crudos de un cultivo tóxico de *M. aeruginosa* aislada años atrás del lago Chaohu en China sobre *Daphnia magna*. Los resultados muestran una reducción del ~55% de la supervivencia con el extracto crudo conteniendo 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  de microcistina-LR, favoreciendo los hallazgos evaluados aquí, ya que la supervivencia de *C. dubia* en la concentración de 8.82  $\mu\text{g L}^{-1}$  fue disminuida en un 50% en los primeros días de experimentación, demostrando que los extractos crudos compuestos principalmente de *Planktothrix* podrían ser más tóxicos. Nandini et al (2019) también indicaron que los extractos crudos con dominancia de *Woronichinia naegeliana*, resultaron ser más tóxicos que aquellos realizados con *Microcystis* sp., ocasionando una reducción del 50% de la *r* en el rotífero *Brachionus calyciflorus*, a pesar de contener menor concentración de microcistinas disueltas (9.57 y 0.097  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente). Inclusive, en el experimento de tabla de vida con la mayor concentración de equivalentes de microcistina-LR, obtuvieron un valor de



incremento mayor al reportado en el tratamiento control. Zamora-Barrios et al., (2017) también confirmó la alta tolerancia de *Brachionus calyciflorus* a los extractos crudos cianobacteriales, evaluando durante diferentes periodos del año la producción y el efecto de los metabolitos secundarios sobre dos diferentes clones geográficos de esta especie, obteniendo tasas de crecimiento que duplicaban el valor obtenido en los controles. Los autores argumentan que las cianobacterias son carecientes en macromoléculas, ácidos grasos y fósforo, no obstante, el contenido proteico puede representar más del 70% del peso seco, apoyando como suplemento alimenticio. Sin embargo, la dominancia de géneros productores como *Planktothrix*, *Anabaenopsis* y *Microcystis* durante el periodo de lluvias causó la inhibición en el desarrollo poblacional de *B. calyciflorus*, debido al incremento en la producción de estos metabolitos, exponiendo así a los rotíferos a concentraciones  $> 4 \mu\text{g L}^{-1}$ . Zamora-Barrios et al., (2015) también mostraron que bajas concentraciones de equivalentes de microcistinas-LR en los extractos crudos ( $0.41\text{--}0.44 \mu\text{g L}^{-1}$ ) pueden llegar a tener un efecto drástico, obteniendo valores negativos de incremento demográfico ( $-0.3$  y  $0.4 \text{ d}^{-1}$ ) en los experimentos crónicos sobre *C. cornuta*. Sin embargo, las mismas concentraciones no tuvieron el mismo efecto sobre *Platyonus patulus*, aunque si resultaron ser menores a los controles, las tasas obtenidas fueron positivas ( $0.18$  a  $0.2 \text{ d}^{-1}$ ). Diversas investigaciones favorecen la hipótesis que entre los miembros del zooplancton los rotíferos son más tolerantes a las microcistinas producidas por las cianobacterias (Hansson et al., 2007). No obstante, la capacidad de crecer y desarrollar tolerancia fisiológica a las cianotoxinas producidas por las cianobacterias puede estar más relacionada a su historia de coexistencia (Ferrão-Filho y Kozlowsky-Suzuki 2011; Ramírez-García et al., 2002; Alva-Martínez et al., 2007).

La interacción zooplancton-cianobacteria favorece a aquellos organismos capaces coexistir y desarrollarse a través de estrategias que minimicen el efecto deletéreo provocado por las cianobacterias y sus toxinas (Ger et al., 2014). Existe una gran variación de las respuestas tanto interespecíficas como intraespecíficas (interclonal) entre los organismos del zooplancton hacia las cianobacterias productoras de toxinas, haciendo que las generalizaciones sobre las interacciones sean difíciles. A pesar de mostrar un efecto negativo sobre diversas variables demográficas, representando un estrés ambiental para las poblaciones, no obstante, la tasa de incremento de las poblaciones sometidas a los extractos

crudos fue positiva en todos los casos evaluados en un rango de 0.12 a 0.47 en el experimento de tabla de vida y 0.06 a 0.22 en crecimiento poblacional, coincidiendo con lo registrado por Tillmanns et al., (2008), quienes mediante un meta-análisis de las tasas de crecimiento poblacional de organismos zooplantónicos utilizados en experimentos de toxicidad crónica con cianobacterias, mostraron que a pesar de existir un decremento en comparación con el control, 15 especies de cladóceros, incluyendo a *C. dubia* mantuvieron tasa de crecimiento positivas, confirmando que las cianobacterias son un suministro deficiente con relación a una dieta única de clorófitas, y las especies más sensibles son los cladóceros de mayor tamaño (> 1mm) como, *Daphnia magna* y *Moina macrocopa* con tasas negativas de hasta  $-0.5 \text{ d}^{-1}$ . La tasa de crecimiento poblacional de *C. dubia* alimentado con dietas de algas verdes es mayor a  $0.2 \text{ d}^{-1}$  (Hurtado-Bocanegra et al., 2002; Sarma et al., 2004; Gama-Flores et al., 2007; Chen et al., 2010). Sin embargo, cuando es expuesto a dietas exclusivamente compuestas por cianobacterias productoras de cianotoxinas (*Microcystis aeruginosa*) la tasa es mucho menor ( $0.07 \text{ d}^{-1}$ ) (Alva-Martínez et al., 2007), pero si se añade alguna fuente de alimento alternativo como *Chlorella vulgaris* o *Scenedesmus obliquus* (proporciones de 50 y 75%), su éxito aumenta (Alva-Martínez et al., 2007; Zhao et al., 2014).

Diferentes factores están involucrados en el incremento de tolerancia fisiológica del zooplancton a los efectos deletéreos ocasionados por los Ciano FANs que permiten la coexistencia en los sistemas acuáticos, como el incremento en la eficiencia de los mecanismos de desintoxicación (antioxidantes), acrecentando la producción de enzimas antioxidantes (glutación-s-transferasa y catalasas) (Kozlowsky-Suzuki et al., 2009, Ferrão-Filho et al., 2017). Efectos maternos o matrotrofia, donde existe transferencia de tolerancia a través de la preexposición materna que aumenta el éxito de sus descendientes más de un 30%, confirmando que la exposición a las cianobacterias puede seleccionar rasgos mejorados de tolerancia, transferibles a las futuras generaciones (Gustafsson et al., 2005; Ostrovsky et al., 2016; Radersma et al., 2018). Detección quimio-sensorial (palatabilidad), restringiendo la ingesta de células tóxicas o cambiando el modo de alimentación de generalista a filtrador pasivo (DeMott, 1986; Snell, 1998). La interacción entre simbiosis intracelulares que proporcionan a su anfitrión capacidades metabólicas cruciales como, digestión de

polisacáridos y transformación de moléculas bioactivas (Kohl et al., 2014; Macke et al., 2017; Adamovsky et al., 2018).

Pocos trabajos han evaluado la interacción entre la temperatura y los metabolitos secundarios producidos por las cianobacterias sobre el zooplancton; sin embargo, algunas evaluaciones han obtenido una mayor susceptibilidad a diversos agentes contaminantes cuando están sujetos en simultáneo a estrés por temperatura (Snell et al., 1991; Gama-Flores et al., 2005). Este hallazgo también es apoyado en nuestras evaluaciones agudas, donde el valor de la LC<sub>50</sub> a 30°C resultó ser 41% menor que el obtenido a 18°C (5.7 y 9.74, respectivamente). Esto concuerda con lo reportado por Lamb et al., (2019), quienes obtuvieron una reducción del 18% de la supervivencia al someter al cladócero *Bosmina longirostris* a 26.3 µg L<sup>-1</sup> de microcistina-LR (concentración obtenida del LC<sub>50</sub>) con un incremento térmico de dos grados (25 y 27 °C). Igualmente, Nandini et al., (2019) mostraron que las variables de sobrevivencia y reproducción de *Brachionus calyciflorus* expuesto a extractos crudos de *Microcystis* fueron severamente alteradas a 25°C mientras que a 20°C los efectos deletéreos se ven reducidos. Probablemente el incremento térmico acelera la tasa de filtración de los organismos zooplantónicos aumentando así la concentración de extracto ingerido, como fue demostrado por Figueroa-Sánchez et al., (2019), obteniendo que la tasa de consumo del anfípodo *Hyaella azteca* alimentada con 1.0 x10<sup>6</sup> cels ml<sup>-1</sup> de *Microcystis* sp. aumentó un 35% a 30°C con respecto a una temperatura de 25°C.

### **Conclusiones**

Los extractos crudos del consorcio de cianobacterias tienen un efecto negativo sobre las características demográficas de *Ceriodaphnia dubia*, disminuyendo su capacidad de crecimiento poblacional conforme aumenta la concentración de microcistinas disueltas.

El incremento térmico agudiza el efecto toxicológico de los extractos crudos sobre la supervivencia de *Ceriodaphnia dubia*.

El aumento de la temperatura acelera la edad de madurez reproductiva de *Ceriodaphnia dubia*, y la presencia del extracto promueve un incremento de la fecundidad, como respuesta antes el estrés generado por la presencia de sustancias tóxicas disueltas (microcistinas).

# Capítulo V

## Discusión general y perspectivas a futuro



## Capítulo V

### Discusión general y perspectivas a futuro

La investigación descrita en esta tesis es basada en el interés personal de registrar las concentraciones de microcistinas-LR disueltas y acumuladas en diferentes niveles tróficos de un cuerpo de agua que prestan servicios ambientales, sociales y económicos a la población humana circúndate. Además de evaluar el efecto nocivo sobre un eslabón sensible como lo es el zooplancton a cambios en las condiciones medio ambientales. Los objetivos inicialmente son respondidos a partir de la interpretación del análisis de las interacciones bióticas a través del estudio de la estructura de la comunidad del zooplancton, y la evaluación del efecto individual de los extractos crudos sobre una especie ampliamente utilizada en bioensayos de laboratorio de toxicidad crónica y aguda.

Las comunidades biológicas están ensambladas por elementos o propiedades discretas que las conforman, tales como la composición y la diversidad específica, la abundancia relativa de las especies, patrones temporales y espaciales, y las características ecofisiológicas de las especies (Lampert y Sommer, 1997; Moss, 2018). Estas características, sin embargo, no constituyen por sí mismas, una explicación de la complejidad de los sistemas, ni dan cuenta de los factores que la estructuran. La diversidad biológica es el resultado tanto de procesos ecológicos como evolutivos ocurriendo en conjunto, por lo que, es factible enfocar el estudio de las comunidades desde tres puntos de vista: descriptivo, funcional y evolutivo. El primero de ellos corresponde a la historia natural, y consiste en describir los grupos y sus relaciones. Los estudios funcionales tratan acerca de las poblaciones y las comunidades como existen y pueden ser medidas actualmente. Por otra parte, el enfoque evolutivo considera a los organismos como productos históricos de la evolución. La ecología funcional estudia las causas inmediatas, es decir, las respuestas de las poblaciones y comunidades a factores inmediatos del medio ambiente, mientras que la evolutiva analiza las causas finales o las razones históricas por las que la selección natural ha favorecido las adaptaciones específicas que ha dado origen a los organismos que conocemos actualmente (Krebs, 2008).

Como se discute en el capítulo I, las cianobacterias poseen estrategias que les permiten competir y vencer a otros productores primarios con los mismos requerimientos tróficos, convirtiéndose en el componente dominante. La capacidad de crecimiento masivo junto con la capacidad de producir potentes tóxicos dilucida la importancia de implementar programas regulares de monitoreo de cianobacterias y cianotoxinas en ambientes de agua dulce, con el fin de minimizar los riesgos potenciales para la salud de las poblaciones animales y humanas que resultan de la exposición a través del consumo de agua y actividades recreativas. La implementación de programas de vigilancia sobre cianobacterias implica comprender la ecofisiología de las cianobacterias, la dinámica y las condiciones que promueven el florecimiento, la producción de toxinas y su impacto en la salud humana y animal.

En este contexto, podemos describir que evolutivamente la interacción entre el zooplancton y las cianobacterias está caracterizada por una respuesta defensiva ante la presión por herbívora, promoviendo cambios morfológicos o síntesis de metabolitos secundarios como las microcistinas (Ger et al., 2014). Igualmente, los organismos zooplantónicos tienen diversas adaptaciones que les permiten contrarrestar los efectos deletéreos de las cianobacterias como, restricción o disminución de la tasa de ingesta y aumento la resistencia fisiológica a través de mecanismos de desintoxicación desarrollados por la preexposición de las poblaciones (historia de coexistencia) (DeMott, 1986; Hairston et al., 1999). Este proceso adaptativo o cambio evolutivo puede ocurrir rápidamente y con consecuencias en la estructura y función del ecosistema debido al tiempo generacional tan corto de los organismos planctónicos, seleccionando a los individuos tolerantes a la presión que ejercen los Ciano FANs productores de toxinas, que incluso, pueden beneficiarse de forma directa e indirectamente de su presencia en el sistema, como vimos previamente en el capítulo II, permitiendo que las comunidades sean dominadas por herbívoros selectivos y zooplancton de talla pequeña (Wilson et al., 2006; Hansson et al., 2007; Figueroa-Sánchez et al., 2014).

Los resultados registrados en esta tesis muestran que las especies de zooplancton en Zumpango tienen funciones tróficas similares (redundancia funcional) (Ricotta et al., 2016), y que la variación de sus abundancias es en parte explicada por los cambios en las características ambientales. Sin embargo, al tener rasgos fisiológicos similares sus

requerimientos alimenticios también podrían serlo, por lo tanto, reflejarían ser competidores tróficos. Por ello, resultaría interesante explorar mediante una evaluación demográfica y alimentaria, basado en la teoría de competencia que considera las características el hábitat y los rasgos específicos de cada especie como, los requerimientos nutricionales y su tasa de consumo, y analizar si la densidad está relacionada también relacionada con la abundancia de especies del circuito microbiano y si la abundancia de ciertos grupos microbianos favorecería la dominancia de las diferentes especies micrófagas en este sistema natural.

En el caso particular del lago de Zumpango, existe un florecimiento constante, dominado durante gran parte del año por la especie *Planktothrix* cf. *agardhii*, una cianobacteria no capacitada en la fijación de nitrógeno atmosférico, pero sí de almacenar este ion intracelularmente en forma de cianoficina, proporcionando una ventaja competitiva contra los productores primarios eucariotas en condiciones limitantes (Van de Waal et al., 2011). Además, tiene la capacidad de desarrollar vesículas de gas que favorecen su posición en las capas superiores de un lago, distribuida ampliamente alrededor del mundo, especialmente en habitando sistemas con prolongados tiempos de residencia del medio con alteraciones tróficas (eutróficos e hipertróficos) polimícticos y turbios, características que claramente posee Zumpango (ver resultados en capítulo II) (Carey et al., 2012). El género *Planktothrix* es productor de microcistinas LR y RR; sin embargo, se han aislado un gran número de péptidos con potencial de inhibir serinas y proteasas como, aeruginosinas, agardhipeptinas, quimotripsina, microviridinas, oscillatorina, planctociclina, etc. (Kurmayer et al., 2016). *Planktothrix agardhii* es una especie que destaca por su manera eficiente de captación de luz debido a su capacidad de crecer con éxito en condiciones limitadas, ajustando su composición de pigmentos accesorios de manera efectiva en respuesta a la irradiación ambiental (Mantzouki et al., 2016). En nuestra investigación su abundancia esta positivamente correlacionada con la concentración de fosfatos en el sistema, tendiendo a incrementar juntos ( $P > 0.05$ , correlación de Pearson). El control de la concentración de nutrientes podría disminuir su abundancia en el sistema, un tema que se discute más adelante.

Por otro lado, la proliferación de *Microcystis aeruginosa* mostró un patrón de incremento en su abundancia asociada negativamente a cambios en la concentración de bicarbonatos y

positivamente con el incremento de pH ( $P > 0.05$ , correlación de Pearson), indicando que la disminución en la concentración de esta sal fue acompañada por aumentos en las densidades de *Microcystis aeruginosa* en el lago. Yu et al., (2014) observaron la misma dinámica poblacional, en especial aquellos genotipos productores de microcistinas se correlacionaron negativamente con las concentraciones de carbono inorgánico disuelto. Los hallazgos favorecen la hipótesis, condiciones bajas de CO<sub>2</sub>, particularmente en un lago eutrófico (sin limitación de nitrógeno y fósforo), pueden favorecer el crecimiento masivo de *Microcystis*, debido a la gran flexibilidad fisiológica, este género pueden usar bicarbonato como fuente de carbono cuando la disponibilidad de CO<sub>2</sub> es limitada ya que posee sistemas de concentración de carbono inorgánico que les confieren un eficiente consumo de CO<sub>2</sub> y bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-1</sup>) (Raven et al., 2012; Huisman et al., 2018). Aunque bajo limitada concentración de CO<sub>2</sub> (100 ppm), *Microcystis* fue competitivamente inferior a las algas verdes, su competitividad aumenta a una concentración de 2000 ppm (Ji et al., 2017). Existen hipótesis que argumenta la función de las microcistinas en uso como moléculas de almacenamiento de nutrientes, permitiendo que las cianobacterias recuperen nitrógeno y carbono en condiciones limitadas de nutrientes (Briand et al., 2008). Resultaría interesante profundizar un poco más esta relación y evaluar la abundancia y proporción de genotipos productores de microcistinas y sus concentraciones, e indagar su relación con las variables ambientales en especial con la concentración de carbono (CO<sub>2</sub>/HCO<sub>3</sub><sup>-1</sup>/CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>), buscando que los cambios en las concentraciones de carbono inorgánico pueden disminuir la abundancia de *Microcystis* y las concentraciones de microcistinas como una medida de mitigación.

La mayor densidad de *Microcystis aeruginosa* esta correlacionada positivamente con la máxima concentración de microcistinas, una perturbación presentada en el mes de octubre que alteró la diversidad de especies y la estructura de la comunidad zooplancton. Además, promovió la acumulación de altas concentración de microcistinas en diferentes niveles tróficos, destacando que las mayores concentraciones acumuladas están asociadas con la disminución en las abundancias totales de los organismos zooplantónicos, y con las mayores concentraciones registradas en órganos comestibles sobrepasando los límites establecidos por la OMS y la EPA. Al mismo tiempo de dilucidar que, la acumulación en peces es dependiente de su modo de alimentación. La mayoría de los efectos de intoxicación en



humanos por cianotoxinas suelen ser por una intoxicación aguda por consumo de agua (Churro et al., 2012); sin embargo, a pesar de que gran parte del año existe baja producción de microcistinas-LR, las concentraciones producidas por florecimiento de octubre con concentraciones totales de hasta  $\sim 80 \mu\text{g L}^{-1}$  y resultando 2.0 veces más alto que el valor el valor de Consumo Tolerable Diario de  $0.04 \mu\text{g/Kg/d}$  para productos expuestos a microcistinas-LR. De acuerdo con la OMS (2003) se deberían tomar acciones inmediatas para evitar el contacto con el Ciano FAN como, colocar letreros que indiquen un alto riesgo de contacto con el agua y prohibición de las actividades recreativas (ver tabla 5.1). De ahí la importancia de monitorear constantemente el florecimiento presente en el lago de Zumpango.

Nivel guía o riesgo	Situación de orientación	Riesgos a la salud humana	Acciones recomendadas
Bajo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>&lt;20,000</math> de células de cianoprocariontes por <math>\text{mL}^{-1}</math></li> <li>• <math>&lt;10 \mu\text{g L}^{-1}</math> clorofila-<i>a</i> con dominio de cianobacterias</li> <li>• <math>&lt;2.5 \text{mm}^3 \text{L}^{-1}</math> biomasa cianobacteriana</li> <li>• <math>4 -10 \mu\text{g L}^{-1}</math> de microcistinas-LR</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Poca probabilidad de efectos adversos sobre la salud</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Continuar monitoreando</li> </ul>
Moderado	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>20,000 - 100,000</math> de células de cianoprocariontes por <math>\text{mL}^{-1}</math></li> <li>• <math>10 - 50 \mu\text{g L}^{-1}</math> clorofila-<i>a</i> con dominio de cianobacterias</li> <li>• <math>2.5 - 12.5 \text{mm}^3 \text{L}^{-1}</math> biomasa cianobacteriana</li> <li>• <math>10-20 \mu\text{g L}^{-1}</math> de microcistinas-LR</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Probabilidad de efectos adversos sobre la salud a corto plazo, como irritaciones en la piel y enfermedades gastrointestinales.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colocar carteles para indicar el nivel de alerta MODERADO, indicando mayor riesgo para la salud al nadar o al realizar actividades que impliquen contacto con el agua</li> </ul>
Alto	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>&gt; 100,000</math> de células de cianoprocariontes por <math>\text{mL}^{-1}</math></li> <li>• <math>&gt; 50 \mu\text{g L}^{-1}</math> clorofila-<i>a</i> con dominio de cianobacterias</li> <li>• <math>&gt; 12.5 \text{mm}^3 \text{L}^{-1}</math> biomasa cianobacteriana</li> <li>• <math>&gt;20 \mu\text{g L}^{-1}</math> de microcistinas-LR</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Efectos adversos sobre la salud humana a corto plazo, como irritaciones de la piel o enfermedades gastrointestinales después de contacto o ingestión accidental. Es posible que se produzca una intoxicación aguda grave en los peores casos de ingestión.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acción inmediata para prevenir el contacto con el florecimiento</li> <li>• Colocar carteles para indicar el nivel de alerta ALTO nivel de alerta: advertencia de peligro para nadar y otras actividades que impliquen contacto con el agua.</li> <li>• Informar a las autoridades pertinentes</li> <li>• Investigación de seguimiento sobre la salud pública</li> </ul>

Tabla.5.1. Directrices para la práctica segura en la gestión de las aguas recreativas (modificado de OMS, 2003; Chorus y Bartram, 1999 y Churro et al., 2012).

Los metabolitos activos de una serie de especies marinas de dinoflagelados y diatomeas formadoras de florecimientos se acumulan en las redes alimentarias marinas, y se han relacionado con la contaminación de mariscos, y por consiguiente la intoxicación en seres humanos (Townhill et al., 2018). En comparación con las biotoxinas marinas, la acumulación de cianotoxinas en las redes alimentarias, y su relevancia para la salud humana y ambiental, ha sido menos estudiada. Probablemente porque hay pocos registros de intoxicaciones agudas a través del consumo de cianotoxinas acumuladas. También puede deberse a que existe una menor pesca comercial en hábitats de agua dulce en comparación con la pesca marina, por lo tanto, el consumo de mariscos de agua dulce también es menor (Berry et al., 2013). Independientemente del enfoque limitado de la acumulación de cianotoxinas en mariscos de agua dulce, un creciente conocimiento, respalda, la aparición de cianotoxinas en diversos niveles tróficos, incluidas especies utilizadas en acuicultura (Sotton et al., 2014; Greer et al., 2017), implicando un riesgo potencial de exposición humana como se discutió en el capítulo III. Además, varios estudios, incluyendo esta tesis, sugieren que las concentraciones halladas son suficientes para promover efectos crónicos y agudos sobre la salud humana en especial en aquellos meses con alta producción (Magalhães et al., 2001; Berry et al., 2010; Berry et al., 2011). En adición, existen evidencia de cianotoxinas ingresando a la cadena alimentaria a través de la absorción y acumulación en cultivos agrícolas (Corbel et al., 2014), una vía no considerada aún en nuestro país. Por lo tanto, surgen preguntas sobre la importancia de evaluar el riesgo para la salud por consumo de productos agrícolas provenientes de cultivos irrigados de fuentes con presencia de Ciano FANs tóxicos.

La mejor manera de reducir las concentraciones de cianotoxinas disueltas, particuladas y acumuladas en los productos provenientes de sistemas con Ciano FANs, y disminuir el riesgo de ingesta por los comensales es precisamente controlar los florecimientos. A pesar de que durante siglos ha sido registrada la presencia de cianobacterias, es sabido que la frecuencia y abundancia de estos eventos han aumentado como consecuencia de la eutrofización antropogénica. El control de la eutrofización es el enfoque más sostenible para combatir las cianobacterias, se han considerado al menos tres estrategias para disminuir las condiciones eutróficas de un sistema. La metodología química incluye la aireación artificial y la floculación o precipitación de nutrientes mediante la adición de sales de aluminio y calcio o

mediante productos comerciales como el Phoslock (arcilla bentonita) (Visser et al., 2016). La técnica física se basa en disminuir el tiempo de residencia del agua y remoción de sedimentos (dragado) ricos en nutrientes (Wang et al., 2018; Waajen et al., 2018).

Dentro de los paradigmas más respetados en ecología acuática se encuentra la manipulación de la cascada trófica mediante el control descendente (*top-down*) (Carpenter et al., 1987; Lampert y Sommer, 2007), este uno de los procesos de regulación más utilizados en sistemas templados donde se ha evaluado el efecto de la remoción de peces planctívoros, disminuyendo la depredación y permitiendo la recuperación de las poblaciones de herbívoros filtradores con la capacidad de consumir una amplia gama de productores primarios incluyendo cianobacterias (Triest et al., 2015). No obstante, diversas evaluaciones demostraron la baja eficacia del control descendente en ecosistemas acuáticos con densos Ciano FANs (Gliwicz, 1990; Dickman et al., 2008; Rondel et al., 2008; Lacerot et al., 2013). Incluso, sugiriendo que el zooplancton facilita el dominio de las cianobacterias mediante la eliminación de competidores eucariotas (Lynch y Shapiro, 1981; Mitra y Flynn, 2006; Ger et al., 2018). Por otro lado, en sistemas con un fuerte vínculo entre los productores primarios y el zooplancton ha sido catalogado como un éxito (Havens et al., 1996, Jeppesen et al., 2012, Urrutia-Cordero et al., 2015). Los cladóceros como *Daphnia magna* son considerados eficientes modelos en el control de cianobacterias debido a sus hábitos alimenticios generalistas; sin embargo, es una especie restringida a zonas con clima templado. Figueroa-Sánchez et al., (2019) demostró que los crustáceos *Simocephalus mixtus* y *Hyaella azteca* tienen la capacidad de consumir células de *Microcystis* sp. con tasas de alimentación superiores inclusive a las obtenidas con un productor primario eucarionte (*Chorella vulgaris*), sugiriendo que ambas especies podrían usarse en el control de cianoprocariontes en combinación con la disminución de depredación (remoción de peces zooplanctívoros). De acuerdo con los hallazgos obtenidos aquí, las especies *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia laevis*, ampliamente distribuidas en climas tropicales y subtropicales, tienen una gran tolerancia a las microcistinas como se discute en los capítulos II y IV; sería interesante evaluar si ambas podrían usarse en el control biológico de cianobacterias (unicelulares, coloniales y filamentosas) mediante su máxima capacidad de consumo a través de las tasas de filtración

con relación a la abundancia de cianobacterias y la concentración de microcistinas u otros metabolitos secundarios.

Finalmente, los casos de éxito en la restauración de lagos con problemas por Ciano FANs ponen de manifiesto la importancia en la determinación de las causas subyacentes de la mala calidad del agua y la resolución a través de la combinación de metodologías con el fin de controlar la carga externa e interna de nutrientes (Lurling y Oosterhout, 2013; Ibeling et al., 2016; Lürling et al., 2017). Waajen et al., (2018) demostraron que la reducción de fósforo de 0.30 a 0.11 mg L<sup>-1</sup>, se debió a los cambios, en el lago Klein (Holanda), que incluyeron la remoción de peces (*Cyprinus carpio*), disminuyendo así, la depredación de sobre herbívoros filtradores, resuspensión de sedimentos que decrementa la turbidez y favorece el establecimiento macrófitas que compiten por los recursos limitantes con los productores primarios. Dragado con adición de sedimentos con arena combinamos el fijador de fósforo (Phoslock) y floculante compuesto de cloruro de aluminio. El diagnóstico del lago de Zumpango es claro, resultaría vital un monitoreo constante y conocer la carga de nutrientes que entra de forma puntual y a través del canal que alimenta el sistema, tan sólo, para comenzar a proponer estrategias que permitan la disminución de nutrientes para comenzar a solucionar la densidad del consorcio de cianobacterias productoras de cianotoxinas, no obstante, requiere la colaboración y aplicación del conocimiento científico de diversas áreas.

## Literatura Citada

- Abreu, V. A., Popin, R. V., Alvarenga, D. O., Schaker, P. D., Hoff-Rissetti, C., Varani, A. M., & Fiore, M. F. (2018). Genomic and genotypic characterization of *Cylindrospermopsis raciborskii*: toward an intraspecific phylogenetic evaluation by comparative genomics. *Frontiers in microbiology*, 9, 306.
- Adámek, Z., & Maršálek, B. (2013). Bioturbation of sediments by benthic macroinvertebrates and fish and its implication for pond ecosystems: a review. *Aquaculture International*, 21(1), 1-17.
- Adamovský, O., Buerger, A. N., Wormington, A. M., Ector, N., Griffith, R. J., Bisesi Jr, J. H., & Martyniuk, C. J. (2018). The gut microbiome and aquatic toxicology: An emerging concept for environmental health. *Environmental toxicology and chemistry*, 37(11), 2758-2775.
- Adamovský, O., Kopp, R., Hilscherová, K., Babica, P., Palíková, M., Pašková, V., & Bláha, L. (2007). Microcystin kinetics (bioaccumulation and elimination) and biochemical responses in common carp (*Cyprinus carpio*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) exposed to toxic cyanobacterial blooms. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 26(12), 2687-2693.
- Alcocer, J. D., Fatjo, G. V., Fuentes, O. A. E., Falcón, L. I., Valdespino, P. M., Hiriart, M. M., & Verplancken, H. R. N. (2015). Reporte Mexicano de Cambio Climático GRUPO II Impactos, vulnerabilidad y adaptación.
- Alcocer, J., & Bernal-Brooks, F. W. (2010). Limnology in Mexico. *Hydrobiologia*, 644(1), 1-54.
- Alcocer, J., & Bernal-Brooks, F. W. (2019). Physical and Chemical Characterization of Inland Waters. In *Mexican Aquatic Environments* (pp. 1-41). Springer, Cham.
- Alcocer, J., A. Lugo, G. Vilaclara, Ma. Sánchez y M. Chávez. (2007). Lagos de Chapultepec, Ciudad de México. Pp. 114-124. En: De la Lanza, G. y Hernández, P. 2007. Las aguas interiores de México: conceptos y casos. AGT editor.
- Alcocer, J., Kato, E., Robles, E., & Vilaclara, G. (1988). Estudio preliminar del efecto del dragado sobre el estado trófico del Lago Viejo de Chapultepec. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 4(1), 43-56.
- Alillo-Sánchez, J. L., Gaytán-Herrera, M. L., Martínez-Almeida, V. M., & Ramírez-García, P. (2014). Microcystin-LR equivalents and their correlation with *Anabaena* spp. in the main reservoir of a hydraulic system of Central Mexico. *Inland Waters*, 4(3), 327-336.
- Allan, J. D. (1976). Life history patterns in zooplankton. *The American Naturalist*, 110(971), 165-180.
- Allen, A. A. (1968). Morphology of the planktonic rotifer *Polyarthra vulgaris*. *Transactions of the American Microscopical Society*, 60-69.
- Alva-Martínez, A. A., Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2007). Population dynamics of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis* (Rotifera) on mixed diets with *Microcystis aeruginosa* and green algae. *Hidrobiológica*, 17(Su1), 59-67.
- Alva-Martínez, A. F., Fernández, R., Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2009). Effect of mixed toxic diets (*Microcystis* and *Chlorella*) on the rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis* cultured alone and together. *Limnologica*, 39(4), 302-305.
- Alva-Martínez, A. F., Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2007). Effect of mixed diets (cyanobacteria and green algae) on the population growth of the cladocerans *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa*. *Aquatic Ecology*, 41(4), 579-585.
- Anagnostidis, K., & Komárek, J. (1985). Modern approach to the classification system of cyanophytes. 1-Introduction. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 291-302.
- Anagnostidis, K., & Komárek, J. (1988). Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3-Oscillatoriales. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 327-472.
- Anagnostidis, K., & Komárek, J. (1990). Modern approach to the classification system of Cyanophytes 5-Stigonematales. *Archiv für Hydrobiologie. Supplementband. Monographische Beiträge*, 86, 1-73.
- Anderson, D. H., & Benke, A. C. (1994). Growth and reproduction of the cladoceran *Ceriodaphnia dubia* from a forested floodplain swamp. *Limnology and Oceanography*, 39(7), 1517-1527.
- Anderson, T. R. (2005). Plankton functional type modelling: running before we can walk?. *Journal of plankton research*, 27(11), 1073-1081.

- Antunes, J. T., Leão, P. N., & Vasconcelos, V. M. (2015). *Cylindrospermopsis raciborskii*: review of the distribution, phylogeography, and ecophysiology of a global invasive species. *Frontiers in Microbiology*, 6, 473.
- APHA, A. (1994). WCF. Standard Method for Examination of Water and Waste Water, 18th edn. Washington DC, USA.
- APHA, A. (1998). Wpcf. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20.
- Arango-Galván, C., Torre-González, B. D. L., Chávez-Segura, R. E., Tejero-Andrade, A., Cifuentes-Nava, G., & Hernández-Quintero, E. (2011). Structural pattern of subsidence in an urban area of the southeastern Mexico Basin inferred from electrical resistivity tomography. *Geofísica internacional*, 50(4), 401-409.
- Arredondo, F. J. L., Diaz, Z. G., & Ponce-Palafox, J. T. (2007). *Limnología de presas mexicanas, aspectos teóricos y prácticos*. AGT Editor, 1, 3-19.
- Arzate-Cárdenas, M. A., Olvera-Ramirez, R., & Martinez-Jeronimo, F. (2010). *Microcystis* toxigenic strains in urban lakes: a case of study in Mexico City. *Ecotoxicology*, 19(6), 1157-1165.
- Azevedo, S. M., Carmichael, W. W., Jochimsen, E. M., Rinehart, K. L., Lau, S., Shaw, G. R., & Eaglesham, G. K. (2002). Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru—Brazil. *Toxicology*, 181, 441-446.
- B-Béres V, Grigorszky I, Vasas G, Borics G, Varbiro G, Nagy SA, Borbely G, Bacsí I (2012) The effects of *Microcystis aeruginosa* (cyanobacterium) on *Cryptomonas ovata* (Cryptophyta) in laboratory cultures: why these organisms do not coexist in steady-state assemblages? *Hydrobiologia* 691:97–107
- Bednarska, A., Pietrzak, B., & Pijanowska, J. (2014). Effect of poor manageability and low nutritional value of cyanobacteria on *Daphnia magna* life history performance. *Journal of Plankton Research*, 36(3), 838-847.
- Bellinger, E. G., & Sigeo, D. C. (2015). *Freshwater algae: identification, enumeration and use as bioindicators*. John Wiley & Sons.
- Berger, S. A., Diehl, S., Stibor, H., Trommer, G., Ruhlenstroth, M., Wild, A., & Striebel, M. (2007). Water temperature and mixing depth affect timing and magnitude of events during spring succession of the plankton. *Oecologia*, 150(4), 643-654.
- Bergman, B., Sandh, G., Lin, S., Larsson, J., & Carpenter, E. J. (2013). *Trichodesmium*—a widespread marine cyanobacterium with unusual nitrogen fixation properties. *FEMS microbiology reviews*, 37(3), 286-302.
- Berman-Frank, I., Quigg, A., Finkel, Z. V., Irwin, A. J., & Haramaty, L. (2007). Nitrogen-fixation strategies and Fe requirements in cyanobacteria. *Limnology and Oceanography*, 52(5), 2260-2269.
- Berry, J. P. (2013). Cyanobacterial toxins in food-webs: implications for human and environmental health. In *Current topics in public health*. IntechOpen.
- Berry, J. P., & Lind, O. (2010). First evidence of “paralytic shellfish toxins” and cylindrospermopsin in a Mexican freshwater system, Lago Catemaco, and apparent bioaccumulation of the toxins in “tegogolo” snails (*Pomacea patula catemacensis*). *Toxicon*, 55(5), 930-938.
- Berry, J. P., Jaja-Chimedza, A., Dávalos-Lind, L., & Lind, O. (2012). Apparent bioaccumulation of cylindrospermopsin and paralytic shellfish toxins by finfish in Lake Catemaco (Veracruz, Mexico). *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(2), 314-321.
- Berry, J. P., Lee, E., Walton, K., Wilson, A. E., & Bernal-Brooks, F. (2011). Bioaccumulation of microcystins by fish associated with a persistent cyanobacterial bloom in Lago de Patzcuaro (Michoacan, Mexico). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(7), 1621-1628.
- Bláha, L., Cameán, A. M., Fessard, V., Gutiérrez-Praena, D., Jos, Á., Marie, B., & Vasas, G. (2017). Bioassay use in the field of toxic cyanobacteria. In *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis* (pp. 272-279). John Wiley & Sons Chichester, UK.
- Borowitzka, M. A., & Borowitzka, L. J. (1988). *Micro-algal biotechnology*. Cambridge University Press.

- Bouaïcha, N., Miles, C. O., Beach, D. G., Labidi, Z., Djabri, A., Benayache, N. Y., & Nguyen-Quang, T. (2019). Structural diversity, characterization and toxicology of microcystins. *Toxins*, 11(12), 714.
- Brandão, L. P. M., Fajardo, T., Eskinazi-Sant'Anna, E., Brito, S., & Maia-Barbosa, P. (2012). Fluctuations of the population of *Daphnia laevis* Birge 1878: a six-year study in a tropical lake. *Brazilian Journal of Biology*, 72(3), 479-487.
- Briand, E., Yéprémian, C., Humbert, J. F., & Quiblier, C. (2008). Competition between microcystin- and non-microcystin-producing *Planktothrix agardhii* (cyanobacteria) strains under different environmental conditions. *Environmental microbiology*, 10(12), 3337-3348.
- Brinkman, D. L., & Bourne, D. G. (2013). Microcystinase. In *Handbook of Proteolytic Enzymes* (pp. 1726-1731). Academic Press.
- Brönmark, C. y L. A. Hansson. 2012. *Chemical ecology in aquatic systems*. Oxford. USA.
- Bui, T., Dao, T. S., Vo, T. G., & Lüring, M. (2018). Warming affects growth rates and microcystin production in tropical bloom-forming *Microcystis* strains. *Toxins*, 10(3), 123.
- Bulgakov, N. G., & Levich, A. P. (1999). The nitrogen: phosphorus ratio as a factor regulating phytoplankton community structure. *Archiv für hydrobiologie*, 3-22.
- Bumke-Vogt, C., Mailahn, W., & Chorus, I. (1999). Anatoxin-a and neurotoxic cyanobacteria in German lakes and reservoirs. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 14(1), 117-125.
- Burns, C. W. (1968). The relationship between body size of filter-feeding Cladocera and the maximum size of particle ingested. *Limnology and Oceanography*, 13(4), 675-678.
- Caballero, M., Vázquez, G., Ortega, B., Favila, M. E., & Lozano-García, S. (2016). Responses to a warming trend and “El Niño” events in a tropical lake in western México. *Aquatic Sciences*, 78(3), 591-604.
- Calandrino, E. S., & Paerl, H. W. (2011). Determining the potential for the proliferation of the harmful cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in Currituck Sound, North Carolina. *Harmful Algae*, 11, 1-9.
- Campos, A., & Vasconcelos, V. (2010). Molecular mechanisms of microcystin toxicity in animal cells. *International journal of molecular sciences*, 11(1), 268-287.
- Canul, S. I. Y. (2016). *Calidad de agua y su impacto en la salud pública de Zumpango de Ocampo, Estado de México (tesis de licenciatura)*. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
- Cardoso-Mohedano, J. G., Sanchez-Cabeza, J. A., Ruiz-Fernández, A. C., Pérez-Bernal, L. H., Lima-Rego, J., & Giralt, S. (2019). Fast deep water warming of a subtropical crater lake. *Science of The Total Environment*, 691, 1353-1361.
- Carey, C. C., Ibelings, B. W., Hoffmann, E. P., Hamilton, D. P., & Brookes, J. D. (2012). Ecophysiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water research*, 46(5), 1394-1407.
- Carmichael, W. (2008). A world overview—One-hundred-twenty-seven years of research on toxic cyanobacteria—Where do we go from here?. In *Cyanobacterial harmful algal blooms: State of the science and research needs* (pp. 105-125). Springer, New York, NY.
- Carmichael, W. W. (2001). Health effects of toxin-producing cyanobacteria: “The CyanoHABs”. *Human and ecological risk assessment: An International Journal*, 7(5), 1393-1407.
- Carmichael, W. W., Azevedo, S. M., An, J. S., Molica, R. J., Jochimsen, E. M., Lau, S., & Eaglesham, G. K. (2001). Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental health perspectives*, 109(7), 663-668.
- Carmona-Ruiz J A. (2015) *Análisis de la diversidad y dinámica poblacional del zooplancton en el lago Nabor Carrillo, Texcoco, Estado de México (tesis de maestría)*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Carpenter, S. R., & Kitchell, J. F. (1988). Consumer control of lake productivity. *BioScience*, 38(11), 764-769.
- Carpenter, S. R., Kitchell, J. F., Hodgson, J. R., Cochran, P. A., Elser, J. J., Elser, M. M., ... & von Ende, C. (1987). Regulation of lake primary productivity by food web structure. *Ecology*, 68(6), 1863-1876.

- Case, T. J. (1999). Illustrated guide to theoretical ecology. *Ecology*, 80(8), 2848-2848.
- Castle, J. W., & Rodgers, J. H. (2009). Hypothesis for the role of toxin-producing algae in Phanerozoic mass extinctions based on evidence from the geologic record and modern environments. *Environmental Geosciences*, 16(1), 1-23.
- Castro, D., Vera, D., Lagos, N., Garcia, C., & Vásquez, M. (2004). The effect of temperature on growth and production of paralytic shellfish poisoning toxins by the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* C10. *Toxicon*, 44(5), 483-489.
- Catherine, A., Bernard, C., Spooof, L., & Bruno, M. (2017). Microcystins and nodularins. *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*; Meriluoto, J., Spooof, L., Codd, J., Eds, 109-126.
- Cerasino, L., Meriluoto, J., Bláha, L., Carmeli, S., Kaloudis, T., & Mazur-Marzec, H. (2016). Extraction of cyanotoxins from cyanobacterial biomass. *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, 350-353.
- Chapra, S. C., Boehlert, B., Fant, C., Bierman Jr, V. J., Henderson, J., Mills, D., & Strzepek, K. M. (2017). Climate change impacts on harmful algal blooms in US freshwaters: a screening-level assessment. *Environmental Science & Technology*, 51(16), 8933-8943.
- Chen, F., Dai, X., Shu, T., Gulati, R. D., & Liu, Z. (2013). Microcystins derived from lysing *Microcystis* cells do not cause negative effects on crustacean zooplankton in Lake Taihu, China. *Aquatic Ecology*, 47(4), 379-387.
- Chen, W., Song, L., Ou, D., & Gan, N. (2005). Chronic toxicity and responses of several important enzymes in *Daphnia magna* on exposure to sublethal microcystin-LR. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 20(3), 323-330.
- Chen, X. D., Culbert, E., Hebert, V., & Stark, J. D. (2010). Mixture effects of the nonylphenyl polyethoxylate, R-11 and the insecticide, imidacloprid on population growth rate and other parameters of the crustacean, *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(2), 132-137.
- Chen, Y., Wang, J., Wang, Y., & Yu, S. (2002). Toxicity and population growth effects of microcystin on the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Zhongguo Huanjing Kexue*, 22(3), 198-201.
- Chien, Y. C., Wu, S. C., Chen, W. C., & Chou, C. C. (2013). Model simulation of diurnal vertical migration patterns of different-sized colonies of *Microcystis* employing a particle trajectory approach. *Environmental engineering science*, 30(4), 179-186.
- Chorus, I., & Bartram, J. (Eds.). (1999). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. CRC Press.
- Chu, F. S., Huang, X., & Wei, R. D. (1990). Enzyme-linked immunosorbent assay for microcystins in blue-green algal blooms. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 73(3), 451-456.
- Churro, C., Dias, E., & Valério, E. (2012). Risk assessment of cyanobacteria and cyanotoxins, the particularities and challenges of *Planktothrix* spp. monitoring. In *Novel approaches and their applications in risk assessment*. IntechOpen.
- Cirés, G S. (2012) *Ecofisiología, ciclos de vida anual y cianotoxinas de las cianobacterias planctónicas Anabaena, Aphanizomenon y Microcystis en embalses españoles (tesis de doctorado)*. Universidad Autónoma de Madrid, España.
- Cirés, S., Wörmer, L., Agha, R., & Quesada, A. (2013). Overwintering populations of *Anabaena*, *Aphanizomenon* and *Microcystis* as potential inocula for summer blooms. *Journal of Plankton Research*, 35(6), 1254-1266.
- Clesceri, L. S. Greenerg, A. E & Eaton, A.D (1999). *Standar Methods for Examination of Water and Wastewater*. Edición 20. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Cline, J. M., East, T. L., & Threlkeld, S. T. (1994). Fish interactions with the sediment-water interface. In *Nutrient dynamics and biological structure in shallow freshwater and brackish lakes* (pp. 301-311). Springer, Dordrecht.
- Codd, G. A., Metcalf, J. S., Ward, C. J., Beattie, K. A., Bell, S. G., Kaya, K., & Poon, G. K. (2001). Analysis of cyanobacterial toxins by physicochemical and biochemical methods. *Journal of AOAC International*, 84(5), 1626-1635.



- Codd, G. A., Morrison, L. F., & Metcalf, J. S. (2005). Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicology and applied pharmacology*, 203(3), 264-272.
- Coles, J. F., & Jones, R. C. (2000). Effect of temperature on photosynthesis-light response and growth of four phytoplankton species isolated from a tidal freshwater river. *Journal of Phycology*, 36(1), 7-16.
- Comisión Federal para la Protección Contra riesgos Sanitarios (Cofepris) (2004) Plan de comunicación de riesgos proliferación de algas nocivas (FAN) (marea roja). Comisión de fomento sanitario, secretaría de salud, México.
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, 2016. Consumo per capita anual de pescados y mariscos llega a 12 Kg. CONAPESCA. <https://www.gob.mx/conapesca/prensa/consumo-per-capita-anual-de-pescados-y-mariscos-llega-a-12-kg-conapesca>. (Revisado el 18 agosto de 2018).
- Comisión Nacional de Mejora Regulatoria (COFEMER) (2017) consultado el 24 de septiembre de 2019: [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5581179&fecha=06/12/2019](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5581179&fecha=06/12/2019)
- Comisión Nacional Del Agua (CONAGUA) (2003) Estudio limnológico en la Laguna de Zumpango, Estado de México. Bajo contrato # GAVM-GT-MEX-03063-RF-LP.
- Corbel, S., Mougin, C., & Bouaïcha, N. (2014). Cyanobacterial toxins: modes of actions, fate in aquatic and soil ecosystems, phytotoxicity and bioaccumulation in agricultural crops. *Chemosphere*, 96, 1-15.
- Costa, M. L., Rodrigues, J. A., Azevedo, J., Vasconcelos, V., Eiras, E., & Campos, M. G. (2018). Hepatotoxicity induced by paclitaxel interaction with turmeric in association with a microcystin from a contaminated dietary supplement. *Toxicol*, 150, 207-211.
- Cowgill, U. M., Takahashi, I. T., & Applegath, S. L. (1985). A comparison of the effect of four benchmark chemicals on *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia-affinis* tested at two different temperatures. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 4(3), 415-422.
- Dahms, H. U., Hagiwara, A., & Lee, J. S. (2011). Ecotoxicology, ecophysiology, and mechanistic studies with rotifers. *Aquatic toxicology*, 101(1), 1-12.
- Dai, R., Wang, P., Jia, P., Zhang, Y., Chu, X., & Wang, Y. (2016). A review on factors affecting microcystins production by algae in aquatic environments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(3), 51.
- Dao, T. S., Do-Hong, L. C., & Wiegand, C. (2010). Chronic effects of cyanobacterial toxins on *Daphnia magna* and their offspring. *Toxicol*, 55(7), 1244-1254.
- Davis, T. W., Berry, D. L., Boyer, G. L., & Gobler, C. J. (2009). The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful algae*, 8(5), 715-725.
- De Bernardi, R. D., & Giussani, G. (1990). Are blue-green algae a suitable food for zooplankton? An overview. *Hydrobiologia*, 200(1), 29-41.
- De Bernardi, R. D., Giussani, G., & Pedretti, E. L. (1981). The significance of blue-green algae as food for filterfeeding zooplankton: experimental studies on *Daphnia* spp. fed by *Microcystis aeruginosa*: With 4 figures and 2 tables in the text. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*, 21(1), 477-483.
- De la Lanza-Espino, G. (ed.), 2007. Las aguas interiores de México: Conceptos y Casos. AGT, 2007.
- De la Lanza-Espino, G., & Calderón, J. L. G. (1995). Lagos y presas de México. Centro de Ecología y Desarrollo.
- DeMott, W. R. (1986). The role of taste in food selection by freshwater zooplankton. *Oecologia*, 69(3), 334-340.
- DeMott, W. R., Gulati, R. D., & Van Donk, E. (2001). *Daphnia* food limitation in three hypereutrophic Dutch lakes: Evidence for exclusion of large-bodied species by interfering filaments of cyanobacteria. *Limnology and oceanography*, 46(8), 2054-2060.
- DeMott, W. R., Zhang, Q. X., & Carmichael, W. W. (1991). Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. *Limnology and Oceanography*, 36(7), 1346-1357.

- Deng, D., & Xie, P. (2003). Effect of food and temperature on the growth and development of *Moina irrasa* (Cladocera: Moinidae). *Journal of Freshwater Ecology*, 18(4), 503-513.
- Deshpande, B. N., Tremblay, R., Pienitz, R., & Vincent, W. F. (2014). Sedimentary pigments as indicators of cyanobacterial dynamics in a hypereutrophic lake. *Journal of paleolimnology*, 52(3), 171-184.
- Dias, E., Pereira, P., & Franca, S. (2002). Production of paralytic shellfish toxins by *Aphanizomenon* sp. LMECYA 31 (cyanobacteria). *Journal of Phycology*, 38(4), 705-712.
- Dickman, E. M., Newell, J. M., González, M. J., & Vanni, M. J. (2008). Light, nutrients, and food-chain length constrain planktonic energy transfer efficiency across multiple trophic levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(47), 18408-18412.
- Didham, R. K., Tylianakis, J. M., Hutchison, M. A., Ewers, R. M., & Gemmill, N. J. (2005). Are invasive species the drivers of ecological change?. *Trends in ecology & evolution*, 20(9), 470-474.
- Díez-Quijada, L., Prieto, A. I., Guzmán-Guillén, R., Jos, A., & Cameán, A. M. (2019). Occurrence and toxicity of microcystin congeners other than MC-LR and MC-RR: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 125, 106-132.
- Dittrich, M., Wehrli, B., & Reichert, P. (2009). Lake sediments during the transient eutrophication period: Reactive-transport model and identifiability study. *Ecological Modelling*, 220(20), 2751-2769.
- Dodson, S. I. (2004). Introduction to limnology. *Freshwater Science*, 23(3), 661-662.
- Dolman, A. M., Rücker, J., Pick, F. R., Fastner, J., Rohrlack, T., Mischke, U., & Wiedner, C. (2012). Cyanobacteria and cyanotoxins: the influence of nitrogen versus phosphorus. *PloS one*, 7(6), e38757.
- Domínguez-Pascual, I. E. (2006). Estudio de la diversidad de Zooplankton y fitoplancton de la laguna de Zumpango (Estado de México) para su uso en biomanipulación (tesis de maestrías). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A., & Kleypas, J. A. (2009). Ocean acidification: the other CO<sub>2</sub> problem.
- Drobac, D., Tokodi, N., Lujčić, J., Marinović, Z., Subakov-Simić, G., Dulić, T., & Svirčev, Z. (2016). Cyanobacteria and cyanotoxins in fishponds and their effects on fish tissue. *Harmful Algae*, 55, 66-76.
- Drobac, D., Tokodi, N., Simeunović, J., Baltić, V., Stanić, D., & Svirčev, Z. (2013). Human exposure to cyanotoxins and their effects on health. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 64(2), 305-315.
- Dussart, B. H., & Defaye, D. (2001). Introduction to the Copepoda: Revised and Enlarged. Backhuys publishers.
- Dzul-Caamal, R., Domínguez-López, M. L., Olivares-Rubio, H. F., García-Latorre, E., & Vega-López, A. (2014). The relationship between the bioactivation and detoxification of diazinon and chlorpyrifos, and the inhibition of acetylcholinesterase activity in *Chirostoma jordani* from three lakes with low to high organophosphate pesticides contamination. *Ecotoxicology*, 23(5), 779-790.
- Ebert, D. (1993). The trade-off between offspring size and number in *Daphnia magna*: the influence of genetic, environmental and maternal effects. *Arch. Hydrobiol, suppl*, 90, 453-473.
- Edwards, C., & Lawton, L. A. (2009). Bioremediation of cyanotoxins. *Advances in Applied Microbiology*, 67, 109-129.
- Ejsmont-Karabin, J. (2012). The usefulness of zooplankton as lake ecosystem indicators: rotifer trophic state index. *Polish Journal of Ecology*, 60(2), 339-350.
- El Ghazali, I., Saqrane, S., Carvalho, A. P., Ouahid, Y., Del Campo, F. F., Vasconcelos, V., & Oudra, B. (2010). Effects of the microcystin profile of a cyanobacterial bloom on growth and toxin accumulation in common carp *Cyprinus carpio* larvae. *Journal of fish biology*, 76(6), 1415-1430.
- Elías-Gutiérrez, M., Jerónimo, F. M., Ivanova, N. V., Valdez-Moreno, M., & Hebert, P. D. (2008). DNA barcodes for Cladocera and Copepoda from Mexico and Guatemala, highlights and new discoveries. *Zootaxa*, 1839(1), 1-42.
- Elías-Gutiérrez, M., Suárez-Morales, E., Gutiérrez-Aguirre, M. A., Silva-Briano, M., Granados-Ramírez, J. G., & Garfias-Espejo, T. (2008). Cladocera y Copepoda de las aguas continentales de México. UNAM, México DF.

- Escalante-Cruz, L E. (2016) Diversidad y dinámica poblacional del zooplancton del lago sódico hipertrófico “lago Recreativo”, Texcoco, Estado de México (tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Espinoza-Rodríguez C A. (2016) Impacto de la macrófita invasora *Egeria densa* sobre la comunidad del zooplancton presente en la presa Benito Juárez (tesis de doctorado). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Falconer, I. R. (2004). Cyanobacterial toxins of drinking water supplies. CRC press.
- Falconer, I. R., Burch, M. D., Steffensen, D. A., Choice, M., & Coverdale, O. R. (1994). Toxicity of the blue-green alga (cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. *Environmental toxicology and Water quality*, 9(2), 131-139.
- Fastner, J., Flieger, I., & Neumann, U. (1998). Optimised extraction of microcystins from field samples—a comparison of different solvents and procedures. *Water Research*, 32(10), 3177-3181.
- Fawell, J. K., James, C. P., & James, H. A. (1994). Toxins from blue-green algae: toxicological assessment of microcystin-LR and a method for its determination in water. *Foundation for Water Research*.
- Feniova, I. Y., & Zilitinkevich, N. S. (2012). Dependence of demographic parameters and results of competition on temperature in cladocerans. *Russian journal of ecology*, 43(2), 131-136.
- Ferber, L. R., Levine, S. N., Lini, A., & Livingston, G. P. (2004). Do cyanobacteria dominate in eutrophic lakes because they fix atmospheric nitrogen?. *Freshwater Biology*, 49(6), 690-708.
- Fernández, R., Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2012). A comparative study on the ability of tropical micro-crustaceans to feed and grow on cyanobacterial diets. *Journal of plankton research*, 34(8), 719-731.
- Fernández, R., Nandini, S., Sarma, S. S. S., & Castellanos-Páez, M. E. (2016). Demographic responses of *Heterocypris incongruens* (Ostracoda) related to stress factors of competition, predation and food. *Journal of Limnology*, 75.
- Fernández, R., Nandini, S., Sarma, S. S. S., & Castellanos-Páez, M. E. (2014). Effects of cyanobacteria, fish kairomones, and the presence of ostracods on the demography of *Simocephalus vetulus* (Cladocera). *Invertebrate Biology*, 133(4), 371-380.
- Fernando, C. H. (Ed.). (2002). A guide to tropical freshwater zooplankton: identification, ecology and impact on fisheries. Backhuys Publishers.
- Ferrão-Filho, A. D. S., & Kozłowski-Suzuki, B. (2011). Cyanotoxins: bioaccumulation and effects on aquatic animals. *Marine drugs*, 9(12), 2729-2772.
- Ferrão-Filho, A. D. S., Kozłowski-Suzuki, B., & Azevedo, S. M. (2002). Accumulation of microcystins by a tropical zooplankton community. *Aquatic toxicology*, 59(3-4), 201-208.
- Ferrão-Filho, A., de Abreu S. Silva, D., de Oliveira, T. A., de Magalhães, V. F., Pflugmacher, S., & da Silva, E. M. (2017). Single and combined effects of microcystin-and saxitoxin-producing cyanobacteria on the fitness and antioxidant defenses of cladocerans. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(10), 2689-2697.
- Figueredo, C. C., Giani, A., & Bird, D. F. (2007). Does allelopathy contribute to *cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) bloom occurrence and geographic expansion? 1. *Journal of Phycology*, 43(2), 256-265.
- Figueroa-Sánchez, M. A., Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2014). Zooplankton community structure in the presence of low levels of cyanotoxins: a case study in a high altitude tropical reservoir (Valle de Bravo, Mexico). *Journal of Limnology*, 73(1), 157-166.
- Figueroa-Sánchez, M. A., Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2020). Zooplankton community structure in relation to microcystins in the eutrophic Lake Zumpango (State of Mexico). *Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie*, 193(3), 213-225.
- Figueroa-Sánchez, M. A., Nandini, S., Castellanos-Páez, M. E., & Sarma, S. S. S. (2019). Effect of temperature, food quality and quantity on the feeding behavior of *Simocephalus mixtus* and *Hyaella azteca*: implications for biomanipulation. *Wetlands Ecology and Management*, 27(2-3), 353-361.

- Finney, D. J. (1978). Statistical method in biology assay. London: Griffin.
- Fitzgeorge, R. B., Clark, S. A., & Keevil, C. W. (1994). Routes of intoxication. Special Publications of the Royal Society of Chemistry, 149, 69-74.
- Flores, E., & Herrero, A. (2005). Nitrogen assimilation and nitrogen control in cyanobacteria. Biochemical Society Transactions, 33(1), 164-167.
- Flores, E., & Herrero, A. (2014). The cell biology of cyanobacteria. Caister Academic Press.
- Fontanillo, M., & Köhn, M. (2018). Microcystins: Synthesis and structure–activity relationship studies toward PP1 and PP2A. Bioorganic & medicinal chemistry, 26(6), 1118-1126.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010. Fisheries and Aquaculture Department. <http://www.fao.org/fishery/species/3217/en>. (Revisado el 23 agosto de 2018).
- Foss, A. J., & Aubel, M. T. (2013). The extraction and analysis of cylindrospermopsin from human serum and urine. Toxicon, 70, 54-61.
- Fulton III, R. S., & Paerl, H. W. (1987). Toxic and inhibitory effects of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* on herbivorous zooplankton. Journal of Plankton Research, 9(5), 837-855.
- Gama-Flores, J. L., Castellanos-Paez, M. E., Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2007). Life table demography of *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera) exposed to copper at different levels and periods. Journal of environmental biology, 28(3), 691-696.
- Gama-Flores, J. L., Huidobro-Salas, M. E., Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2011). Somatic and population growth responses of *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia pulex* (Cladocera) to changes in food (*Chlorella vulgaris*) level and temperature. Journal of environmental biology, 32(4), 489.
- Gama-Flores, J. L., Huidobro-Salas, M. E., Sarma, S. S. S., Nandini, S., Zepeda-Mejia, R., & Gulati, R. D. (2015). Temperature and age affect the life history characteristics and fatty acid profiles of *Moina macrocopa* (Cladocera). Journal of thermal biology, 53, 135-142.
- Gama-Flores, J. L., Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2005). Interaction among copper toxicity, temperature and salinity on the population dynamics of *Brachionus rotundiformis* (Rotifera). Hydrobiologia, 546(1), 559-568.
- García, C. E., Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2009). Seasonal dynamics of zooplankton in Lake Huetzalin, Xochimilco (Mexico City, Mexico). Limnologia, 39(4), 283-291.
- García-García G., Sarma S.S.S., Nandini S. (2007) Combined effects of sediment and lead (PbCl<sub>2</sub>) on the demography of *Brachionus patulus* (Rotifera: Brachionidae). Hydrobiologia 593:209-218.
- García-García, G., Jiménez-Contreras, J., Vargas-Hernández, A. A., Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2017). Is Aluminum Innocuous to Zooplankton at pH Below 6?. Bulletin of environmental contamination and toxicology, 98(4), 489-495.
- García-García, G., Nandini, S., Sarma, S. S. S., Martínez-Jerónimo, F., & Jiménez-Contreras, J. (2012). Impact of chromium and aluminium pollution on the diversity of zooplankton: A case study in the Chimaliapan wetland (Ramsar site) (Lerma basin, Mexico). Journal of Environmental Science and Health, Part A, 47(4), 534-547.
- Gayosso-Morales, M. A., Nandini, S., Martínez-Jeronimo, F. F., & Sarma, S. S. S. (2017). Effect of organic and inorganic turbidity on the zooplankton community structure of a shallow waterbody in Central Mexico (Lake Xochimilco, Mexico). Journal of Environmental Biology, 38(6), 1183-1196.
- Ger, K. A., Hansson, L. A., & Lüring, M. (2014). Understanding cyanobacteria-zooplankton interactions in a more eutrophic world. Freshwater Biology, 59(9), 1783-1798.
- Ger, K. A., Naus-Wiezer, S., De Meester, L., & Lüring, M. (2019). Zooplankton grazing selectivity regulates herbivory and dominance of toxic phytoplankton over multiple prey generations. Limnology and Oceanography, 64(3), 1214-1227.
- Ger, K. A., Urrutia-Cordero, P., Frost, P. C., Hansson, L. A., Sarnelle, O., Wilson, A. E., & Lüring, M. (2016). The interaction between cyanobacteria and zooplankton in a more eutrophic world. Harmful algae, 54, 128-144.
- Ghadouani, A., Pinel-Alloul, B., Plath, K., Codd, G. A., & Lampert, W. (2004). Effects of *Microcystis aeruginosa* and purified microcystin-LR on the feeding behavior of *Daphnia pulicaria*. Limnology and Oceanography, 49(3), 666-679.

- Gilbert, J. J. (1990). Differential effects of *Anabaena affinis* on cladocerans and rotifers: mechanisms and implications. *Ecology*, 71(5), 1727-1740.
- Gliwicz, Z. M. (1990). Why do cladocerans fail to control algal blooms?. In *Bio-manipulation Tool for Water Management* (pp. 83-97). Springer, Dordrecht.
- Gliwicz, Z. M., & Lampert, W. (1990). Food thresholds in *Daphnia* species in the absence and presence of blue-green filaments. *Ecology*, 71(2), 691-702.
- Gómez, R. A. (2014). Hyperspectral optical analysis of Zumpango Lake, Mexico. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía*, 2014(84), 32-41.
- Greer, B., Meneely, J. P., & Elliott, C. T. (2018). Uptake and accumulation of Microcystin-LR based on exposure through drinking water: An animal model assessing the human health risk. *Scientific reports*, 8(1), 1-10.
- Griffiths, M. J., & Harrison, S. T. (2009). Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *Journal of applied phycology*, 21(5), 493-507.
- Guedes, I. A., Rachid, C. T., Rangel, L. M., Silva, L. H., Bisch, P. M., Azevedo, S. M., & Pacheco, A. B. (2018). Close link between harmful cyanobacterial dominance and associated bacterioplankton in a tropical eutrophic reservoir. *Frontiers in microbiology*, 9, 424.
- Gulati, R., & DeMott, W. (1997). The role of food quality for zooplankton: remarks on the state-of-the-art, perspectives and priorities. *Freshwater Biology*, 38(3), 753-768.
- Guo, N., & Xie, P. (2006). Development of tolerance against toxic *Microcystis aeruginosa* in three cladocerans and the ecological implications. *Environmental pollution*, 143(3), 513-518.
- Guo, R., Ren, X., & Ren, H. (2012). Assessment the toxic effects of dimethoate to rotifer using swimming behavior. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 89(3), 568-571.
- Gustafsson, S., Rengefors, K., & Hansson, L. A. (2005). Increased consumer fitness following transfer of toxin tolerance to offspring via maternal effects. *Ecology*, 86(10), 2561-2567.
- Gutiérrez, R. M. P., Flores, A. M., Solís, R. V., & Jimenez, J. C. (2008). Two new antibacterial norabietane diterpenoids from cyanobacteria, *Microcoleus lacustris*. *Journal of natural medicines*, 62(3), 328-331.
- Gutiérrez, S. G., Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2017). Seasonal variations of rotifers from a high altitude urban shallow water body, La Cantera Oriente (Mexico City, Mexico). *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 35(6), 1387-1397.
- Guzmán-Guillén, R., Maisanaba, S., Ortega, A. I. P., Valderrama-Fernández, R., Jos, Á., & Cameán, A. M. (2017). Changes on cylindrospermopsin concentration and characterization of decomposition products in fish muscle (*Oreochromis niloticus*) by boiling and steaming. *Food Control*, 77, 210-220.
- Guzmán-Guillén, R., Prieto, A. I., Moreno, I., Soria, M. E., & Cameán, A. M. (2011). Effects of thermal treatments during cooking, microwave oven and boiling, on the unconjugated microcystin concentration in muscle of fish (*Oreochromis niloticus*). *Food and chemical toxicology*, 49(9), 2060-2067.
- Hairston, N. G., Lampert, W., Cáceres, C. E., Holtmeier, C. L., Weider, L. J., Gaedke, U., ... & Post, D. M. (1999). Rapid evolution revealed by dormant eggs. *Nature*, 401(6752), 446-446.
- Hanazato, T., & Yasuno, M. (1988). Assimilation of *Diaphanosoma brachyurum* and *Moina macrocopa* on *Microcystis*. *Japanese Journal of Limnology (Rikusuigaku Zasshi)*, 49(1), 37-41.
- Haney, J. F., & Hall, D. J. (1973). Sugar-coated *Daphnia*: A preservation technique for Cladocera I. *Limnology and Oceanography*, 18(2), 331-333.
- Hansson, L. A., Gustafsson, S., Rengefors, K., & Bomark, L. (2007). Cyanobacterial chemical warfare affects zooplankton community composition. *Freshwater Biology*, 52(7), 1290-1301.
- Harada, K. I., & Tsuji, K. (1998). Persistence and decomposition of hepatotoxic microcystins produced by cyanobacteria in natural environment. *Journal of Toxicology: Toxin Reviews*, 17(3), 385-403.
- Harada, K. I., Tsuji, K., Watanabe, M. F., & Kondo, F. (1996). Stability of microcystins from cyanobacteria—III. Effect of pH and temperature. *Phycologia*, 35(sup6), 83-88.

- Hauser-Davis, R. A., Lavradas, R. T., Lavandier, R. C., Rojas, E. G. A., Guarino, A. W. S., & Ziolli, R. L. (2015). Accumulation and toxic effects of microcystin in tilapia (*Oreochromis niloticus*) from an eutrophic Brazilian lagoon. *Ecotoxicology and environmental safety*, 112, 132-136.
- Havel, J. E., & Shurin, J. B. (2004). Mechanisms, effects, and scales of dispersal in freshwater zooplankton. *Limnology and Oceanography*, 49(4part2), 1229-1238.
- Havens, K., East, T., & BeaveR, J. (1996). Experimental studies of zooplankton–phytoplankton–nutrient interactions in a large subtropical lake (Lake Okeechobee, Florida, USA). *Freshwater Biology*, 36(3), 579-597.
- Heinle, D. R. (1969). Temperature and zooplankton. *Chesapeake Science*, 10(3-4), 186-209.
- Hernández-Batista, A. F., Ramírez-Torrez, J. A., Mayorga-Reyes, A. A. E. L., & Monroy-Dosta, M. D. C. (2015). The genus *Chirostoma* (Actinopterygii: Atheriniformes) in Mexico: Challenge for conservation and aquaculture technology. *Int. J. of Aquatic Science*, 6(1), 67-83.
- Hietala, J., Laurén-Määttä, C., & Walls, M. (1997). Life history responses of *Daphnia* clones to toxic *Microcystis* at different food levels. *Journal of Plankton Research*, 19(7), 917-926.
- Hindák, F. (2008). Colour atlas of cyanophytes. VEDA, Publishing House of the Slovak Academy of Sciences.
- Hobson, P., & Fallowfield, H. J. (2003). Effect of irradiance, temperature and salinity on growth and toxin production by *Nodularia spumigena*. *Hydrobiologia*, 493(1-3), 7-15.
- Hoeger, S. J., Dietrich, D. R., & Hitzfeld, B. C. (2002). Effect of ozonation on the removal of cyanobacterial toxins during drinking water treatment. *Environmental Health Perspectives*, 110(11), 1127-1132.
- Hoiczuk, E., & Hansel, A. (2000). Cyanobacterial cell walls: news from an unusual prokaryotic envelope. *Journal of bacteriology*, 182(5), 1191-1199.
- Holland, A., & Kinnear, S. (2013). Interpreting the possible ecological role (s) of cyanotoxins: compounds for competitive advantage and/or physiological aide?. *Marine drugs*, 11(7), 2239-2258.
- Horne, A. J., & Galat, D. L. (1985). Nitrogen fixation in an oligotrophic, saline desert lake: Pyramid Lake, Nevada. *Limnology and oceanography*, 30(6), 1229-1239.
- Houghton, J. T. (2001). *Climate Change 2001: The Scientific Basis*.
- Huang, L., Xi, Y., Xu, X., & Wen, X. (2012). Responses in population growth and reproduction of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* to microcystin-LR at different temperatures. In *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology* (Vol. 48, No. 4, pp. 383-390). EDP Sciences.
- Hughes, E. O., Gorham, P. R., & Zehnder, A. (1958). Toxicity of a unialgal culture of *Microcystis aeruginosa*. *Canadian Journal of Microbiology*, 4(3), 225-236.
- Huisman, J. M., Matthijs, H. C. P., & Visser, P. M. (2005). *Harmful Cyanobacteria Springer Aquatic Ecology Series 3*.
- Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M., & Visser, P. M. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 471-483.
- Humbert, J. F., & Fastner, J. (2017). Ecology of cyanobacteria. *Handbook on Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, Wiley, 11-18.
- Hurtado-Bocanegra, M. D., Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2002). Combined effects of food level and inoculation density on competition between *Brachionus patulus* (Rotifera) and the cladocerans *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa*. *Hydrobiologia*, 468(1-3), 13-22.
- Hyenstrand, P., Blomqvist, P., & Pettersson, A. (1998). Factors determining cyanobacterial success in aquatic systems: a literature review. *Archiv für Hydrobiologie Spec. Iss. Advances in Limnology*, 51, 41-62.
- Ibelings, B. W., & Chorus, I. (2007). Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater “seafood” and its consequences for public health: a review. *Environmental pollution*, 150(1), 177-192.
- Ibelings, B. W., Bormans, M., Fastner, J., & Visser, P. M. (2016). CYANOCOST special issue on cyanobacterial blooms: synopsis—a critical review of the management options for their prevention, control and mitigation. *Aquatic ecology*, 50(3), 595-605.

- Ibelings, B. W., Bruning, K., De Jonge, J., Wolfstein, K., Pires, L. D., Postma, J., & Burger, T. (2005). Distribution of microcystins in a lake foodweb: no evidence for biomagnification. *Microbial Ecology*, 49(4), 487-500.
- Ibrahim, M. D., Khairy, H. M., & Ibrahim, M. A. (2012). Laboratory exposure of *Oreochromis niloticus* to crude microcystins (containing microcystin-LR) extracted from Egyptian locally isolated strain (*Microcystis aeruginosa* Kützing): biological and biochemical studies. *Fish physiology and biochemistry*, 38(3), 899-908.
- INEGI. (2009). Prontuario de información geográfica municipal de los estados unidos mexicanos. Consultado 20 de septiembre de 2018: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos>.
- Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA). (2012). Plan estratégico para la recuperación ambiental de la Laguna de Zumpango. Diagnóstico e identificación de retos, problemas, estrategias, objetivos, acciones y proyectos prioritarios.
- Jansen, M., Geerts, A. N., Rago, A., Spanier, K. I., Denis, C., De Meester, L., & Orsini, L. (2017). Thermal tolerance in the keystone species *Daphnia magna*—a candidate gene and an outlier analysis approach. *Molecular Ecology*, 26(8), 2291-2305.
- Janssen, E. M. L. (2019). Cyanobacterial peptides beyond microcystins—a review on co-occurrence, toxicity, and challenges for risk assessment. *Water Research*, 151, 488-499.
- Jáuregui, E. (2004). Impact of land-use changes on the climate of the Mexico City Region. *Investigaciones Geográficas*, 55, 46-60.
- Jeppesen, E., Søndergaard, M., Lauridsen, T. L., Davidson, T. A., Liu, Z., Mazzeo, N., & Starling, F. (2012). Biomanipulation as a restoration tool to combat eutrophication: recent advances and future challenges. In *Advances in ecological research* (Vol. 47, pp. 411-488). Academic Press.
- Jhingran, S. (1995). *Secularism in India: A Reappraisal*. Har-Anand Publications.
- Ji, X., Verspagen, J. M., Stomp, M., & Huisman, J. (2017). Competition between cyanobacteria and green algae at low versus elevated CO<sub>2</sub>: who will win, and why?. *Journal of experimental botany*, 68(14), 3815-3828.
- Jia, J., Luo, W., Lu, Y., & Giesy, J. P. (2014). Bioaccumulation of microcystins (MCs) in four fish species from Lake Taihu, China: assessment of risks to humans. *Science of the total environment*, 487, 224-232.
- Jiménez-Contreras, J., Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2018). Diversity of Rotifera (Monogononta) and egg ratio of selected taxa in the canals of Xochimilco (Mexico City). *Wetlands*, 38(5), 1033-1044.
- Jiménez-contreras, J., Sarma, S. S. S., Merino-Ibarra, M., & Nandini, S. (2009). Seasonal changes in the rotifer (Rotifera) diversity from a tropical high altitude reservoir (Valle de Bravo, Mexico). *Journal of Environmental Biology*, 30(2), 191-195.
- Jiménez-Guevara, C. D., Campos-Rodríguez, J. I., Flores-Leyva, X., & Avellaneda-Real, R. (2018). *Roseate Spoonbill* (*Platalea ajaja*) at Lake Zumpango, State of Mexico. *Huitzil. Revista Mexicana de Ornitología*, 19(1), 75-78.
- Jochimsen, E. M., Carmichael, W. W., An, J., Cardo, D. M., Cookson, S. T., Holmes, C. E., ... & Azevedo, S. M. (1998). Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *New England Journal of Medicine*, 338(13), 873-878.
- Joehnk, K. D., Huisman, J. E. F., Sharples, J., Sommeijer, B. E. N., Visser, P. M., & Stroom, J. M. (2008). Summer heatwaves promote blooms of harmful cyanobacteria. *Global change biology*, 14(3), 495-512.
- Josué, I. I., Cardoso, S. J., Miranda, M., Mucci, M., Ger, K. A., Roland, F., & Marinho, M. M. (2019). Cyanobacteria dominance drives zooplankton functional dispersion. *Hydrobiologia*, 831(1), 149-161.
- Kinnear, S. H., Duivenvoorden, L. J., & Fabbro, L. D. (2007). Growth and Bioconcentration in *Spirodela oligorrhiza* Following Exposure to *Cylindrospermopsis raciborskii* Whole Cell Extracts. *Australasian Journal of Ecotoxicology*, 13(1), 19.

- Kobos, J., Błaszczuk, A., Hohlfeld, N., Toruńska-Sitarz, A., Krakowiak, A., Hebel, A., & Messyas, B. (2013). Cyanobacteria and cyanotoxins in Polish freshwater bodies. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 42(4), 358-378.
- Kohl, K. D., Weiss, R. B., Cox, J., Dale, C., & Denise Dearing, M. (2014). Gut microbes of mammalian herbivores facilitate intake of plant toxins. *Ecology letters*, 17(10), 1238-1246.
- Kokociński, M., Akçalan, R., Salmaso, N., Stoyneva-Gärtner, M. P., & Sukenik, A. (2017). Expansion of alien and invasive cyanobacteria. *Handbook on Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, 28-39.
- Komárek, J. (1995). Current trends and species delimitation in the cyanoprokaryote taxonomy. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 11-29.
- Komárek, J. (2006). Cyanobacterial taxonomy: current problems and prospects for the integration of traditional and molecular approaches. *Algae*, 21(4), 349-375.
- Komárek, J. (2010). Recent changes (2008) in cyanobacteria taxonomy based on a combination of molecular background with phenotype and ecological consequences (genus and species concept). *Hydrobiologia*, 639(1), 245-259.
- Komárek, J. (2014). Modern classification of cyanobacteria. *Cyanobacteria: An Economic Perspective* (eds NK Sharma, AK Rai and LJ Stal), John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 21-39.
- Komárek, J., & Anagnostidis, K. (2005). Cyanoprokaryota 2. Teil/2nd part: oscillatoriales. *Susswasserflora von Mitteleuropa*, 19, 1-759.
- Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J., & Johansen, J. R. (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia*, 86(4), 295-335.
- Korovochinsky, N., & Smirnov, N. (1998). Introduction to the. Cladocera (Ctenopoda, Anomopoda, Onychopoda and Haplopoda). Supplemented for America. AN Severtsov Institute of Animal Evolutionary Morphology and Ecology of the Russian Academy of Sciences.
- Koste, W. (1978). Rotatoria. *Die Rädertiere Mitteleuropas*, 2, 234-673.
- Kozłowsky-Suzuki, B., Koski, M., Hallberg, E., Wallén, R., & Carlsson, P. (2009). Glutathione transferase activity and oocyte development in copepods exposed to toxic phytoplankton. *Harmful Algae*, 8(3), 395-406.
- Kozłowsky-Suzuki, B., Wilson, A. E., & da Silva Ferrão-Filho, A. (2012). Biomagnification or biodilution of microcystins in aquatic foodwebs? Meta-analyses of laboratory and field studies. *Harmful Algae*, 18, 47-55.
- Kraus, K. (1986). *Daphnia laevis tarasca* ssp. nov., a lake-dwelling subspecies of *Daphnia laevis* Birge, 1879 (Cladocera, Daphniidae) from Mexico. *Crustaceana*, 50(3), 225-230.
- Krebs C.J. (1985) *Ecology; the experimental analysis of distribution and abundance*, 3rd edn. Harper & Row, New York, p 592.
- Krebs, C., & Elwood, B. (2008). *The ecological world view*. Univ of California Press.
- Krztoń, W., Kosiba, J., Pocięcha, A., & Wilk-Woźniak, E. (2019). The effect of cyanobacterial blooms on bio-and functional diversity of zooplankton communities. *Biodiversity and Conservation*, 28(7), 1815-1835.
- Kurmayer, R., Deng, L., & Entfellner, E. (2016). Role of toxic and bioactive secondary metabolites in colonization and bloom formation by filamentous cyanobacteria *Planktothrix*. *Harmful algae*, 54, 69-86.
- Lacerot, G., Kruk, C., LUeRLING, M. I. Q. U. E. L., & Scheffer, M. (2013). The role of subtropical zooplankton as grazers of phytoplankton under different predation levels. *Freshwater Biology*, 58(3), 494-503.
- Laguna-Sánchez M Y. (2019) *Lagos de Chapultepec: metabolismo lacustre* (tesis maestría). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Lamb, M. C., Kimmel, D. G., & Field, E. K. (2019). The effects of temperature on *Bosmina longirostris* susceptibility to microcystin-LR acute toxicity. *PloS one*, 14(7), e0219342.
- Lambert, T. W., Holmes, C. F. B., & Hrudehy, S. E. (1994). Microcystin class of toxins: health effects and safety of drinking water supplies. *Environmental Reviews*, 2(2), 167-186.



- Lampert, W., & Sommer, U. (2007). *Limnoecology: the ecology of lakes and streams*. Oxford university press.
- Larson, D., Ahlgren, G., & Willén, E. (2014). Bioaccumulation of microcystins in the food web: a field study of four Swedish lakes. *Inland Waters*, 4(1), 91-104.
- Latour, D., Giraudet, H., & Berthon, J. L. (2004). Frequency of dividing cells and viability of *Microcystis aeruginosa* in sediment of a eutrophic reservoir. *Aquatic microbial ecology*, 36(2), 117-122.
- Leao, P. N., Vasconcelos, M. T. S., & Vasconcelos, V. M. (2009). Allelopathy in freshwater cyanobacteria. *Critical reviews in microbiology*, 35(4), 271-282.
- Lemaire, V., Brusciotti, S., van Gremberghe, I., Vyverman, W., Vanoverbeke, J., & De Meester, L. (2012). Genotype x genotype interactions between the toxic cyanobacterium *Microcystis* and its grazer, the waterflea *Daphnia*. *Evolutionary Applications*, 5(2), 168-182.
- Li, J., Li, R., & Li, J. (2017). Current research scenario for microcystins biodegradation—a review on fundamental knowledge, application prospects and challenges. *Science of The Total Environment*, 595, 615-632.
- Liang, H., Zhou, W., Zhang, Y., Qiao, Q., & Zhang, X. (2015). Are fish fed with cyanobacteria safe, nutritious and delicious? A laboratory study. *Scientific reports*, 5, 15166.
- Lind, O., Davalos-Lind, L., Lopez, C., Lopez, M., & Dyble Bressie, J. (2016). Seasonal morphological variability in an in situ Cyanobacteria monoculture: example from a persistent *Cylindrospermopsis* bloom in Lake Catemaco, Veracruz, Mexico. *Journal of Limnology*, 75.
- Liu, L., Pohnert, G., & Wei, D. (2016). Extracellular metabolites from industrial microalgae and their biotechnological potential. *Marine drugs*, 14(10), 191.
- Liu, Y., Chen, W., Li, D., Huang, Z., Shen, Y., & Liu, Y. (2011). Cyanobacteria-/cyanotoxin-contaminations and eutrophication status before Wuxi drinking water crisis in Lake Taihu, China. *Journal of Environmental Sciences*, 23(4), 575-581.
- Lopes, I., Moreira-Santos, M., Rendón-von Osten, J., Baird, D. J., Soares, A. M., & Ribeiro, R. (2011). Suitability of five cladoceran species from Mexico for in situ experimentation. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(1), 111-116.
- Lopez-Archilla, A. I., Moreira, D., López-García, P., & Guerrero, C. (2004). Phytoplankton diversity and cyanobacterial dominance in a hypereutrophic shallow lake with biologically produced alkaline pH. *Extremophiles*, 8(2), 109-115.
- Lopez-Archilla, A. I., Moreira, D., López-García, P., & Guerrero, C. (2004). Phytoplankton diversity and cyanobacterial dominance in a hypereutrophic shallow lake with biologically produced alkaline pH. *Extremophiles*, 8(2), 109-115.
- López-Espinoza, E., Ruiz-Angulo, A., Zavala-Hidalgo, J., Romero-Centeno, R., & Escamilla-Salazar, J. (2019). Impacts of the Desiccated Lake System on Precipitation in the Basin of Mexico City. *Atmosphere*, 10(10), 628.
- Lu, K., Jin, C., Dong, S., Gu, B., & Bowen, S. H. (2006). Feeding and control of blue-green algal blooms by tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Hydrobiologia*, 568(1), 111-120.
- Lürling, M., & van der Grinten, E. (2003). Life-history characteristics of *Daphnia* exposed to dissolved microcystin-LR and to the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* with and without microcystins. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 22(6), 1281-1287.
- Lürling, M., & van Oosterhout, F. (2013). Controlling eutrophication by combined bloom precipitation and sediment phosphorus inactivation. *Water research*, 47(17), 6527-6537.
- Lürling, M., Eshetu, F., Faassen, E. J., Kosten, S., & Huszar, V. L. (2013). Comparison of cyanobacterial and green algal growth rates at different temperatures. *Freshwater Biology*, 58(3), 552-559.
- Lürling, M., Waajen, B., Engels, F., van Oosterhout, F. (2017). Effects of dredging and lanthanum-modified clay on water quality variables in an enclosure study in a hypertrophic pond *Water*, 9 (6) p. 24

- Lynch, M., & Shapiro, J. (1981). Predation, enrichment, and phytoplankton community structure. *Limnol. Oceanogr*, 26(1), 86-102.
- Ma, Q., Xi, Y. L., Zhang, J. Y., Wen, X. L., & Xiang, X. L. (2010). Differences in life table demography among eight geographic populations of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera) from China. *Limnologica*, 40(1), 16-22.
- Macke, E., Callens, M., De Meester, L., & Decaestecker, E. (2017). Host-genotype dependent gut microbiota drives zooplankton tolerance to toxic cyanobacteria. *Nature Communications*, 8(1), 1-13.
- Mackey, K. R., Paytan, A., Caldeira, K., Grossman, A. R., Moran, D., McIlvin, M., & Saito, M. A. (2013). Effect of temperature on photosynthesis and growth in marine *Synechococcus* spp. *Plant physiology*, 163(2), 815-829.
- MacKintosh, C., Beattie, K. A., Klumpp, S., Cohen, P., & Codd, G. A. (1990). Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants. *FEBS letters*, 264(2), 187-192.
- Maddison, D. R., Schulz, K. S., & Maddison, W. P. (2007). The tree of life web project. *Zootaxa*, 1668(1), 19-40.
- Magalhães, V. F., Soares, R. M., & Azevedo, S. M. (2001). Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. *Toxicon*, 39(7), 1077-1085.
- Mantzouki, E., Visser, P. M., Bormans, M., & Ibelings, B. W. (2016). Understanding the key ecological traits of cyanobacteria as a basis for their management and control in changing lakes. *Aquatic ecology*, 50(3), 333-350.
- Mateo, P., Leganés, F., Perona, E., Loza, V., & Fernández-Piñas, F. (2015). Cyanobacteria as bioindicators and bioreporters of environmental analysis in aquatic ecosystems. *Biodiversity and Conservation*, 24(4), 909-948.
- Matsumura-Tundisi, T. (1984). Occurrence of species of the genus *Daphnia* in Brazil. *Hydrobiologia*, 112(3), 161-165.
- May, L., & O'Hare, M. (2005). Changes in rotifer species composition and abundance along a trophic gradient in Loch Lomond, Scotland, UK. In *Rotifera x* (pp. 397-404). Springer, Dordrecht.
- Mazouni, K., Domain, F., Cassier-Chauvat, C., & Chauvat, F. (2004). Molecular analysis of the key cytokinetic components of cyanobacteria: FtsZ, ZipN and MinCDE. *Molecular microbiology*, 52(4), 1145-1158.
- McLellan, N. L., & Manderville, R. A. (2017). Toxic mechanisms of microcystins in mammals. *Toxicology research*, 6(4), 391-405.
- Melo-Ruiz, V., Schettino-Bermúdez, B., Herrera, K. S., Vargas-Martínez, N., Quirino-Barreda, T., & Juárez-Sandoval, J. (2014). The Importance of Consuming Charales (*Chirostoma jordani*) for Human Nutrition. *Journal of Life Sciences*, 8(1).
- Mendoza-Cantu, A., Ramirez-Romero, P., & Pica-Granados, Y. (2007). Environmental legislation and aquatic ecotoxicology in Mexico: Past, present and future scenarios. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 42(10), 1343-1348.
- Merel, S., Walker, D., Chicana, R., Snyder, S., Baurès, E., & Thomas, O. (2013). State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environment international*, 59, 303-327.
- Meriluoto, J., Metcalf, J., & Codd, G. A. (2017). Selection of analytical methodology for cyanotoxin analysis. *Biochemistry*, 32, 309-312.
- Merino-Ibarra, M., Monroy-Ríos, E., Vilaclara, G., Castillo, F. S., Gallegos, M. E., & Ramírez-Zierold, J. (2008). Physical and chemical limnology of a wind-swept tropical highland reservoir. *Aquatic Ecology*, 42(3), 335-345.
- Mihaljević, M., & Stević, F. (2011). Cyanobacterial blooms in a temperate river-floodplain ecosystem: the importance of hydrological extremes. *Aquatic ecology*, 45(3), 335-349.
- Mikulski, A., Grzesiuk, M., Kloc, M., & Pijanowska, J. (2009). Heat shock proteins in *Daphnia* detected using commercial antibodies: description and responsiveness to thermal stress. *Chemoecology*, 19(2), 69.

- Miller, S. R., & Castenholz, R. W. (2000). The evolution of thermotolerance in hot spring cyanobacteria of the genus *Synechococcus*. *Journal of Phycology*, 36, 48-48.
- Mitra, A., & Flynn, K. J. (2006). Promotion of harmful algal blooms by zooplankton predatory activity. *Biology letters*, 2(2), 194-197.
- Mohamed, Z. A., Carmichael, W. W., & Hussein, A. A. (2003). Estimation of microcystins in the freshwater fish *Oreochromis niloticus* in an Egyptian fish farm containing a *Microcystis* bloom. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 18(2), 137-141.
- Monakov, A. V., & Kuzin, B. S. (2003). Feeding of freshwater invertebrates: to the memory of Boris S. Kuzin. Kenobi Productions.
- Morais, J., Augusto, M., Carvalho, A. P., Vale, M., & Vasconcelos, V. M. (2008). Cyanobacteria hepatotoxins, microcystins: bioavailability in contaminated mussels exposed to different environmental conditions. *European Food Research and Technology*, 227(3), 949.
- Moreira, C., Ramos, V., Azevedo, J., & Vasconcelos, V. (2014). Methods to detect cyanobacteria and their toxins in the environment. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(19), 8073-8082.
- Moreno-Gutiérrez, R. M., Sarma, S. S. S., Sobrino-Figueroa, A. S., & Nandini, S. (2018). Population growth potential of rotifers from a high altitude eutrophic waterbody, Madín reservoir (State of Mexico, Mexico): The importance of seasonal sampling. *Journal of Limnology*, 77(3).
- Morlán-Mejía J. (2014) Variación temporal y espacial de las tasas de materia total particulada en un lago urbano somero (tesis maestría). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Moss, B. R. (2018). *Ecology of Freshwaters: Earth's Bloodstream*. John Wiley & Sons.
- Moss, B., Kosten, S., Meerhoff, M., Battarbee, R. W., Jeppesen, E., Mazzeo, N., & Paerl, H. (2011). Allied attack: climate change and eutrophication. *Inland waters*, 1(2), 101-105.
- Müller, M. F., Colomer, J., & Serra, T. (2018). Temperature-driven response reversibility and short-term quasi-acclimation of *Daphnia magna*. *Plos one*, 13(12).
- Müller-Navarra, D. C. (2008). Food web paradigms: the biochemical view on trophic interactions. *International Review of Hydrobiology*, 93(4-5), 489-505.
- Muñoz-Colmenares, M. E., Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2017). Seasonal variations of rotifers from the high altitude Llano reservoir (State of Mexico, Mexico). *Journal of Environmental Biology*, 38(6), 1171-1181.
- Mur, R., Skulberg, O. M., & Utkilen, H. (1999). Cyanobacteria in the environment.
- Nabout, J. C., da Silva Rocha, B., Carneiro, F. M., & Sant'Anna, C. L. (2013). How many species of Cyanobacteria are there? Using a discovery curve to predict the species number. *Biodiversity and conservation*, 22(12), 2907-2918.
- Nandini S & Sarma SSS (2012). Cianobacterias y cianotoxinas dulceacuícolas en ambientes tropicales: una revisión de la problemática: en: *Contribuciones al conocimiento de la Ecotoxicología y Química Ambiental en México*. Instituto de Tecnología del Agua. Jiutepec, Mexico.
- Nandini, S., & Rao, T. R. (1998). Somatic and population growth in selected cladoceran and rotifer species offered the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* as food. *Aquatic Ecology*, 31(3), 283-298.
- Nandini, S., Merino-Ibarra, M., & Sarma, S. S. S. (2008). Seasonal changes in the zooplankton abundances of the reservoir Valle de Bravo (State of Mexico, Mexico). *Lake and Reservoir Management*, 24(4), 321-330.
- Nandini, S., Picazo-Paez, E. A., & Sarma, S. S. S. (2007). The combined effects of heavy metals (copper and zinc), temperature and food (*Chlorella vulgaris*) level on the demographic characters of *Moina macrocopa* (Crustacea: Cladocera). *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 42(10), 1433-1442.
- Nandini, S., Ramírez-García, P., & Sarma, S. S. S. (2005). Seasonal variations in the species diversity of planktonic rotifers in Lake Xochimilco, Mexico. *Journal of Freshwater Ecology*, 20(2), 287-294.
- Nandini, S., Ramírez-García, P., & Sarma, S. S. S. (2005). Seasonal variations in the species diversity of planktonic rotifers in Lake Xochimilco, Mexico. *Journal of Freshwater Ecology*, 20(2), 287-294.

- Nandini, S., Ramírez-García, P., Sarma, S. S. S., & Gutierrez-Ochoa, R. A. (2019). Planktonic indicators of water quality: A case study in the Amacuzac River Basin (State of Morelos, Mexico). *River Research and Applications*, 35(3), 268-279.
- Nandini, S., Sánchez-Zamora, C., & Sarma, S. S. S. (2019). Toxicity of cyanobacterial blooms from the reservoir Valle de Bravo (Mexico): A case study on the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Science of The Total Environment*, 688, 1348-1358.
- Nandini, S., Silva-Briano, M., García, G. G., Sarma, S. S. S., Adabache-Ortiz, A., & de la Rosa, R. G. (2009). First record of the temperate species *Daphnia curvirostris* Eylmann, 1887 emend. Johnson, 1952 (Cladocera: Daphniidae) in Mexico and its demographic characteristics in relation to algal food density. *Limnology*, 10(2), 87-94.
- Nandini, S.; Sarma, S.S.S.; Ramírez-García, P. (2000). Life table demography and population growth of *Daphnia laevis* (Cladocera) under different densities of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*. *Crustaceana*, 73, 1273–1286.
- Navarrete Salgado, N. A. (2017). *Chirostoma* (menidia): Ecología y utilización como especie de cultivo en estanques rústicos. *BIOCYT Biología Ciencia y Tecnología*, 10(37-39).
- Negri, A. P., Jones, G. J., Blackburn, S. I., Oshima, Y., & Onodera, H. (1997). Effect of culture and bloom development and of sample storage on paralytic shellfish poisons in the cyanobacterium *Anabaena circinalis*. *Journal of Phycology*, 33(1), 26-35.
- Neilan, B. A., Pearson, L. A., Muenchhoff, J., Moffitt, M. C., & Dittmann, E. (2013). Environmental conditions that influence toxin biosynthesis in cyanobacteria. *Environmental microbiology*, 15(5), 1239-1253.
- O’Neil, J. M., Davis, T. W., Burford, M. A., & Gobler, C. J. (2012). The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful algae*, 14, 313-334.
- Oberemm, A., Fastner, J., & Steinberg, C. E. (1997). Effects of microcystin-LR and cyanobacterial crude extracts on embryo-larval development of zebrafish (*Danio rerio*). *Water Research*, 31(11), 2918-2921.
- Oberholster, P. J., Botha, A. M., & Cloete, T. E. (2006). Toxic cyanobacterial blooms in a shallow, artificially mixed urban lake in Colorado, USA. *Lakes & Reservoirs: Research & Management*, 11(2), 111-123.
- Obertegger, U., & Flaim, G. (2015). Community assembly of rotifers based on morphological traits. *Hydrobiologia*, 753(1), 31-45.
- Obertegger, U., & Flaim, G. (2018). Taxonomic and functional diversity of rotifers, what do they tell us about community assembly?. *Hydrobiologia*, 823(1), 79-91.
- Oh, H. J., Jeong, H. G., Nam, G. S., Oda, Y., Dai, W., Lee, E. H., & Chang, K. H. (2017). Comparison of taxon-based and trophi-based response patterns of rotifer community to water quality: applicability of the rotifer functional group as an indicator of water quality. *Animal cells and systems*, 21(2), 133-140.
- Okumura, D. T., Sotero-Santos, R. B., Takenaka, R. A., & Rocha, O. (2007). Evaluation of cyanobacteria toxicity in tropical reservoirs using crude extracts bioassay with cladocerans. *Ecotoxicology*, 16(2), 263-270.
- Oliva-Martínez, M. G., Rodríguez Rocha, A., Lugo Vázquez, A., & Sánchez Rodríguez, M. D. R. (2008). Composición y dinámica del fitoplancton en un lago urbano hipertrófico. *Hidrobiológica*, 18, 1-13.
- Olvera-Ramírez, R., Centeno-Ramos, C., & Martínez-Jerónimo, F. (2010). Efectos tóxicos de *Pseudanabaena tenuis* (Cyanobacteria) en los cladóceros *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia dubia*. *Hidrobiológica*, 20(3), 203-212.
- Opuszyński, K. (1980). The role of fishery management in counteracting eutrophication processes. In *Hypertrophic ecosystems* (pp. 263-269). Springer, Dordrecht.
- Ortiz-Fernández R. (2013) Análisis estacional de la composición de cianoprocariontes en el lago de Zumpango y su relación con la presencia de microcistinas LR (tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México.

- Ortíz-Fernández R. (2013) Análisis estacional de la composición de cianoprocariontes en el lago de Zumpango y su relación con la presencia de microcistina LR (tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ostrovsky, A. N., Lidgard, S., Gordon, D. P., Schwaha, T., Genikhovich, G., & Ereskovsky, A. V. (2016). Matrotrophy and placentation in invertebrates: a new paradigm. *Biological Reviews*, 91(3), 673-711.
- Padisák, J. (1997). *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Archiv Für Hydrobiologie Supplementband Monographische Beitrage*, 107(4), 563-593.
- Padisák, J. (2003). Estimation of minimum sedimentary inoculum (akinete) pool of *Cylindrospermopsis raciborskii*: a morphology and life-cycle based method. In *Phytoplankton and Equilibrium Concept: The Ecology of Steady-State Assemblages* (pp. 389-394). Springer, Dordrecht.
- Paerl, H. W. (2014). Mitigating harmful cyanobacterial blooms in a human-and climatically-impacted world. *Life*, 4(4), 988-1012.
- Paerl, H. W. (2017). Controlling harmful cyanobacterial blooms in a climatically more extreme world: management options and research needs. *Journal of Plankton Research*, 39(5), 763-771.
- Paerl, H. W., & Huisman, J. (2009). Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental microbiology reports*, 1(1), 27-37.
- Paerl, H. W., & Otten, T. G. (2013). Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. *Microbial ecology*, 65(4), 995-1010.
- Paerl, H. W., & Paul, V. J. (2012). Climate change: links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water research*, 46(5), 1349-1363.
- Paerl, H. W., Otten, T. G., & Joyner, A. R. (2016). Moving towards adaptive management of cyanotoxin-impaired water bodies. *Microbial Biotechnology*, 9(5), 641-651.
- Paes, T. A. S. V., Costa, I. A. S. D., Silva, A. P. C., & Eskinazi-Sant'Anna, E. M. (2016). Can microcystins affect zooplankton structure community in tropical eutrophic reservoirs?. *Brazilian Journal of Biology*, 76(2), 450-460.
- Páez, M. E. C., García, M. Z., Ivonne, M., Mirón, B. D., Mouriño, G. G., & Tapia, R. A. C. (2015) Abundancia y biomasa de la comunidad de rotíferos y su relación con parámetros ambientales en tres estaciones del Canal Cuemanco, Xochimilco.
- Palikova, M., Mares, J., Kopp, R., Hlavkova, J., Navratil, S., Adamovský, O., ... & Blaha, L. (2011). Accumulation of microcystins in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., and effects of a complex cyanobacterial bloom on the dietetic quality of muscles. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 87(1), 26.
- Pawlik-Skowrońska, B., Toporowska, M., & Mazur-Marzec, H. (2019). Effects of secondary metabolites produced by different cyanobacterial populations on the freshwater zooplankters *Brachionus calyciflorus* and *Daphnia pulex*. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(12), 11793-11804.
- Pennak, R. W. (1989). Fresh-water invertebrates of the United States. Protozoa to mollusca.
- Pérez-Morales, A., Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2015). Producción de microcistinas en *Microcystis* inducida por *Daphnia pulex* (Cladocera) y *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Hidrobiológica*, 25(3), 411-415.
- Pérez-Morales, A., Sarma, S. S. S., Nandini, S., Espinosa-Rodríguez, C. A., & Rivera-De la Parra, L. (2020). Demographic responses of selected rotifers (Rotifera) and cladocerans (Cladocera) fed toxic *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria). *Fundamental and Applied Limnology*, 261-274.
- Pham, T. L., & Utsumi, M. (2018). An overview of the accumulation of microcystins in aquatic ecosystems. *Journal of environmental management*, 213, 520-529.
- Piccini, C., Aubriot, L., Fabre, A., Amaral, V., González-Piana, M., Giani, A., & Bonilla, S. (2011). Genetic and eco-physiological differences of South American *Cylindrospermopsis raciborskii* isolates support the hypothesis of multiple ecotypes. *Harmful Algae*, 10(6), 644-653.

- Pietsch, C., Wiegand, C., Amé, M. V., Nicklisch, A., Wunderlin, D., & Pflugmacher, S. (2001). The effects of a cyanobacterial crude extract on different aquatic organisms: evidence for cyanobacterial toxin modulating factors. *Environmental Toxicology*, 16(6), 535-542.
- Pigliucci, M. (2001). Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture. JHU Press.
- Pilotto, L. S., Douglas, R. M., Burch, M. D., Cameron, S., Beers, M., Rouch, G. J., & Moore, C. (1997). Health effects of exposure to cyanobacteria (blue-green algae) during recreational water-related activities. *Australian and New Zealand journal of public health*, 21(6), 562-566.
- Pineda-Mendoza, R. M., Briones-Roblero, C. I., Gonzalez-Escobedo, R., Rivera-Orduña, F. N., Martínez-Jerónimo, F., & Zúñiga, G. (2020). Seasonal changes in the bacterial community structure of three eutrophicated urban lakes in Mexico city, with emphasis on *Microcystis* spp. *Toxicon*.
- Pineda-Mendoza, R. M., Olvera-Ramirez, R., & Martínez-Jerónimo, F. (2012). Microcystins produced by filamentous cyanobacteria in urban lakes. A case study in Mexico City. *Hidrobiológica*, 22(3), 290-298.
- Pineda-Mendoza, R. M., Zúñiga, G., & Martínez-Jerónimo, F. (2014). Infochemicals released by *Daphnia magna* fed on *Microcystis aeruginosa* affect *mcyA* gene expression. *Toxicon*, 80, 78-86.
- Pineda-Mendoza, R. M., Zúñiga, G., & Martínez-Jerónimo, F. (2016). Microcystin production in *Microcystis aeruginosa*: effect of type of strain, environmental factors, nutrient concentrations, and N:P ratio on *mcyA* gene expression. *Aquatic ecology*, 50(1), 103-119.
- Pla-García, J., & Menor-Salván, C. (2017). La composición química de la atmósfera primitiva del planeta Tierra. In *Anales de Química*, 113(1).
- Popovic, M., Zaja, R., & Smital, T. (2010). Organic anion transporting polypeptides (OATP) in zebrafish (*Danio rerio*): Phylogenetic analysis and tissue distribution. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 155(3), 327-335.
- Porter, K. G. (1973). Selective grazing and differential digestion of algae by zooplankton. *Nature*, 244(5412), 179-180.
- Porter, K. G. (1996). Integrating the microbial loop and the classic food chain into a realistic planktonic food web. In *Food Webs* (pp. 51-59). Springer, Boston, MA.
- Prieto, A. I., Pichardo, S., Jos, Á., Moreno, I., & Cameán, A. M. (2007). Time-dependent oxidative stress responses after acute exposure to toxic cyanobacterial cells containing microcystins in tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) under laboratory conditions. *Aquatic Toxicology*, 84(3), 337-345.
- Proctor, V. W. (1964). Viability of crustacean eggs recovered from ducks. *Ecology*, 45(3), 656-658.
- Ptacnik, R., Andersen, T., & Tamminen, T. (2010). Performance of the Redfield ratio and a family of nutrient limitation indicators as thresholds for phytoplankton N vs. P limitation. *Ecosystems*, 13(8), 1201-1214.
- Raborn, R. T., Spitze, K., Brendel, V. P., & Lynch, M. (2016). Promoter architecture and sex-specific gene expression in *Daphnia pulex*. *Genetics*, 204(2), 593-612.
- Rabouille, S., Salençon, M. J., & Thébault, J. M. (2005). Functional analysis of *Microcystis* vertical migration: A dynamic model as a prospecting tool: I—Processes analysis. *Ecological modelling*, 188(2-4), 386-403.
- Radersma, R., Hegg, A., Noble, D. W., & Uller, T. (2018). Timing of maternal exposure to toxic cyanobacteria and offspring fitness in *Daphnia magna*: Implications for the evolution of anticipatory maternal effects. *Ecology and evolution*, 8(24), 12727-12736.
- Ramírez-García, P. R., Nandini, S., Sarma, S. S. S., Valderrama, E. R., Cuesta, I., & Hurtado, M. D. (2002). Seasonal variations of zooplankton abundance in the freshwater reservoir Valle de Bravo (Mexico). *Hydrobiologia*, 467(1-3), 99-108.
- Rantala, A., Fewer, D. P., Hisbergues, M., Rouhiainen, L., Vaitomaa, J., Börner, T., & Sivonen, K. (2004). Phylogenetic evidence for the early evolution of microcystin synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(2), 568-573.
- Rapala, J., Sivonen, K., Lyra, C., & Niemelä, S. I. (1997). Variation of microcystins, cyanobacterial hepatotoxins, in *Anabaena* spp. as a function of growth stimuli. *Applied and environmental microbiology*, 63(6), 2206-2212.

- Rastogi, R. P., Madamwar, D., & Incharoensakdi, A. (2015). Bloom dynamics of cyanobacteria and their toxins: environmental health impacts and mitigation strategies. *Frontiers in microbiology*, 6, 1254.
- Raven, J. A., Giordano, M., Beardall, J., & Maberly, S. C. (2012). Algal evolution in relation to atmospheric CO<sub>2</sub>: carboxylases, carbon-concentrating mechanisms and carbon oxidation cycles. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1588), 493-507.
- Redfield, A. C. (1958). The biological control of chemical factors in the environment. *American scientist*, 46(3), 230A-221.
- Reichwaldt, E. S., & Ghadouani, A. (2012). Effects of rainfall patterns on toxic cyanobacterial blooms in a changing climate: between simplistic scenarios and complex dynamics. *Water research*, 46(5), 1372-1393.
- Reyes-Cardoso J. (2017). Evaluación de la calidad del agua mediante el índice de saprobiedad, en la laguna de Zumpango de Ocampo, Estado de México (tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Reynolds, C. S. (2006). *The ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press.
- Rico-Martínez, R., Arzate-Cárdenas, M. A., Robles-Vargas, D., Pérez-Legaspi, I. A., Alvarado-Flores, J., & Santos-Medrano, G. E. (2016). Rotifers as models in toxicity screening of chemicals and environmental samples. *Invertebrates-Experimental Models in Toxicity Screening*. InTech, 57-99.
- Ricotta, C., de Bello, F., Moretti, M., Caccianiga, M., Cerabolini, B. E., & Pavoine, S. (2016). Measuring the functional redundancy of biological communities: a quantitative guide. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(11), 1386-1395.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., Herdman, M., & Stanier, R. Y. (1979). Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Microbiology*, 111(1), 1-61.
- Rodríguez-Casanova, A. J., & Zuria, I. (2018). Coloración aberrante en aves acuáticas de la Laguna de Zumpango, Estado de México. *Huitzil*, 19(1), 131-140.
- Rohlf, F. J., & Sokal, R. R. (1981). Comparing numerical taxonomic studies. *Systematic Biology*, 30(4), 459-490.
- Rohrlack, T., Christoffersen, K., Dittmann, E., Nogueira, I., Vasconcelos, V., & Börner, T. (2005). Ingestion of microcystins by *Daphnia*: intestinal uptake and toxic effects. *Limnology and oceanography*, 50(2), 440-448.
- Romo, S., Fernández, F., Ouahid, Y., & Barón-Sola, Á. (2012). Assessment of microcystins in lake water and fish (Mugilidae, *Liza* sp.) in the largest Spanish coastal lake. *Environmental monitoring and assessment*, 184(2), 939-949.
- Rondel, C., Arfi, R., Corbin, D., Le Bihan, F., Ndour, E. H., & Lazzaro, X. (2008). A cyanobacterial bloom prevents fish trophic cascades. *Freshwater Biology*, 53(4), 637-651.
- Rosen, G., Poucher, S. L., Greenberg, M. S., Burton, G. A., & Chadwick, D. B. (2009). *In Situ Estuarine and Marine Toxicity Testing: A Review, Including Recommendations for Future Use in Ecological Risk Assessment* (No. TR-1986). space and naval warfare systems center san diego CA.
- Rossi, V., Benassi, G., Leonardi, S., Piotti, A., & Menozzi, P. (2006). Clonal diversity of *Heterocypris incongruens* (Crustacea: Ostracoda) in Northern Italian ricefields. *Archiv für Hydrobiologie*, 166(2), 225-240.
- Ruiz-Angulo, A., & López-Espinoza, E. D. (2015). Estimación de la respuesta térmica de la cuenca lacustre del Valle de México en el siglo XVI: un experimento numérico. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 67(2), 215-225.
- Saker, M. L., Welker, M., & Vasconcelos, V. M. (2007). Multiplex PCR for the detection of toxigenic cyanobacteria in dietary supplements produced for human consumption. *Applied microbiology and biotechnology*, 73(5), 1136-1142.
- Sandoval-Reyes, J. L., & Ramírez-Zamora, R. M. (2019). Simultaneous removal of dissolved organic matter, *Microcystis aeruginosa*, and microcystin-LR by pre-oxidation and coagulation-flocculation processes. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 18(3), 889-900.

- Sarma, S. S. S., & Elías-Gutiérrez, M. (2000). Rotifers from Mexico: New records in high altitude ponds. *The Southwestern Naturalist*, 45(3), 366-373.
- Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2004). Competition between *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa*: a population growth study. *Advances in fish and wildlife ecology and biology*, 3, 90-101.
- Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2006). Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 41(8), 1417-1430.
- Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2017). Rotíferos Mexicanos (Rotifera). Estado de México. Manual de Enseñanza. Mexico City: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Tlalnepantla, Mexico.
- Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2019). Comparative population dynamics of six brachionid rotifers (Rotifera) fed seston from a hypertrophic, high altitude shallow waterbody from Mexico. *Hydrobiologia*, 844(1), 55-65.
- Sarma, S. S. S., Nandini, S., & Gulati, R. D. (2002). Cost of reproduction in selected species of zooplankton (rotifers and cladocerans). *Hydrobiologia*, 481(1-3), 89-99.
- Sarma, S. S. S., Nandini, S., & Gulati, R. D. (2005). Life history strategies of cladocerans: comparisons of tropical and temperate taxa. In *Aquatic Biodiversity II* (pp. 315-333). Springer, Dordrecht.
- Sarma, S. S. S., Nandini, S., Miracle, M. R., & Vicente, E. (2019). Effect of a cyanobacterial diet on the competition between rotifers: a case study in Lake Albufera of Valencia, Spain. *Limnetica*, 38(1), 279-289.
- Sarma, S. S. S., Osnaya-Espinosa, L. R., Aguilar-Acosta, C. R., & Nandini, S. (2011). Seasonal variations in zooplankton abundances in the Iturbide reservoir (Isidro Fabela, State of Mexico, Mexico). *Journal of Environmental Biology*, 32(4), 473.
- Sarma, S. S. S., Stevenson, R. A., & Nandini, S. (1998). Influence of Food (*Chlorella vulgaris*) Concentration and Temperature on the Population Dynamics of *Brachionus calyflorus* Pallas (Rotifera) Isolated from a Subtropical Reservoir in México. *CIENCIA ergo-sum*, 5(1), 77-81.
- Schirrmeister, B. E., Antonelli, A., & Bagheri, H. C. (2011). The origin of multicellularity in cyanobacteria. *BMC evolutionary biology*, 11(1), 45.
- Schirrmeister, B. E., de Vos, J. M., Antonelli, A., & Bagheri, H. C. (2013). Evolution of multicellularity coincided with increased diversification of cyanobacteria and the Great Oxidation Event. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(5), 1791-1796.
- Schmidt, J. R., Wilhelm, S. W., & Boyer, G. L. (2014). The fate of microcystins in the environment and challenges for monitoring. *Toxins*, 6(12), 3354-3387.
- Schopf, J. W. (1974). The development and diversification of Precambrian life. In *Cosmochemical Evolution and the Origins of Life* (pp. 119-135). Springer, Dordrecht.
- Schopf, J. W. (2012). The fossil record of cyanobacteria. In *Ecology of cyanobacteria II* (pp. 15-36). Springer, Dordrecht.
- Schwarzenberger, A., Kuster, C. J., & Von Elert, E. (2012). Molecular mechanisms of tolerance to cyanobacterial protease inhibitors revealed by clonal differences in *Daphnia magna*. *Molecular Ecology*, 21(19), 4898-4911.
- Segers, H. (2007). Annotated checklist of the rotifers (Phylum Rotifera), with notes on nomenclature, taxonomy and distribution. *Zootaxa*, 1564(1), 1-104.
- Semyalo, R., Rohrlack, T., Naggawa, C., & Nyakairu, G. W. (2010). Microcystin concentrations in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) caught from Murchison Bay, Lake Victoria and Lake Mburo: Uganda. *Hydrobiologia*, 638(1), 235-244.
- Serranía-Soto C R. (2006) Diversidad de rotoferos monogonontos de la parte central de México (tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Serranía-Soto, C., & Sarma, S. S. S. (2003). Some taxonomical aspects of rotifera from central Mexico. *Scientiae Naturae*, 6(1), 53-61.
- Sheng, J. W., He, M., Shi, H. C., & Qian, Y. (2006). A comprehensive immunoassay for the detection of microcystins in waters based on polyclonal antibodies. *Analytica Chimica Acta*, 572(2), 309-315.



- Sibly, R. M., & Hone, J. (2002). Population growth rate and its determinants: an overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 357(1425), 1153-1170.
- Sinha, R., Pearson, L. A., Davis, T. W., Burford, M. A., Orr, P. T., & Neilan, B. A. (2012). Increased incidence of *Cylindrospermopsis raciborskii* in temperate zones—is climate change responsible?. *Water research*, 46(5), 1408-1419.
- Sivonen, K., & Jones, G. (1999). Cyanobacterial toxins. *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*, 1, 43-112.
- Sládeček, V. (1983). Rotifers as indicators of water quality. *Hydrobiologia*, 100(1), 169-201.
- Smirnov, N. N. (2017). *Physiology of the Cladocera*. Academic Press.
- Snell, T. W. (1998). Chemical ecology of rotifers. *Hydrobiologia*, 387, 267-276.
- Snell, T. W., & Janssen, C. R. (1995). Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologia*, 313(1), 231-247.
- Snell, T. W., Moffat, B. D., Janssen, C., & Persoone, G. (1991). Acute toxicity tests using rotifers: IV. Effects of cyst age, temperature, and salinity on the sensitivity of *Brachionus calyciflorus*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 21(3), 308-317.
- Soeder, C. J. (1976). The technical production of microalgae and its prospects in marine aquaculture. In *Harvesting polluted waters* (pp. 11-26). Springer, Boston, MA.
- Solis, M., Pawlik-Skowrońska, B., Adamczuk, M., & Kalinowska, R. (2018). Dynamics of small-sized Cladocera and their algal diet in lake with toxic cyanobacterial water blooms. In *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology* (Vol. 54, p. 6). EDP Sciences.
- Sotero-Santos, R. B., Silva, C. R. D. S. E., Verani, N. F., Nonaka, K. O., & Rocha, O. (2006). Toxicity of a cyanobacteria bloom in barra bonita reservoir (middle tieté river, Sao Paulo, Brazil). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(2), 163-170.
- Sotton, B., Guillard, J., Anneville, O., Maréchal, M., Savichtcheva, O., & Domaizon, I. (2014). Trophic transfer of microcystins through the lake pelagic food web: Evidence for the role of zooplankton as a vector in fish contamination. *Science of the Total Environment*, 466, 152-163.
- Spooof, L., & Catherine, A. (2017). Appendix 3: Tables of microcystins and nodularins. *Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis*, 526-537.
- Steinberg, C. E. W., Schäfer, H., & Beisker, W. (1998). Do acid-tolerant cyanobacteria exist?. *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, 26(1), 13-19.
- Stewart, I., Schluter, P. J., & Shaw, G. R. (2006). Cyanobacterial lipopolysaccharides and human health—a review. *Environmental Health*, 5(1), 1-23.
- Swingle, M., Ni, L., & Honkanen, R. E. (2007). Small-molecule inhibitors of Ser/Thr protein phosphatases. In *Protein Phosphatase Protocols* (pp. 23-38). Springer, Totowa, NJ.
- Takamura, N., & Yasuno, M. (1988). Sedimentation of phytoplankton populations dominated by *Microcystis* in a shallow lake. *Journal of Plankton Research*, 10(2), 283-299.
- Taylor, D. J., Finston, T. L., & Hebert, P. D. (1998). Biogeography of a widespread freshwater crustacean: pseudocongruence and cryptic endemism in the North American *Daphnia laevis* complex. *Evolution*, 52(6), 1648-1670.
- Thorp, J. H., & Covich, A. P. (Eds.). (2009). *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates*. Academic press.
- Tian, D., Zheng, W., Wei, X., Sun, X., Liu, L., Chen, X., & Wang, X. (2013). Dissolved microcystins in surface and ground waters in regions with high cancer incidence in the Huai River Basin of China. *Chemosphere*, 91(7), 1064-1071.
- Tillett, D., Dittmann, E., Erhard, M., Von Döhren, H., Börner, T., & Neilan, B. A. (2000). Structural organization of microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806: an integrated peptide-polyketide synthetase system. *Chemistry & biology*, 7(10), 753-764.
- Tillmanns, A. R., Wilson, A. E., Pick, F. R., & Sarnelle, O. (2008). Meta-analysis of cyanobacterial effects on zooplankton population growth rate: species-specific responses. *Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie*, 171(4), 285-295.

- Tönno, I., Agasild, H., Kõiv, T., Freiberg, R., Nõges, P., & Nõges, T. (2016). Algal diet of small-bodied crustacean zooplankton in a cyanobacteria-dominated eutrophic lake. *PloS one*, 11(4), e0154526.
- Torzillo, G., & Vonshak, A. (2013). Environmental stress physiology with reference to mass cultures. *Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology*. Blackwell Publishing Ltd., New Jersey, 90-113.
- Torzillo, G., Sacchi, A., Materassi, R., & Richmond, A. (1991). Effect of temperature on yield and night biomass loss in *Spirulina platensis* grown outdoors in tubular photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*, 3(2), 103-109.
- Townhill, B. L., Tinker, J., Jones, M., Pitois, S., Creach, V., Simpson, S. D., & Pinnegar, J. K. (2018). Harmful algal blooms and climate change: exploring future distribution changes. *ICES Journal of Marine Science*, 75(6), 1882-1893.
- Triest, L., Stiers, I., & Van Onsem, S. (2016). Biomanipulation as a nature-based solution to reduce cyanobacterial blooms. *Aquatic ecology*, 50(3), 461-483.
- Turner, A. D., Dhanji-Rapkova, M., O'Neill, A., Coates, L., Lewis, A., & Lewis, K. (2018). Analysis of microcystins in cyanobacterial blooms from freshwater bodies in England. *Toxins*, 10(1), 39.
- Ueno, Y., Nagata, S., Tsutsumi, T., Hasegawa, A., Yoshida, F., Suttajit, M., & Vasconcelos, V. (1996). Survey of microcystins in environmental water by a highly sensitive immunoassay based on monoclonal antibody. *Natural toxins*, 4(6), 271-276.
- Urrutia-Cordero, P., Ekvall, M. K., & Hansson, L. A. (2016). Local food web management increases resilience and buffers against global change effects on freshwaters. *Scientific reports*, 6, 29542.
- USEPA. (2012). *Cyanobacteria and Cyanotoxins: Information for Drinking Water Systems*. United States Environmental Protection Agency EPA-810F11001, Office of Water.
- USEPA. (2015). *Health effects support document for the cyanobacterial toxin microcystins*.
- Valadez-Pérez J C. (1998). *Determinación de metales pesados en tejidos de carpa de la laguna de Zumpango (tesis de licenciatura)*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Vallod, D., Cravedi, J. P., Hillenweck, A., & Robin, J. (2007). Analysis of the off-flavor risk in carp production in ponds in Dombes and Forez (France). *Aquaculture International*, 15(3-4), 287-298.
- Van Apeldoorn, M. E., Van Egmond, H. P., Speijers, G. J., & Bakker, G. J. (2007). Toxins of cyanobacteria. *Molecular nutrition & food research*, 51(1), 7-60.
- Van de Waal, D. B., Verspagen, J. M., Finke, J. F., Vournazou, V., Immers, A. K., Kardinaal, W. E. A., & Huisman, J. (2011). Reversal in competitive dominance of a toxic versus non-toxic cyanobacterium in response to rising CO<sub>2</sub>. *The ISME journal*, 5(9), 1438-1450.
- Varga, D., Sándor, Z., Hancz, C., Csengeri, I., Jeney, Z., & Papp, Z. (2015). Off-flavour compounds in common carp (*Cyprinus carpio* L.) flesh in context of type of fish pond. *Acta Alimentaria*, 44(2), 311-315.
- Vasconcelos, V. (2001). Cyanobacteria toxins: diversity and ecological effects. *Limnetica*, 20(1), 45-58.
- Vasconcelos, V., Martins, A., Vale, M., Antunes, A., Azevedo, J., Welker, M., & Montejano, G. (2010). First report on the occurrence of microcystins in planktonic cyanobacteria from Central Mexico. *Toxicon*, 56(3), 425-431.
- Vázquez-Sánchez, A., Reyes-Vanegas, G., Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2014). Diversity and abundance of rotifers during an annual cycle in the reservoir Valerio Trujano (Tepecoacuilco, Guerrero, Mexico). *Inland Waters*, 4(3), 293-302.
- Vázquez-Sánchez, E., & Jaimes-Palomera, L. R. (1989). *Geología de la cuenca de México: Geofísica Internacional (México)*, v. 28.
- Ventelä, A. M., Wiackowski, K., Moilanen, M., Saarikari, V., Vuorio, K., & Sarvala, J. (2002). The effect of small zooplankton on the microbial loop and edible algae during a cyanobacterial bloom. *Freshwater Biology*, 47(10), 1807-1819.

- Verbitsky, V. B., Verbitskaja, T. I., & Malisheva, O. A. (2014). Temperature responses of *Ceriodaphnia quadrangula* (OF Müller, 1785) (Anomopoda) from the littoral of the Rybinsk Reservoir. *Inland water biology*, 7(4), 313-317.
- Verspagen, J. M. H., Snelder, E. O. F. M., Visser, P. M., Jöhnk, K., & Ibelings, B. W. (2005). Benthic-pelagic coupling in the population dynamics of the harmful.
- Versteeg, D. J., Stalmans, M., Dyer, S. D., & Janssen, C. (1997). *Ceriodaphnia* and *Daphnia*: A comparison of their sensitivity to xenobiotics and utility as a test species. *Chemosphere*, 34(4), 869-892.
- Visser, P. M., Ibelings, B. W., Bormans, M., & Huisman, J. (2016). Artificial mixing to control cyanobacterial blooms: a review. *Aquatic Ecology*, 50(3), 423-441.
- Vollenweider, R. A., & Kerekes, J. (1982). Eutrophication of waters. Monitoring, assessment and control. Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD), Paris, 156.
- Waajen, G. W., Lürling, M., & van de Sande, R. (2019). The unfulfilled promise of urban Lake Kleine Melanen (The Netherlands): Diagnostics, experiment on reduction of sediment P-release and in-lake restoration. *Lake and Reservoir Management*, 35(1), 8-24.
- Waajen, G. W., Faassen, E. J., & Lürling, M. (2014). Eutrophic urban ponds suffer from cyanobacterial blooms: Dutch examples. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(16), 9983-9994.
- Wallace, B. B., Bailey, M. C., & Hamilton, D. P. (2000). Simulation of vertical position of buoyancy regulating *Microcystis aeruginosa* in a shallow eutrophic lake. *Aquatic Sciences*, 62(4), 320-333.
- Walls, J. T., Wyatt, K. H., Doll, J. C., Rubenstein, E. M., & Rober, A. R. (2018). Hot and toxic: Temperature regulates microcystin release from cyanobacteria. *Science of the Total Environment*, 610, 786-795.
- Walsby, A. E. (1994). Gas vesicles. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 58(1), 94-144.
- Walsby, A. E., Hayes, P. K., Boje, R., & Stal, L. J. (1997). The selective advantage of buoyancy provided by gas vesicles for planktonic cyanobacteria in the Baltic Sea. *New Phytologist*, 136(3), 407-417.
- Walz, N., Sarma, S. S., & Benker, U. (1995). Egg size in relation to body size in rotifers: an indication of reproductive strategy?. In *Rotifera VII* (pp. 165-170). Springer, Dordrecht.
- Wang, L., Sun, J., Zheng, W., Huang, T., Zhang, Y., Wu, Z., & He, F. (2018). Effects of a Combined Biological Restoration Technology on Nitrogen and Phosphorus Removal from Eutrophic Water. *Polish Journal of Environmental Studies*, 27(5).
- Wannemacher, R. W. (1989). Chemical stability and laboratory safety of naturally occurring toxins. Fort Detrick, Frederick, MD: US Army Medical Research Institute of Infectious Disease.
- Watanabe, M. F., & Oishi, S. (1985). Effects of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium (*Microcystis aeruginosa*) under culture conditions. *Applied and Environmental microbiology*, 49(5), 1342-1344.
- Watanabe, M. F., Tsuji, K., Watanabe, Y., Harada, K. I., & Suzuki, M. (1992). Release of heptapeptide toxin (microcystin) during the decomposition process of *Microcystis aeruginosa*. *Natural toxins*, 1(1), 48-53.
- Whitton, B. A. (2002). Phylum cyanophyta (cyanobacteria). *The Freshwater Algal Flora of the British Isles*. Cambridge University Press, Cambridge, 702, 25-122.
- Whitton, B. A., & Potts, M. (2012). Introduction to the cyanobacteria. In *Ecology of Cyanobacteria II* (pp. 1-13). Springer, Dordrecht.
- Wilson, A. E., Sarnelle, O., & Tillmanns, A. R. (2006). Effects of cyanobacterial toxicity and morphology on the population growth of freshwater zooplankton: Meta-analyses of laboratory experiments. *Limnology and Oceanography*, 51(4), 1915-1924.
- Woese, C. (1998). The universal ancestor. *Proceedings of the national academy of Sciences*, 95(12), 6854-6859.
- Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(12), 4576-4579.

- Work, K. A., & Havens, K. E. (2003). Zooplankton grazing on bacteria and cyanobacteria in a eutrophic lake. *Journal of Plankton Research*, 25(10), 1301-1306.
- World Health Organization. (2003). Guidelines for safe recreational water environments: Coastal and fresh waters (Vol. 1). World Health Organization.
- Wörmer, L., Cirés, S., & Quesada, A. (2011). Importance of natural sedimentation in the fate of microcystins. *Chemosphere*, 82(8), 1141-1146.
- Wrona, F. J., Prowse, T. D., Reist, J. D., Hobbie, J. E., Lévesque, L. M., & Vincent, W. F. (2006). Climate change effects on aquatic biota, ecosystem structure and function. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 35(7), 359-369.
- Xie, L., Xie, P., Guo, L., Li, L., Miyabara, Y., & Park, H. D. (2005). Organ distribution and bioaccumulation of microcystins in freshwater fish at different trophic levels from the eutrophic Lake Chaohu, China. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 20(3), 293-300.
- Yadav, S. H. W. E. T. A., Sinha, R. P., Tyagi, M. B., & Kumar, A. (2011). Cyanobacterial secondary metabolites. *Int J Pharm Bio Sci*, 2(1), 144-167.
- Yang, Z., Lü, K., Chen, Y., & Montagnes, D. J. (2012). The interactive effects of ammonia and microcystin on life-history traits of the cladoceran *Daphnia magna*: synergistic or antagonistic?. *PLoS one*, 7(3), e32285.
- Yu, L., Kong, F., Zhang, M., Yang, Z., Shi, X., & Du, M. (2014). The dynamics of *Microcystis* genotypes and microcystin production and associations with environmental factors during blooms in Lake Chaohu, China. *Toxins*, 6(12), 3238-3257.
- Zafar, A. R. (1986). Seasonality of phytoplankton in some South Indian lakes. In *Seasonality of Freshwater Phytoplankton* (pp. 177-187). Springer, Dordrecht.
- Zamora-Barrios, A. C., Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2015). Effect of crude extracts of *Dolichospermum planctonicum* on the demography of *Platyonus patulus* (Rotifera) and *Ceriodaphnia cornuta* (Cladocera). *Ecotoxicology*, 24(1), 85-93.
- Zamora-Barrios, A. C., Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2017). Effect of crude extracts from cyanobacterial blooms in Lake Texcoco (Mexico) on the population growth of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Toxicon*, 139, 45-53.
- Zanchett, G., & Oliveira-Filho, E. C. (2013). Cyanobacteria and cyanotoxins: from impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects. *Toxins*, 5(10), 1896-1917.
- Zhang, D., Xie, P., & Chen, J. (2010). Effects of temperature on the stability of microcystins in muscle of fish and its consequences for food safety. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 84(2), 202-207.
- Zhang, X., & Geng, H. (2012). Effect of *Microcystis aeruginosa* on the rotifer *Brachionus calyciflorus* at different temperatures. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 88(1), 20-24.
- Zhao, H., Zhu, W., Chen, H., Zhou, X., Wang, R., & Li, M. (2016). Numerical simulation of the vertical migration of *Microcystis* (cyanobacteria) colonies based on turbulence drag. *Journal of Limnology*, 76(1).
- Zhao, S., Wang, Y., & Li, D. (2014). Effects of toxic and non-toxic *Microcystis aeruginosa* in different mixtures with *Scenedesmus obliquus* on growth of *Brachionus calyciflorus*. *Journal of Freshwater Ecology*, 29(3), 377-386.



# Bioaccumulation of microcystins in seston, zooplankton and fish: A case study in Lake Zumpango, Mexico<sup>☆</sup>



Cesar Alejandro Zamora-Barrios<sup>a</sup>, S. Nandini<sup>b,\*</sup>, S.S.S. Sarma<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Ciudad Universitaria 3000, C.P. 04510, Coyoacán, Ciudad de México, Mexico

<sup>b</sup> Laboratory of Aquatic Zoology, Division of Research and Postgraduate Studies, National Autonomous University of Mexico, Campus Iztacala, Av. de Los Barrios No. 1, C.P. 54090, Los Reyes, Tlalneapantla, State of Mexico, Mexico

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 8 October 2018

Received in revised form

7 March 2019

Accepted 10 March 2019

Available online 11 March 2019

### Keywords:

Microcystins

Bioaccumulation

*Chirostoma jordani*

*Oreochromis niloticus*

Mexico

## ABSTRACT

Cyanotoxins from toxic blooms in lakes or eutrophic reservoirs are harmful to several organisms including zooplankton, which often act as vectors of these secondary metabolites, because they consume cyanobacteria, bioaccumulate the cyanotoxins and pass them on along the food chain. Microcystins are among the most commonly found cyanotoxins and often cause zooplankton mortality. Although cyanobacterial blooms are common and persistent in Mexican water bodies, information on the bioaccumulation of cyanotoxins is scarce. In this study we present data on the bioaccumulation of cyanotoxins from *Planktothrix agardhii*, *Microcystis* sp., *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Dolichospermum planctonicum* blooms in the seston (suspended particulate matter more than 1.2 μm) by zooplankton and fish (tilapia (*Oreochromis niloticus*) and mesa silverside (*Chirostoma jordani*) samples from Lake Zumpango (Mexico City). The cyanotoxins were extracted from the seston, zooplankton and fish tissue by disintegration using mechanical homogenization and 75% methanol. After extraction, microcystins were measured using an ELISA kit (Envirologix). Concentration of microcystins expressed as equivalents, reached a maximum value of 117 μg g<sup>-1</sup> on sestonic samples; in zooplankton they were in the range of 0.0070–0.29 μg g<sup>-1</sup>. The dominant zooplankton taxa included *Acanthocyclops americanus* copepodites, *Daphnia laevis* and *Bosmina longirostris*. Our results indicate twice the permissible limits of microcystins (0.04 μg kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) for consumption of cyanobacterial products in whole fish tissue of *Chirostoma jordani*. The data have been discussed with emphasis on the importance of regular monitoring of water bodies in Mexico to test the ecotoxicological impacts of cyanobacterial blooms and the risk that consumption of products with microcystins could promote.

© 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

The pioneering studies of Carson (1962) led to a surge in investigation on the adverse effects of bioaccumulation and the biotransfer of toxicants along the food chain or web. As a result of this process, concentrations of chemical substances in the tissues of organisms exceed the levels in the medium, due to uptake by all exposure routes (Ibelings and Chorus, 2007). Several studies indicate that heavy metals, pharmaceutical products and organic compounds easily bioaccumulate in the tissues of fish (Van der Oost et al., 2003; Tanoue et al., 2014). This is a risk to humans since fish is

an important source of protein and part of the staple diet in several countries. Fish, especially omnivorous taxa, accumulate microcystins (MCs) in their tissues through the consumption of cyanobacteria. Contact of epithelial cells (skin and gills) with diluted cyanotoxins in the environment may also result in bioaccumulation although this route is less important since mixis in the lake, adsorption by clay, photolysis and bacterial degradation could reduce the availability of diluted toxins (Ibelings and Chorus, 2007). Another route is via zooplankton, one of the most important links between the primary producers and secondary or tertiary consumers. Thus, zooplankton could be an important vector of cyanotoxins towards higher trophic levels, including humans (Ferrão-Filho et al., 2002; Berry et al., 2011).

Microcystins (MCs) are among the most abundant cyanotoxins in freshwater and brackish water environments, with more than

<sup>☆</sup> This paper has been recommended for acceptance by Dr. Sarah Harmon.

\* Corresponding author.

E-mail address: [nandini@unam.mx](mailto:nandini@unam.mx) (S. Nandini).

240 reported congeners (Spooft and Catherine, 2017). The genus *Microcystis* is the main producer; however, MCs are produced by several planktonic and benthic biofilm-forming genera such as *Anabaena*, *Phormidium*, *Planktothrix*, *Nostoc*, *Limnothrix*, *Anabaenopsis*, *Aphanocapsa*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Fischerella*, *Hapalosiphon*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Rivularia*, *Synechocystis*, and *Synechococcus* (Codd et al., 2005). Despite the limited knowledge on their ecophysiological role, there are environmental factors such as cell growth rate, competition, predation, temperature, salinity, light, water flow and nutrient concentrations, which trigger or stimulate the biosynthesis of these secondary metabolites (Merel et al., 2013).

Once absorbed or consumed, MCs are accumulated in the tissues of aquatic organisms, binding covalently to target molecules such as phosphatase proteins, glutathione or cysteine (Zhang et al., 2010). The MCs have an inhibitory effect on the enzymes serine and threonine, responsible for catalyzing phosphorylation, critical in homeostasis and regulation of cytoskeleton organization in cells (Zanchett and Oliveira-Filho, 2013; Chen et al., 2016). MCs are resistant to degradation, even at temperatures above 300 °C (Wannemacher, 1989). Cooking promotes the bioavailability of MCs in foods by weakening these bonds, thus increasing the risk to human health (Morais et al., 2008; Zhang et al., 2010). Different toxic secondary metabolites produced by cyanobacteria are known to accumulate in the viscera and muscles of *Oreochromis niloticus*, the route to human exposure to cyanotoxins (Guzmán-Guillén et al., 2017). In addition to toxic compounds, fish which have been in contact with cyanobacteria have low nutritional quality and do not taste good, because of the absorption of geosmin and 2-methylisoborneol produced by cyanobacteria (Vallod et al., 2007; Liang et al., 2015). The main symptoms of microcystin poisoning are gastroenteritis, skin irritations, liver diseases including liver necrosis, cancer and eventually death (Fontanillo and Köhn, 2018).

The zooplankton community structure is influenced by several factors, important among them are the quantity and quality of the available food source (Müller-Solger et al., 2002). Bloom forming cyanobacteria are considered to be poor diets for filter feeders (Paes et al., 2016), affecting the energy transfer from primary production towards higher levels. Cladocerans and rotifers compete for food; however, any environmental factor that alters the cladoceran populations more than the rotifers will be reflected in shifts in favor of the latter (Gilbert, 1990). Low densities of large grazers such as cladocerans and high densities of rotifers are common during cyanobacterial blooms (Haney, 1987). There are three main ways in which cyanobacteria affect zooplankton: (1) The production of toxic secondary metabolites, causing lethal or sub-lethal effects when ingested by zooplankton (Tönno et al., 2016) (2) Low nutritional quality, due to their deficiency in fatty acids such as EPA, DHA, Omega 3, vital to regulate their cellular functions (Gulati and Demott, 1997; Müller-Navarra et al., 2000) and (3) Colonies or filament aggregates, turn cyanobacteria into inedible particles due to their large size which promotes clogging of food collecting appendages (Gliwicz and Lampert, 1990).

Mexico has an annual fish production of 1.7 million tons from the fishing and aquaculture sectors; and the average of consumption per person is around 12 kg year<sup>-1</sup> (CONAPESCA, 2016). Carps and Tilapia, the most commonly produced fish in aquaculture practices globally, feed on phytoplankton including cyanobacteria and detritus (Jhingran, 1995). The tropical omnivorous species *Oreochromis niloticus*, constitutes up to 80% of the total production (FAO, 2010). This species was introduced in Mexico in 1964 and currently, close to 128 thousand tons for human consumption (SAGARPA, 2016) are produced annually. *Oreochromis niloticus* has the capacity to ingest and digest toxic cyanobacteria (Semyalo et al., 2010). It has even been suggested for use in bioremediation due to

its capacity to reduce harmful algal populations (Lu et al., 2006). Nevertheless, omnivorous fish can also promote cyanobacterial blooms by altering the trophic state of the systems, removing sediments while searching for food and thus releasing nutrients in the water column through bioturbation (Cline et al., 1994; Adámek and Maršálek, 2013), or by ichthyoeutrophication through ingestion, digestion and excretion of macrophytes (Opuszyński, 1980).

*Chirostoma*, commonly known as the silverside, is found mainly Central Mexico. This genus has about 25 endemic species (Navarrete-Salgado, 2017). *Chirostoma jordani* has been widely consumed since pre-Hispanic times, and due to its high protein content (74% g/100 g), minerals, lipids and carbohydrates, it is considered as a high nutritional value food (Melo-Ruiz et al., 2014). *Chirostoma* adults (>5 cm) are marketed dried or fresh. The maximum production of silverside or “charal” was reached in 2016 (>12 thousand tons) (Navarrete-Salgado, 2017). This was from capture from lakes with high densities of cyanobacteria (Dzul-Caamal et al., 2014). *Chirostoma* is also common in Lake Zumpango and forms an important part of the diet of local communities around the lake.

Lake Zumpango in the State of Mexico, our study site, provides water for irrigation and fish, mostly *Tilapia* and *Chirostoma*, production. The aim of this work was to evaluate the seasonal changes in microcystin production over a year, and accumulation in two trophic levels, the primary and secondary consumers in Lake Zumpango. Chronic exposure to microcystins which are known to bioaccumulate in aquatic produce and cultivated crops is a health concern. We also present information about how changes in microcystin concentrations affect abundances of the dominant zooplankton taxa and shifts in zooplankton community structure.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study area

The shallow lake (1.2–3.8 m) of Zumpango is located between the municipalities Zumpango de Ocampo and Teoloyucan, both in the State of Mexico at 19° 48' N and 99° 06' W (Fig. 1). It is a high altitude reservoir (2250 m above sea level), with a water storage capacity of 100 × 10<sup>6</sup> m<sup>3</sup> and an area of 20 km<sup>2</sup>. Together with Xochimilco, Texcoco, Chalco and Xaltocán, Zumpango once formed part of the ancient lacustrine system in Mexico City. Ever since 1976, this lake is being refilled with partially treated waste water from the Santo Tomás Canal and Cuautitlán River. Nowadays, water from this lake is used for irrigation, fishing (*Oreochromis niloticus* and *Chirostoma jordani*) and for recreation. A persistent cyanobacterial bloom exists throughout the year, dominated mainly by *Planktothrix*. Vasconcelos et al. (2010) report that 97% of the phytoplankton is represented by high densities of cyanobacteria (1.4 × 10<sup>6</sup> cells ml<sup>-1</sup>) with genes involved in microcystin production (*mcyA*, *mcyB*, *mcyE* and *mcyE/ndaf*), with microcystin concentrations > 60 µg L<sup>-1</sup> in the cells). We present here information on bioaccumulation in samples of fish collected from site 1 (Fig. 1) where an aquaculture farm is being planned by the government for the local population. In all, we had 63 samples over a period of one year (12 water samples, 12 seston samples, 9 individuals of tilapia and 30 individuals of the mesa silverside).

The following physical and chemical variables were measured: dissolved oxygen using an YSI 55 oxygen meter, water temperature, pH and conductivity using a Conductronic meter, bicarbonates, hardness and chlorophyll a following standard techniques (Clesceri et al., 1998) and nitrogen and phosphorus using a YSI 9000 kit.

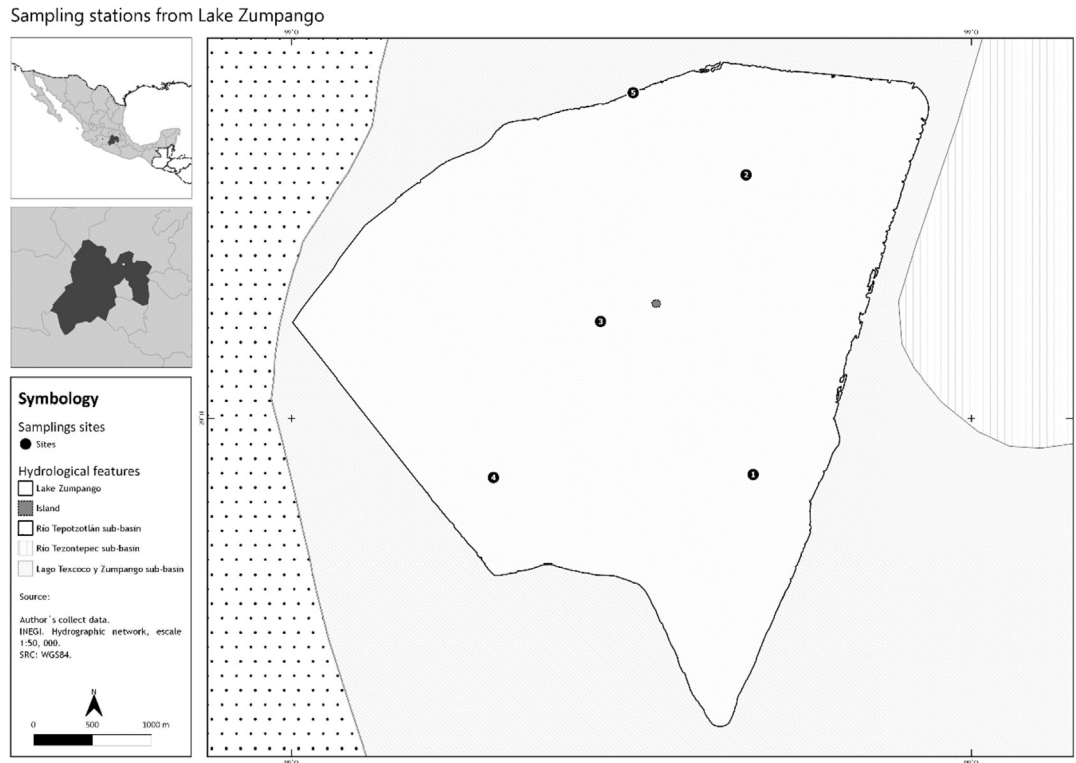


Fig. 1. Map of the study site, Lake Zumpango. Arrow points north.

## 2.2. Estimation of the concentration of microcystins in the seston and water

To analyze diluted and particulate microcystin concentrations in the seston and water, we collected 1 L of surface water every month (April 2016–March 2017) from Lake Zumpango. The samples were stored in dark bottles to prevent cyanotoxin degradation and a subsample was immediately preserved in 3% formalin to identify and quantify the cyanobacteria. Samples (revised to remove large particles such as zooplankton) were filtered through pre-weighed and dried GF/C filters (pore opening 1.2  $\mu\text{m}$ ). Microcystins from particulate samples were extracted from the filters (dried for 24 h at 45 °C) using 75% methanol after which they were mechanically homogenized and sonicated for 10 min at 20 kHz (Model: CP 130PB-1, Cole-Palmer Instruments). The organic solvent was then eliminated by evaporation (Rotary evaporator) and the extract was suspended in distilled water, centrifuged and filtered. Both, microcystins in water and that extracted from the cells were measured by immunochemical ELISA kits with a detection range from 0.16 to 2.5 ppb following Fastner et al. (1998) with modifications. Microcystins contained in cells are reported as  $\mu\text{g g}^{-1}$  (Ferrão-Filho et al., 2002):

Content in seston  $\mu\text{g g}^{-1}$  = (MCs extracted  $\mu\text{g L}^{-1}$ )/(Weight of seston  $\text{g L}^{-1}$ )

## 2.3. Bioaccumulation in Zooplankton

Microcystins were extracted from zooplankton samples collected monthly from April 2016 to March 2017. Lake surface water (600 L) (50 cm of the water column) was filtered through a plankton net of 50  $\mu\text{m}$  mesh size, a subsample was concentrated to

50 ml and fixed in 4% formalin for identification and quantification. To avoid contamination or overestimation of microcystin concentrations due to the presence of phytoplankton, the collected zooplankton was filtered and washed repeatedly with distilled water using a 250  $\mu\text{m}$  mesh and observed under a stereoscopic microscope (Nikon SMZ 645) until the sample was free of any cyanobacteria. Finally, zooplankton was placed in EPA medium (Environmental Protection Agency moderately hard water) and maintained for 1.5 h to allow cyanobacteria excretion from gut. The zooplankton biomass was passed onto a pre-weighed glass fiber filter (GF/C) and kept in an oven for 24 h at 45 °C to dry. Microcystin extraction from the tissues in the filters were carried out adding 20 ml of 75% methanol, mechanically homogenizing using a homogenizer (IKA, Ultra-Turrax) for 10 min and then centrifuged at 3000 rpm to eliminate debris (El Ghazali et al., 2010). To remove the solvent, the supernatant was placed into rotary evaporator at 50 °C (the process was repeated three times), the extract was re-suspended in distilled water and the microcystin concentrations were quantified using ELISA kits (Enviroligix).

## 2.4. Density and identification of zooplankton

For identification of zooplankton we used specialized keys (Korovochinsky and Smirnov, 1998; Dussart and Defaye, 2001). Quantitative analysis of the zooplankton was carried out using a counting cell chamber of clear glass, transected with 20 ml of capacity. Three aliquots of 5 mL for each sample were analyzed using a stereoscopic microscope at 40  $\times$  magnification.

## 2.5. Bioaccumulation in fish

Common Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and mesa silverside (*Chirostoma jordani*) fish (species consumed locally in small markets around the lake) were captured with a cast net and kept at

$4 \pm 1$  °C) until transported to the laboratory, where the size and weight of the organisms were recorded. Microcystins accumulated in tissues of Tilapia were extracted from the pre-weighed livers, kidneys, intestines and muscles of nine fish captured in April, October and February (three per month), and 30 mesa silverside caught in April, June, August, October, December and February (five per month). This was done using 75% methanol for extraction and mechanical homogenization for 30 min. Tissues were centrifuged at 3000 rpm for 15 min, and the resulting supernatant was passed through GF/C filters. The filtrate was placed into a rotary evaporator set at 45 °C (repeated 3 times, decanting each time in the same flask). The extract was suspended in distilled water, centrifuged and filtered for a second time to completely eliminate the particulate matter. Microcystin concentrations were quantified using the ELISA immunological kit (EL Ghazali et al., 2010). Accumulated microcystins in zooplankton and fish were reported as  $\mu\text{g g}^{-1}$  and  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ .

*Microcystis* bloom in October. The Secchi depth value was about 25 cm during the study period which is 10% of the total depth (~200 cm).

The phytoplankton was dominated by *Planktothrix agardhii*, *Microcystis* sp., *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Dolichospermum planctonicum* (Table 1), and the zooplankton by *Acanthocyclops americanus* copepodites, *Daphnia laevis* and *Bosmina longirostris* (Fig. 2). The lake had more than 20 species of rotifers, five of cladocerans and two copepods. The highest zooplankton density of *Daphnia laevis* ( $>560$  Ind  $\text{L}^{-1}$ ) was observed in May.

During the study period the dominant zooplankton taxa were copepods and cladocerans; *D. laevis* and *Acanthocyclops* were present throughout the year (Fig. 2). Adult *Acanthocyclops* densities were between 2 and 5 Ind  $\text{L}^{-1}$  during most months; on the other hand, the density of the calanoid, *Mastigodiatomus* peaked in October but was less than 1 Ind  $\text{L}^{-1}$  during the rest of the year.

$$\text{Content in tissue in ng/g} = \frac{(\text{MCs extracted ng/ml}) \times (\text{Extracted volumen ml})}{(\text{Weight of tissue g})}$$

## 2.6. Statistical analyses

Sigma Plot 11. Were used to analyze statistically Pearson's correlation to detect relations among measured variables.

## 3. Results

### 3.1. Physico-chemical characteristics and species abundances

The physical and chemical variables during the study period were as follows: the dissolved oxygen concentrations ranged from 3.5 to 11.7  $\text{mg L}^{-1}$ ; for 9 of the 12 months the water was well saturated with concentrations above 8  $\text{mg L}^{-1}$ . Water temperature ranged from 16 to 24 °C with a mean of 20.3 °C. The pH was alkaline during the entire period (8.5–9.8). Range of conductivity was from 415 to 631  $\mu\text{S cm}^{-1}$  with a single peak of 810  $\mu\text{S cm}^{-1}$  in January. Bicarbonates ranged between 70 and 197  $\text{mg L}^{-1}$  and hardness between 88 and 160  $\text{mg L}^{-1}$ , except in October and November. Lake Zumpango is hypertrophic with total dissolved phosphate levels from 0.85 to 3  $\text{mg L}^{-1}$  and nitrate concentrations between 9 and 28  $\text{mg L}^{-1}$ ; the latter was less than 5  $\text{mg L}^{-1}$  only in April, August and October. In accordance with the high levels of nutrients (TN/TP = 0.53–15.88 with a mean of 4.77), the primary production was also very high; chlorophyll a was between 48 and 537  $\mu\text{g L}^{-1}$  with an exceptionally high value of 1462  $\mu\text{g L}^{-1}$  with a

*Moina macrocopa* densities were between 2 and 5 Ind  $\text{L}^{-1}$  during most of the year whereas *Ceriodaphnia dubia* reached its highest density (15 Ind  $\text{L}^{-1}$ ) in November and December but was less than 1 Ind  $\text{L}^{-1}$  during the rest of the period. *Daphnia* also reached very high densities (100–600 Ind  $\text{L}^{-1}$ ) in May and then from October to March.

With regard to the total abundances, *Acanthocyclops americanus* copepodites dominated the system, followed by *Daphnia laevis* and *Bosmina longirostris*. The highest abundance of zooplankton (968 Ind  $\text{L}^{-1}$ ) was found in May. In August there was a drastic decrease of organisms in the lake, below 1 Ind  $\text{L}^{-1}$ . High densities of *Acanthocyclops americanus* copepodites were observed in May (307) and March (450 Ind  $\text{L}^{-1}$ ); *Bosmina longirostris* was most abundant in October (250 Ind  $\text{L}^{-1}$ ).

### 3.2. Concentration of microcystins

Concentrations of microcystin equivalents were recorded in all samples ( $n = 63$ ). In spite of the high concentrations of cyanotoxins, we found a decrease in the concentration at higher trophic levels (seston > zooplankton > fish).

The concentrations of microcystin equivalents in Lake Zumpango, over the year, ranged from 0.10 to 1.4  $\mu\text{g L}^{-1}$ . The concentrations of these secondary metabolites were highest in the end of raining season in October (1.48  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), and the lowest

**Table 1**  
Cyanobacterial abundance (ind.  $\text{ml}^{-1}$ ) in Lake Zumpango over one year (April 2016 to March 2017). \* Single cells.

Species	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar
<i>Planktothrix</i> sp.	32,355	36,735	33,975	26,280	15,236	18,135	17,910	24,045	18,135	24,720	25,035	16,365
<i>Microcystis</i> sp.	165	162	225	195	540	195	26,940	2,445	2,610	2,115	120	105
							$18.83 \times 10^6$ *					
<i>Aphanizomenon</i> sp.	30	2,295	1,995	1,7580	7,095	2,910	1,380	255	75	255	1,035	975
<i>Cylindrospermopsis</i> sp.	302	390	16,650	32,040	521	75						30
<i>Pseudoanabaena mucicola</i>		60	150.3	2,220	330	75						
<i>Dolichospermum planctonicum</i>				45	63			105	30	60		
<i>Dolichospermum</i> sp.	1005	330	285	15	63	555					33	195
<i>Raphidiopsis</i> sp.			330	360	49.5	30				90.6		
<i>Anabaenopsis elenkinii</i>			54									
<i>Merismopedia</i> sp.						32			14			



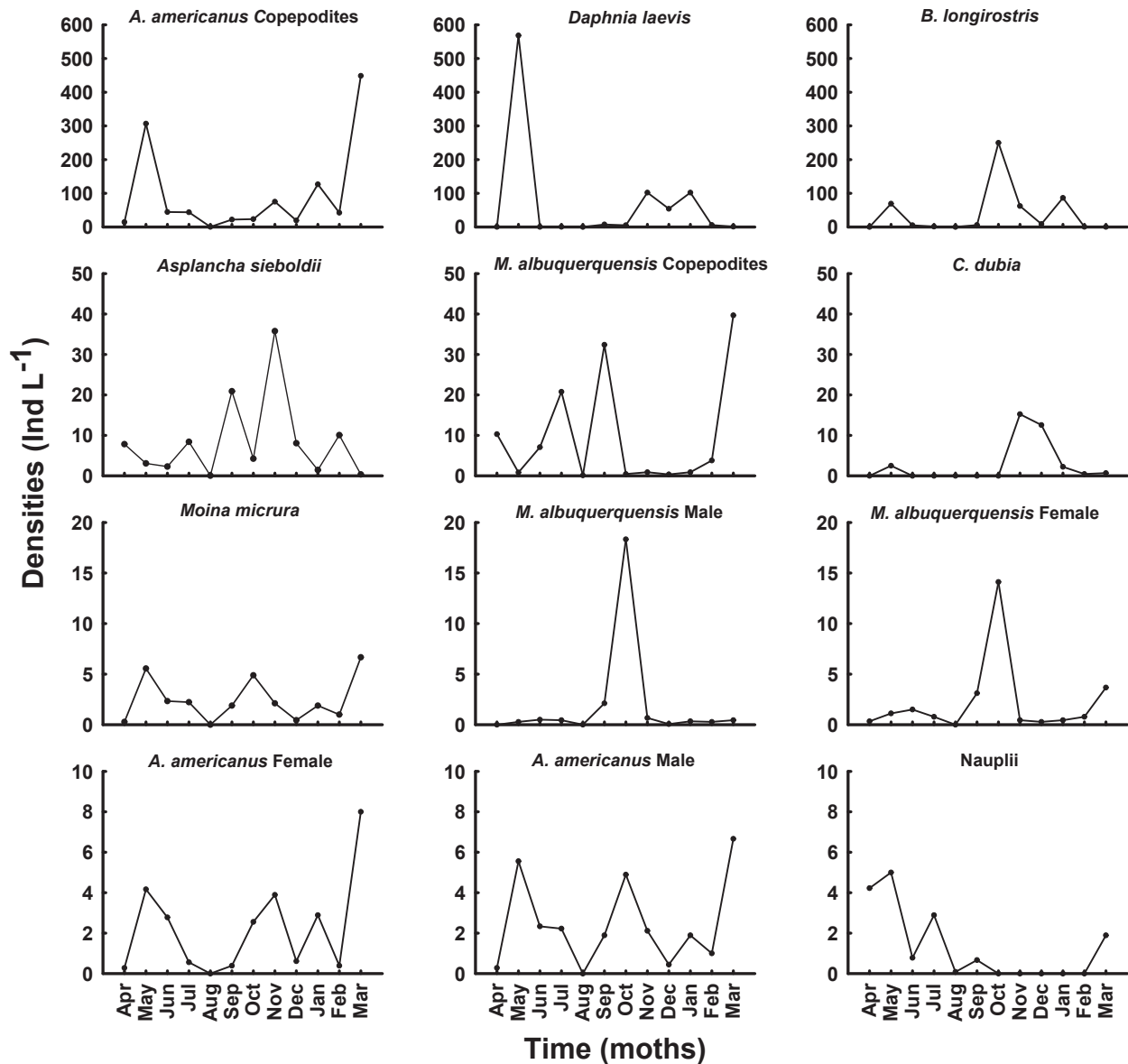


Fig. 2. Population densities of selected zooplankton taxa during the study period.

concentration of these toxic compounds ( $0.10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) was observed in June. On an average, the annual concentration was  $0.33 \mu\text{g L}^{-1}$ . The highest level of microcystin in the seston was found in October and December ( $34.13$  and  $27.13 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectively). During the rest of the study period the concentrations were  $< 20 \mu\text{g L}^{-1}$ . From February to September there was a lower production of cyanotoxins (average  $3.15 \mu\text{g L}^{-1}$ ) than from October to January (Fig. 3).

The highest concentration of microcystins accumulated by the zooplankton was associated with the lowest total abundance and vice-versa, although the correlation was not statistically significant ( $P = -0.435$ ) (Fig. 4). The accumulation of cyanotoxins was lowest in May ( $0.070 \mu\text{g g}^{-1}$ ), the month with the highest zooplankton abundance ( $968 \text{ Ind L}^{-1}$ ). Highest accumulation in the zooplankton was in October and December ( $0.29$  and  $0.28 \mu\text{g g}^{-1}$ ), but the total zooplankton abundance was  $< 300$  and  $105 \text{ Ind L}^{-1}$ , respectively. There was an annual average accumulation of  $0.15 \mu\text{g g}^{-1}$  in the zooplankton, which could move to the next trophic level. There was a positive correlation between microcystin accumulated in the seston with the content in zooplankton both tending to increase

together ( $P = 0.01$ ).

We found an accumulation of cyanotoxins in the different organs and tissues of *Oreochromis niloticus*. The highest microcystin concentrations were detected in the liver ( $9.6 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) followed by the intestine of the fish ( $6.0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) (Fig. 5).

In *Chirostoma jordani*, microcystin concentrations in the whole body ranged from  $5.05$  to  $24.02 \mu\text{g kg}^{-1}$  dry weight (DW) or  $1.5$ – $7.27 \mu\text{g kg}^{-1}$  wet weight (WW). The concentration of these secondary metabolites was highest in October and December with an average of  $6.65$  and  $7.22 \mu\text{g kg}^{-1}$  DW or  $0.076$  and  $0.059 \mu\text{g kg}^{-1}$  WW, respectively (Fig. 6). From April to August there was a decrease in the accumulated cyanotoxin concentrations which ranged from  $2.53$  to  $3.72$  DW. All the fish analyzed had concentrations above the maximum permissible limit.

#### 4. Discussion

The concentrations of microcystins in the lake water ranged from  $0.1$  to  $1.4 \mu\text{g L}^{-1}$ ; especially in October when the values did

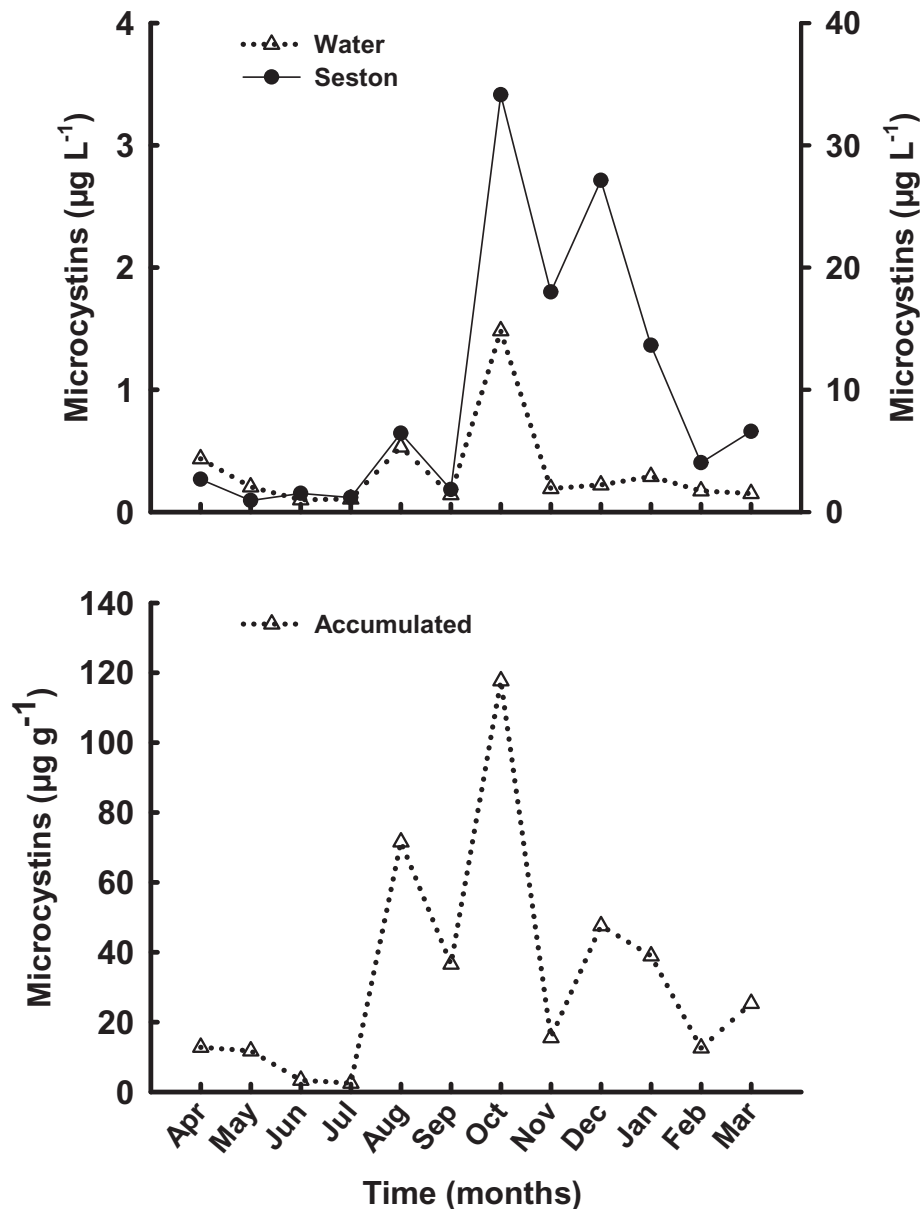


Fig. 3. Microcystin concentrations, diluted in water (solid line and triangles) and seston (dotted line and circles) from Lake Zumpango, over a one year.

exceed the  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  limit established by WHO for drinking water, and were in the range observed in other Mexican water bodies such as Lake Texcoco ( $0.20\text{--}2.4 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (Zamora-Barríos et al., 2017), Valle de Bravo Reservoir ( $0.5\text{--}5.56 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (Alillo-Sánchez et al., 2014) and Lake Pátzcuaro ( $0.16\text{--}0.19 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (Berry et al., 2011). Lethal doses for small mammals, reported by Falconer (2005), are higher than lethal concentrations. For example, when orally administered, microcystin at dose of  $5 \text{mg kg}^{-1}$  causes 50% mortality to rodents (Falconer, 2005). On the other hand, daily intake of microcystin at  $0.04 \mu\text{g kg}^{-1}$  is tolerable to humans as set by the World Health Organization. We have used lethal concentrations here, since we are not sure of the actual intake of toxins by aquatic organisms.

The concentrations of microcystins in the seston and dissolved in the water in this study are positively related, both increased together. This was also found by Romo et al. (2012), where in this relationship, the seston had up to a ten-fold higher microcystin concentration than the water. With the exception of

*Cylindrospermopsis raciborskii*, which has the capability to exude secondary metabolites (Figueredo et al., 2007), this is due to the fact, that cyanotoxins are endotoxins and are only released when the cell membrane is ruptured. However, even during the exponential growth phase, lysis has been documented due to decomposition (Watanabe et al., 1992). Chemical contaminants also promote the release of cyanotoxins from cells (Dai et al., 2016).

Particulate fractions were found in the range of  $0.94\text{--}34.13 \mu\text{g L}^{-1}$ , with an accumulation in seston ranging from  $2.51$  to  $117.68 \mu\text{g g}^{-1}$  DW. These concentrations are lower compared to those reported by Ferrão-Filho et al. (2002), in two stations of Jacarepagua Lagoon, where they found concentrations ranging from undetectable to  $>120 \mu\text{g L}^{-1}$  with accumulation values from undetectable to  $0.0058 \mu\text{g g}^{-1}$ . Microcystins detected in seston from Mexican water bodies range from  $4.9$  to  $78 \mu\text{g L}^{-1}$  (Vasconcelos et al., 2010). In the seston of Lake Zumpango the concentration was  $62.4 \mu\text{g L}^{-1}$ , 46% more than the highest concentration detected during their study in Lake Zumpango by Vasconcelos et al. (2010).

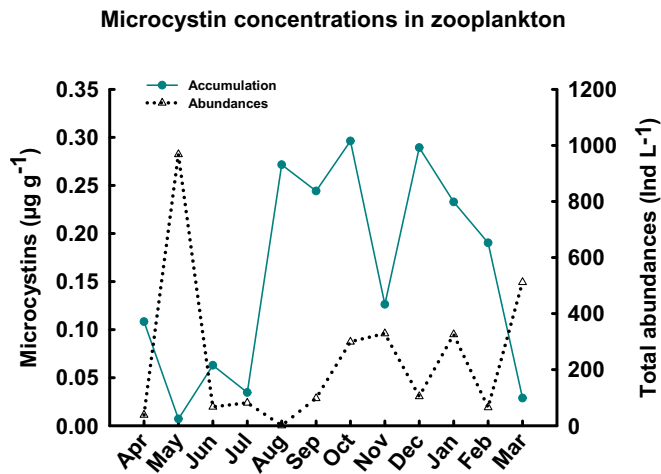


Fig. 4. Annual concentrations of accumulated microcystins by zooplankton against total abundances.

Zooplankton often act as vectors since during blooms they are forced to consume toxic cyanobacteria, encapsulating the cyanotoxins which then reach higher trophic levels (Sotton et al., 2014). Zooplankton often have the highest concentrations of cyanotoxins in relation to their biomass ( $>1300 \mu\text{g g}^{-1}$ ) (Ibelings et al., 2005) and the only group where biomagnification has been clearly demonstrated (Kozłowski-Suzuki et al., 2012). The microcystin concentrations contained in the zooplankton from Zumpango ( $0.007\text{--}0.3 \mu\text{g g}^{-1}$ ) were orders of magnitude lower than the average value of  $383 \mu\text{g g}^{-1}$  reported by Ferrão-Filho and Kozłowski-Suzuki (2011) and Pham and Utsumi (2018). This is probably due to the fact that the aforementioned studies included large ( $>3.5 \text{ mm}$ ), generalist, filter feeders such as *Daphnia* while in Lake Zumpango, the average body size of the cladocerans is  $< 1 \text{ mm}$  and these species do not feed well on cyanobacteria (Tønno et al., 2016).

The main zooplankton contributing to the total abundance were *Acanthocyclops americanus* copepodites, *Daphnia laevis* and *Bosmina longirostris*. The first two taxa have a high production of antioxidant enzymes such as glutathione-s-transferase and catalases, increasing their detoxification capacity of cyanotoxins (Kozłowski-Suzuki et al., 2009, Ferrão-Filho et al., 2017). Further studies are needed to explain the sensitivities of different zooplankton species to cyanotoxins; *Simocephalus* sp., *Moina macrocopa* and ostracods often tolerate these metabolites better (Nandini and Rao, 1998; Fernandez et al., 2016) than several other species. Agrawal et al. (2001) have shown that the sensitivity of *Moina macrocopa* to microcystins is due to an inhibition of proteases; it is likely that differences in the sensitivity of cladocerans is directly related to the effect of microcystins on enzymatic activities in cladocerans. *Daphnia laevis*, as shown in field observations and laboratory experiments, is capable of coexisting with *Microcystis* sp., although the poor nutritional quality of this diet results in poor reproduction and fluctuating populations (Nandini et al., 2000; Pinto-Coelho et al., 2003). It has been suggested that the ability of *Bosmina* to withstand cyanobacteria is due to their ability to feed selectively and thus eliminate toxic cyanobacteria from their diet (DeMott, 1986).

In general, the bioaccumulation pattern in fish depends on their mode of feeding as follows zooplanktivores  $<$  carnivores  $<$  phytoplanktivores  $<$  omnivores (Kozłowski-Suzuki et al., 2012). Here too we observed similar trends, in that the omnivorous *Oreochromis* had lower levels of microcystins than the zooplanktivorous *Chirostoma*. Most studies show that bioaccumulation

## *Oreochromis niloticus*

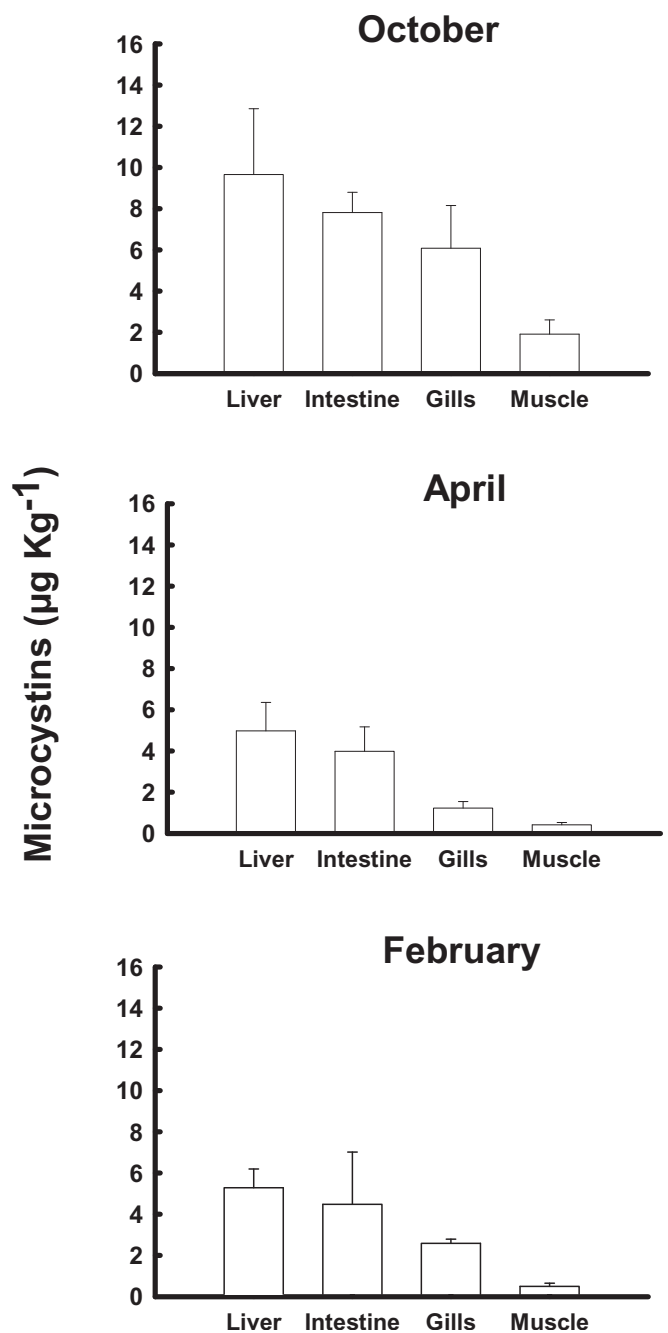


Fig. 5. Microcystin concentrations in tissue (muscle) and organs (liver, intestine and gills) of *Oreochromis niloticus*, in April, October and February months.

is more in the viscera and liver as compared with the muscle (Romo et al., 2012) while others indicate the opposite trends (Hauser-Davis et al., 2015). Here we found that the concentration of microcystins was lowest in the muscle; the liver had around  $12.5\% (\mu\text{g Kg}^{-1})$  more and the intestines,  $6.5\% (\mu\text{g Kg}^{-1})$  in *Oreochromis*. Palikova et al. (2011) show that *Oreochromis niloticus* accumulated up to  $350 \mu\text{g kg}^{-1}$  of microcystins in the hepatopancreas and unlike the carps which can eliminate all the cyanotoxins after 2 weeks (Adamovský et al., 2007), and thus they do not thereby increase the risk to consumers. The concentrations detected in muscle in various

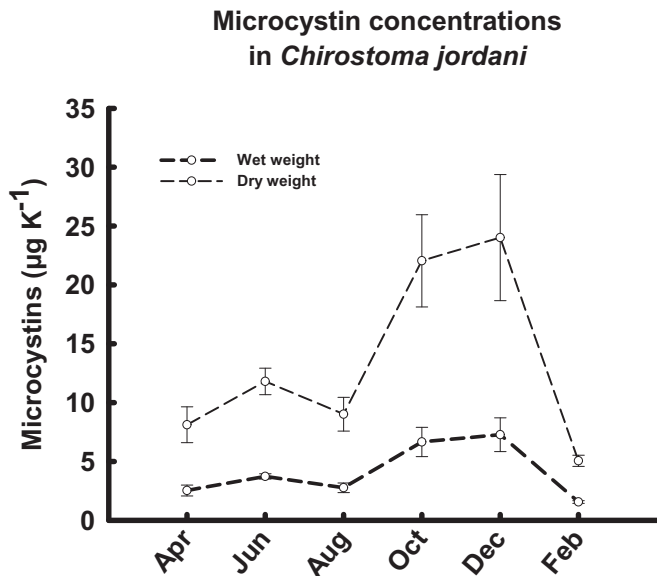


Fig. 6. Concentrations of microcystins accumulated in whole body in *Chirostoma jordani* from Lake Zumpango.

studies are in a range of  $0.065 \mu\text{g kg}^{-1}$  (Prieto et al., 2007) to  $102 \mu\text{g kg}^{-1}$  (Mohamed et al., 2003). In the fish we evaluated in February and April, the concentrations in this edible tissue are  $0.42$  and  $0.49 \mu\text{g kg}^{-1}$ , which could be related to the low concentration of microcystins in the seston during this season.

Even a low concentration and accumulation of microcystins can have an adverse effect on humans and animals. The main symptoms of microcystin poisoning are gastroenteritis, irritations, liver diseases including liver necrosis, cancer and eventually death (Fontanillo and Köhn, 2018). Avoiding the consumption of liver and other viscera of fish does help but not cooking the fish muscle. MCs are stable molecules even at high temperatures (above  $300^\circ\text{C}$ ) (Wannemacher, 1989). In the case of *Oreochromis niloticus* it has been shown that the cooked tissues reduce microcystin concentrations by 25% in microwaves and 50% by boiling, for a period of 5 min. However, when fish tissues are boiled, microcystins are transferred to the water (Guzmán-Guillén et al., 2011) and there is a weakening of the covalent bonds in the target molecules such as the phosphatase proteins, Glutathion or Cysteine (Zhang et al., 2010), and an increased risk to human health (Morais et al., 2008; Zhang et al., 2010). In addition to toxic compounds, fish which have been in contact with cyanobacteria have low nutritional quality and do not taste good as do fish in contact with sediments, because of Geosmin and 2-Methylisoborneol production (Vallod et al., 2007; Varga et al., 2015; Liang et al., 2015).

The aetherinid, *Chirostoma* is endemic to the central region of Mexico. It has a great cultural importance in the diet of Mexicans. *Chirostoma* sp. from Lake Pátzcuaro, accumulated MCs at concentrations  $<18 \mu\text{g kg}^{-1}$  DW (Berry et al., 2011). This is the first report on MCs in *Chirostoma jordani*, with the highest concentrations between  $22$  and  $24 \mu\text{g kg}^{-1}$  DW in October to December, after the rains and a decomposition of the *Microcystis* blooms. It is evident that unlike certain other fish taxa, *Chirostoma* does not have good detoxification capacity of MCs. Jia et al. (2014) show that small-sized fish tend to accumulate greater concentration of microcystins in their kidney or heart, because biotransformation and excretion is not as developed, compared to large fish.

In order to protect consumers, WHO (1998) has established a

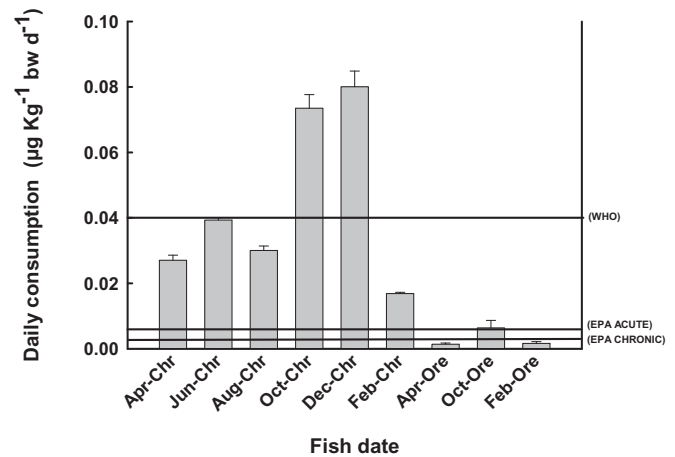


Fig. 7. Permitted consumption of microcystins in relation to concentrations in fish, *Chirostoma* (Chr) and *Oreochromis* (Ore).

TDI value of  $0.04 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  for products exposed to microcystins-LR (Chorus and Bartram, 1999), according to the regulations of the Environmental Protection Agency (EPA) the permissible limits are more than an order of magnitude lower; chronic consumption ( $0.003 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) or occasional consumption ( $0.006 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) (Catherine et al., 2017) (Fig. 7). Assuming that a person (60 Kg), consumes about 200 g (DW) of *Chirostoma* daily especially from October to December, the average daily consumption is 1.8 and 2.0 times higher than the TDI value. However, considering the average weight of a child, between 2 and 5 years of age (13.77 Kg WHO, 2018) and a consumption of 1/4 (50 g) of an adult, the risk is even greater. At these permissible limits consuming *Chirostoma jordani* is a risk throughout the year but *Oreochromis niloticus* only in winter. We found that microcystins do bioaccumulate in the tissue of fish collected from Lake Zumpango, mostly in the liver and intestine. The levels are above the permissible limits in *Chirostoma jordani*, which is consumed whole, than in *Oreochromis niloticus* where only the muscular tissue is eaten.

## 5. Conclusions

Our study clearly indicates that high densities of *Microcystis*, and perhaps other cyanobacterial blooms result in high concentrations of microcystins in the lake ecosystem and thereafter in the zooplankton and fish. This poses a risk to the local community which consumes small species such as *Chirostoma* whole and raw (dried). Larger species, especially tilapia is not much affected and is a better dietary option, although local populations prefer *Chirostoma*. Since aquaculture products are an important source of protein in Mexico and many waterbodies harbour high densities of cyanobacteria, we would like to emphasize the urgency to conduct similar studies in other states in Mexico.

## Acknowledgements

The first author thanks Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología (UNAM) and CONACyT (189194) for financial support. SN and SSSS thank PAPIIT (UNAM) (219218) for a research grant and CONACyT (20520 and 18723) for financial assistance. We thank three anonymous reviewers whose constructive criticism helped improve the manuscript. Mónica Chico Avelino and Sarai M. Zamora Barríos helped prepare the map of Zumpango Lake and the graphical abstract, respectively. We thank Marcelo Silva-Briano for confirming the identification of *Daphnia laevis*.

## References

- Adámek, Z., Marsálek, B., 2013. Bioturbation of sediments by benthic macroinvertebrates and fish and its implication for pond ecosystems: a review. *Aquacult. Int.* 21, 1–17. <https://doi.org/10.1007/s10499-012-9527-3>.
- Adamovský, O., Kopp, R., Hilscherová, K., Babica, P., Palíková, M., Pašková, V., Navrátil, S., Marsálek, B., Bláha, L., 2007. Microcystin kinetics (bioaccumulation and elimination) and biochemical responses in common carp (*Cyprinus carpio*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) exposed to toxic cyanobacterial blooms. *Environ. Toxicol. Chem.* 26, 2687–2693. <https://doi.org/10.1897/07-213.1>.
- Agrawal, M.K., Bagchi, D., Bagchi, S.N., 2001. Acute inhibition of protease and suppression of growth in zooplankton, *Moina macrocopa*, by *Microcystis* blooms collected in Central India. *Hydrobiologia* 464, 37–44. <https://doi.org/10.1023/A:1013946514556>.
- Alillo-Sánchez, J.L., Gaytán-Herrera, M.L., Martínez-Almeida, V.M., Ramírez-García, P., 2014. Microcystin-LR equivalents and their correlation with *Anabaena* spp. in the main reservoir of a hydraulic system of Central Mexico. *Inland Waters* 4, 327–336. <https://doi.org/10.5268/1W-4.3.573>.
- Berry, J.P., Lee, E., Walton, K., Wilson, A.E., Bernal-Brooks, F., 2011. Bioaccumulation of microcystins by fish associated with a persistent cyanobacterial bloom in Lago de Patcuaro (Michoacan, Mexico). *Environ. Toxicol. Chem.* 30, 1621–1628. <https://doi.org/10.1002/etc.548>.
- Carson, R., 1962. *Silent Spring*. Houghton Mifflin Harcourt.
- Catherine, A., Bernard, C., Spool, L., Bruno, M., 2017. Microcystins and nodularins. In: Meriluoto, J., Spoof, L., Codd, G.A. (Eds.), *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*. John Wiley & Sons, Ltd., Hoboken, pp. 107–126.
- Chen, L., Chen, J., Zhang, X., Xie, P., 2016. A review of reproductive toxicity of microcystins. *J. Hazard Mater.* 301, 381–399. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.08.041>.
- Chorus, I., Bartram, J., 1999. *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. E & FN Spon, London.
- Cline, J.M., East, T.L., Threlkeld, S.T., 1994. Fish interactions with the sediment-water interface. In: Mortensen, E., Jeppesen, E., Søndergaard, M., Nielsen, L.K. (Eds.), *Nutrient Dynamics and Biological Structure in Shallow Freshwater and Brackish Lakes*. Developments in Hydrobiology. Springer, Dordrecht, pp. 301–311.
- Clesceri, I., Greenberg, A., Eaton, A.D., 1998. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, twentieth ed. American Public Health Association, Washington.
- Codd, G.A., Morrison, L.F., Metcalf, J.S., 2005. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 203, 264–272. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.02.016>.
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, 2016. Consumo per cápita anual de pescados y mariscos llega a 12 Kg. CONAPESCA. <https://www.gob.mx/conapescaprensa/consumo-per-capita-anual-de-pescados-y-mariscos-llega-a-12-kg-conapescap>. (Accessed 10 August 2018).
- Dai, R., Wang, P., Jia, P., Zhang, Y., Chu, X., Wang, Y., 2016. A review on factors affecting microcystins production by algae in aquatic environments. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 32, 51. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-2003-2>.
- DeMott, W.R., 1986. The role of taste in food selection by freshwater zooplankton. *Oecologia* 69, 334–340. <https://doi.org/10.1007/BF00377053>.
- Dussart, B.H., Defaye, D., 2001. *Introduction to the Copepoda (Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World)*, second ed. Backhuys publishers, Leiden.
- Dzul-Caamal, R., Domínguez-López, M.L., Olivares-Rubio, H.F., García-Latorre, E., Vega-López, A., 2014. The relationship between the bioactivation and detoxification of diazoin and chlorpyrifos, and the inhibition of acetylcholinesterase activity in *Chirotoma jordani* from three lakes with low to high organophosphate pesticides contamination. *Ecotoxicology* 23, 779–790. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1216-8>.
- El Ghazali, I., Saqrane, S., Carvalho, A.P., Ouahid, Y., Del Campo, F.F., Vasconcelos, V., Oudra, B., 2010. Effects of the microcystin profile of a cyanobacterial bloom on growth and toxin accumulation in common carp *Cyprinus carpio* larvae. *J. Fish Biol.* 76, 1415–1430. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2010.02572.x>.
- Falconer, I.R., 2005. *Cyanobacterial Toxins of Drinking Water Supplies. Cylindrospermopsins and Microcystins*. CRC Press, London.
- Fastner, J., Flieger, I., Neumann, U., 1998. Optimised extraction of microcystins from field samples—a comparison of different solvents and procedures. *Water Res.* 32, 3177–3181. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00073-6](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00073-6).
- Fernandez, R., Nandini, S., Nandini, S.S.S., Castellanos-Páez, M.E., 2016. Demographic responses of *Heterocypris incongruens* (Ostracoda) related to stress factors of competition, predation and food. *J. Limnol.* 75. <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2016.1367>.
- Ferrão-Filho, A.D.S., de Silva, D.A., Oliveira, T.A., Magalhães, V.F., Pflugmacher, S., Silva, E.M., 2017. Single and combined effects of microcystin and saxitoxin-producing cyanobacteria on the fitness and antioxidant defenses of cladocerans. *Environ. Toxicol. Chem.* 36, 2689–2697. <https://doi.org/10.1002/etc.3819>.
- Ferrão-Filho, A.D.S., Kozłowsky-Suzuki, B., 2011. Cyanotoxins: bioaccumulation and effects on aquatic animals. *Mar. Drugs* 9, 2729–2772. <https://doi.org/10.3390/md9122729>.
- Ferrão-Filho, A.D.S., Kozłowsky-Suzuki, B., Azevedo, S.M., 2002. Accumulation of microcystins by a tropical zooplankton community. *Aquat. Toxicol.* 59, 201–208. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(01\)00253-3](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00253-3).
- Figueredo, C.C., Giani, A., Bird, D.F., 2007. Does allelopathy contribute to *cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) bloom occurrence and geographic expansion? *J. Phycol.* 43, 256–265. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00333.x>.
- Fontanillo, M., Köhn, M., 2018. Microcystins: synthesis and structure–activity relationship studies toward PP1 and PP2A. *Bioorg. Med. Chem.* 26, 1118–1126. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.08.040>.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010. Fisheries and Aquaculture Department. <http://www.fao.org/fishery/species/3217/en>. (Accessed 23 August 2018).
- Gilbert, J.J., 1990. Differential effects of *Anabaena affinis* on cladocerans and rotifers: mechanisms and implications. *Ecology* 71, 1727–1740. <https://doi.org/10.2307/1937581>.
- Gliwicz, Z.M., Lampert, W., 1990. Food thresholds in *Daphnia* species in the absence and presence of blue-green filaments. *Ecology* 71, 691–702. <https://doi.org/10.2307/1940323>.
- Gulati, R., Demott, W., 1997. The role of food quality for zooplankton: remarks on the state-of-the-art, perspectives and priorities. *Freshw. Biol.* 38, 753–768. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.1997.00275.x>.
- Guzmán-Guillén, R., Prieto, A.L., Moreno, I., Soria, M.E., Cameán, A.M., 2011. Effects of thermal treatments during cooking, microwave oven and boiling, on the unconjugated microcystin concentration in muscle of fish (*Oreochromis niloticus*). *Food Chem. Toxicol.* 49, 2060–2067. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.05.018>.
- Guzmán-Guillén, R., Maisanaba, S., Ortega, A.I.P., Valderrama-Fernández, R., Jos, Á., Cameán, A.M., 2017. Changes on cylindrospermopsin concentration and characterization of decomposition products in fish muscle (*Oreochromis niloticus*) by boiling and steaming. *Food Control* 77, 210–220. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.035>.
- Haney, J.F., 1987. Field studies on zooplankton-cyanobacteria interactions. *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.* 21, 467–475. <https://doi.org/10.1080/00288330.1987.9516242>.
- Hauser-Davis, R.A., Lavradas, R.T., Lavandier, R.C., Rojas, E.G.A., Guarino, A.W.S., Zioli, R.L., 2015. Accumulation and toxic effects of microcystin in tilapia (*Oreochromis niloticus*) from an eutrophic Brazilian lagoon. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 112, 132–136. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.10.036>.
- Ibelings, B.W., Chorus, I., 2007. Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater “seafood” and its consequences for public health: a review. *Environ. Pollut.* 150, 177–192. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.04.012>.
- Ibelings, B.W., Bruning, K., De Jonge, J., Wolfstein, K., Pires, L.D., Postma, J., Burger, T., 2005. Distribution of microcystins in a lake foodweb: no evidence for biomagnification. *Microb. Ecol.* 49, 487–500. <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0014-x>.
- Jhingran, V.G., 1995. *Fish and Fisheries of India*, second ed. Hindustan Publishing Corporation, Delhi.
- Jia, J., Luo, W., Lu, Y., Giesy, J.P., 2014. Bioaccumulation of microcystins (MCs) in four fish species from Lake Taihu, China: assessment of risks to humans. *Sci. Total Environ.* 487, 224–232. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.037>.
- Korovochinsky, N., Smirnov, N., 1998. *Introduction to the “Cladocera” (Ctenopoda, Anomopoda, Onychopoda and Haplozoa)*. Institute of Animal Evolutionary Morphology and Ecology of Russian Academy of Sciences, Moscow.
- Kozłowsky-Suzuki, B., Koski, M., Hallberg, E., Wallén, R., Carlsson, P., 2009. Glutathione transferase activity and oocyte development in copepods exposed to toxic phytoplankton. *Harmful Algae* 8, 395–406. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.08.025>.
- Kozłowsky-Suzuki, B., Wilson, A.E., Ferrão-Filho, A.D.S., 2012. Biomagnification or biodilution of microcystins in aquatic foodwebs? Meta-analyses of laboratory and field studies. *Harmful Algae* 18, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2012.04.002>.
- Liang, H., Zhou, W., Zhang, Y., Qiao, Q., Zhang, X., 2015. Are fish fed with cyanobacteria safe, nutritious and delicious? A laboratory study. *Sci. Rep.* 5, 15166. <https://doi.org/10.1038/srep15166>.
- Lu, K., Jin, C., Dong, S., Gu, B., Bowen, S.H., 2006. Feeding and control of blue-green algal blooms by tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Hydrobiologia* 568, 111–120. <https://doi.org/10.1007/s10750-006-0023-5>.
- Melo-Ruiz, V., Schettino-Bermúdez, B., Herrera, K.S., Vargas-Martínez, N., Quirino-Barreda, T., Juárez-Sandoval, J., 2014. The importance of consuming charales (*Chirotoma jordani*) for human nutrition. *J. Life Sci.* 8 (1) <https://doi.org/10.17265/1934-7391/2014.01.007>.
- Merel, S., Walker, D., Chicana, R., Snyder, S., Baurès, E., Thomas, O., 2013. State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environ. Int.* 59, 303–327. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.06.013>.
- Mohamed, Z.A., Carmichael, W.W., Hussein, A.A., 2003. Estimation of microcystins in the freshwater fish *Oreochromis niloticus* in an Egyptian fish farm containing a *Microcystis* bloom. *Environ. Toxicol.* 18, 137–141. <https://doi.org/10.1002/tox.10111>.
- Morais, J., Augusto, M., Carvalho, A.P., Vale, M., Vasconcelos, V.M., 2008. Cyanobacteria hepatotoxins, microcystins: bioavailability in contaminated mussels exposed to different environmental conditions. *Eur. Food Res. Technol.* 227, 949. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0779-5>.
- Müller-Solger, A.B., Jassby, A.D., Müller-Navarra, D.C., 2002. Nutritional quality of food resources for zooplankton (*Daphnia*) in a tidal freshwater system (Sacramento-San Joaquin River Delta). *Limnol. Oceanogr.* 47, 1468–1476. <https://doi.org/10.4319/lo.2002.47.5.1468>.
- Müller-Navarra, D.C., Brett, M.T., Liston, A.M., Goldman, C.R., 2000. A highly unsaturated fatty acid predicts carbon transfer between primary producers and consumers. *Nature* 403, 74–77. <https://doi.org/10.1038/47469>.
- Nandini, S., Rao, T.R., 1998. Somatic and population growth in selected cladoceran

- and rotifer species offered the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* as food. *Aquat. Ecol.* 31, 283–298. <https://doi.org/10.1023/A:1009940127959>.
- Nandini, S., Sarma, S.S.S., Ramírez-García, P., 2000. Life table demography and population growth of *Daphnia laevis* (Cladocera, Anomopoda) under different densities of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*. *Crustaceana* 73, 1273–1286. <https://doi.org/10.1163/156854000505254>.
- Navarrete-Salgado, N.A., 2017. *Chirostoma (menidia)*: ecology and use as a culture species in rustic ponds. *Biocyt* 10, 736–748.
- Opuszyński, K., 1980. The role of fishery management in counteracting eutrophication processes. In: Barica, J., MUR, L.R. (Eds.), *Hypertrophic Ecosystems*. Springer, Dordrecht, pp. 263–269.
- Paes, T.A.S.V., Costa, I.A.S.D., Silva, A.P.C., Eskinazi-Sant'Anna, E.M., 2016. Can microcystins affect zooplankton structure community in tropical eutrophic reservoirs? *Braz. J. Biol.* 76, 450–460. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.21014>.
- Palikova, M., Mares, J., Kopp, R., Hlavkova, J., Navratil, S., Adamovsky, O., Chmelar, L., Blaha, L., 2011. Accumulation of microcystins in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., and effects of a complex cyanobacterial bloom on the dietetic quality of muscles. *B. Environ. Contam. Tox.* 87, 26. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0279-y>.
- Pham, T.I., Utsumi, M., 2018. An overview of the accumulation of microcystins in aquatic ecosystems. *J. Environ. Manag.* 213, 520–529. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.077>.
- Pinto-Coelho, R.M., Bezerra-Neto, J.F., Giani, A., Macedo, C.F., Figueiredo, C.C., Carvalho, E.A., 2003. The collapse of a *Daphnia laevis* (Birge, 1878) population in Pampulha reservoir, Brazil. *Acta Limnol. Bras.* 15, 53–70.
- Prieto, A.I., Pichardo, S., Jos, Á., Moreno, I., Cameán, A.M., 2007. Time-dependent oxidative stress responses after acute exposure to toxic cyanobacterial cells containing microcystins in tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) under laboratory conditions. *Aquat. Toxicol.* 84, 337–345. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.06.012>.
- Romo, S., Fernández, F., Ouahid, Y., Barón-Sola, Á., 2012. Assessment of microcystins in lake water and fish (Mugilidae, *Liza* sp.) in the largest Spanish coastal lake. *Environ. Monit. Assess.* 184, 939–949. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2011-0>.
- Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación, 2016. Mojarra tilapia, Importante Producto Acuicola. <https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/mojarra-tilapia-importante-producto-acuicola>. (Accessed 2 August 2018).
- Semyalo, R., Rohrlack, T., Naggawa, C., Nyakairu, G.W., 2010. Microcystin concentrations in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) caught from Murchison Bay, Lake Victoria and Lake Mburo: Uganda. *Hydrobiologia* 638, 235–244. <https://doi.org/10.1007/s10750-009-0047-8>.
- Sotton, B., Guillard, J., Anneville, O., Maréchal, M., Savichtcheva, O., Domaizon, I., 2014. Trophic transfer of microcystins through the lake pelagic food web: evidence for the role of zooplankton as a vector in fish contamination. *Sci. Total Environ.* 466, 152–163. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.020>.
- Spoof, L., Catherine, A., 2017. Appendix 3 - tables of microcystins and nodularins. In: Meriluoto, J., Spoof, L., Codd, G.A. (Eds.), *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*. John Wiley & Sons, Ltd., Hoboken, pp. 526–537.
- Tanoue, R., Nomiyama, K., Nakamura, H., Hayashi, T., Kim, J.W., Isobe, T., Shinohara, R., Tanabe, S., 2014. Simultaneous determination of polar pharmaceuticals and personal care products in biological organs and tissues. *J. Chromatogr. A* 1355, 193–205. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.06.016>.
- Tönno, I., Agasild, H., Köiv, T., Freiberg, R., Nöges, P., Nöges, T., 2016. Algal diet of small-bodied crustacean zooplankton in a cyanobacteria-dominated eutrophic lake. *PLoS One* 11, e0154526. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154526>.
- Vallod, D., Cravedi, J.P., Hillenweck, A., Robin, J., 2007. Analysis of the off-flavor risk in carp production in ponds in Dombes and Forez (France). *Aquacult. Int.* 15, 287–298. <https://doi.org/10.1007/s10499-007-9080-7>.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13, 57–149. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6).
- Varga, D., Sándor, Z., Hancz, C., Csengeri, I., Jeney, Z., Papp, Z., 2015. Off-flavour compounds in common carp (*Cyprinus carpio* L.) flesh in context of type of fish pond. *Acta Aliment.* 44, 311–315. <https://doi.org/10.1556/066.2015.44.0008>.
- Vasconcelos, V., Martins, A., Vale, M., Antunes, A., Azevedo, J., Welker, M., Lopez, O., Montejano, G., 2010. First report on the occurrence of microcystins in planktonic cyanobacteria from Central Mexico. *Toxicon* 56, 425–431. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.04.011>.
- Wannemacher, R.W., 1989. *Chemical Stability Laboratory Safety of Naturally Occurring Toxins*. US Army Medical Research, Institute of Infection Diseases, Fort Detrick, pp. 9–11.
- Watanabe, M.F., Tsuji, K., Watanabe, Y., Harada, K.I., Suzuki, M., 1992. Release of heptapeptide toxin (microcystin) during the decomposition process of *Microcystis aeruginosa*. *Nat. Toxins* 1, 48–53. <https://doi.org/10.1002/nt.2620010110>.
- World Health Organization (WHO), 1998. *Guidelines for Drinking – Water Quality, second ed. Addendum to Vol 2*. Geneva, Switzerland.
- Zamora-Barríos, C.A., Nandini, S., Sarma, S.S.S., 2017. Effect of crude extracts from cyanobacterial blooms in Lake Texcoco (Mexico) on the population growth of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Toxicon* 139, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.09.013>.
- Zanchett, G., Oliveira-Filho, E.C., 2013. Cyanobacteria and cyanotoxins: from impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects. *Toxins* 5, 1896–1917. <https://doi.org/10.3390/toxins5101896>.
- Zhang, D., Xie, P., Chen, J., 2010. Effects of temperature on the stability of microcystins in muscle of fish and its consequences for food safety. *B. Environ. Contam. Tox.* 84, 202–207. <https://doi.org/10.1007/s00128-009-9910-6>.