



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
(LIMNOLOGÍA)

**EFFECTO DE LOS EXTRACTOS CRUDOS DE UN FLORECIMIENTO
CIANOBACTERIAL PRESENTE EN EL LAGO DE TEXCOCO SOBRE LAS
CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE *Brachionus calyciflorus*
(ROTÍFERA)**

TESIS
QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:
BIÓL. CESAR ALEJANDRO ZAMORA BARRIOS

TUTOR PRINCIPAL:
DRA. NANDINI SARMA
FACULTA DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA (UNAM)

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:
Dr. PEDRO RAMIREZ GARCIA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA (UNAM)

Dr. VICTOR RIVERA AGUILAR
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA (UNAM)

Dr. JAVIER ALCOCER DURAND
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA (UNAM)

Dr. JAVIER CARMONA JIMENEZ
FACULTAD DE CIENCIAS (UNAM)

MÉXICO, D. F. ENERO 2015



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.



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México

**Efecto de los extractos crudos de un florecimiento cianobacterial
presente en el lago de Texcoco sobre las características
demográficas de *Brachionus calyciflorus* (ROTIFERA)**

T E S I S

Que para obtener el grado académico de

Maestro en Ciencias

(Limnología)

Presenta:

Biól. Cesar Alejandro Zamora Barrios

Director de Tesis:

Dra. **Nandini Sarma**

Comité Tutorial:

Dr. Pedro Ramírez García

Dr. Víctor Rivera Aguilar

Dr. Javier Alcocer Durand

Dr. Javier Carmona Jiménez

Dedicatoria

A mi familia:

En esta ocasión quiero agradecer a las personas que me han enseñado a confiar en mis habilidades.

A mi hermano José Luis, que me enseñó que la vida siempre te pone obstáculos, pero la decisión de vencerlos está en manos de uno.

A mi hermana Tanya Erika, que me enseñó a sonreír, a pesar de, las circunstancias desfavorables.

A mi hermana Sarai Mary, a quien he admirado por su don de crear belleza con tan solo plasmar una idea, y de quien he aprendido a no abandonar lo que me apasione.

A mis padres José Luis y María Emilia, quienes con amor me han inculcado los valores que me han formado, quienes sin esperar nada a cambio lo han dado todo por mí. Es por esta razón que les estaré agradecido eternamente.

Sin ser menos importantes para mí, y porque son mi familia desde el día en que mis hermanos los eligieron para pasar su vida a su lado, agradezco a Hugo y Silvia por su apoyo incondicional siempre que lo he requerido.

Y por ultimo agradezco a mis sobrinos José Antonio y Zamá Victoria por transmitirme la chispas de alegría y felicidad desde el día de su llegada.

Agradecimientos

A la UNAM, especialmente a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por la oportunidad que me otorgaron de formarme dentro de esta institución como un profesional de la Biología.

A la Dra. Nandini Sarma, 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, que siempre muy oportunos me han permitido salir adelante cuando más lo he necesitado, gracias por todo su apoyo y dedicación para mi persona.

A mis sinodales la Dra. Nandini Sarma, El Dr. SSS. Sarma, El Dr. Pedro Ramírez Garcia, El Dr. Alfonso Lugo Vazquez y al Dr. Jose Luis Gama Flores por su tiempo y dedicación con la finalidad de mejorar la realización de esta Tesis.

A mis compañeros de laboratorio por transmitir su conocimiento, por ser piezas importantes en mi desarrollo, y claro por las horas de diversión y platicas que he pasado con ustedes: Diego, Roció, Gerardo, Jorge, Cristian, Ligia, Rosa (baby-puchunga), Mich, Gis, Aurora, Sergio.

A los compañeros que se convirtieron en hermanos: Potter, Mich, Serch, Gaby, Mariana, Isis, Janette. La distancia nos separara pero el corazón mantendrá los lazos estrechos.

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

Contenido

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN.....	7
ANTECEDENTES	10
JUSTIFICACIÓN	14
HIPÓTESIS.....	17
OBJETIVOS.....	17
ÁREA DE ESTUDIO	17
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN.....	63
IMPLICACIONES.....	67
BIBLIOGRAFÍA.....	69

RESUMEN

Los metabolitos secundarios producidos por los florecimientos cianobacteriales en los lagos o reservorios eutróficos, en general pueden ser tóxicos para algunos de los integrantes del zooplancton, pero existen reportes controversiales e inconsistentes sobre su efecto. En países tropicales como México, no existen suficientes estudios sobre el efecto que causan las cianotoxinas en los organismos representantes del zooplancton. Ante esto, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos toxicológicos de extractos crudos, de un florecimiento cianobacterial, presente a lo largo del año en el lagos Nabor Carrillo y Recreativo, ambos pertenecientes al lago de Texcoco, sobre dos clones de *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). Se extrajeron los compuesto activos, de las muestras colectadas en la zona superficial de ambos sitios de muestreo, mediante el proceso de liofilización (desechar a baja temperatura) se somete a -70° C durante 48 horas y posteriormente se coloca a temperatura ambiente con la finalidad de descongelar el producto, el ciclo se realizo cinco veces; entre cada ciclo se llevó a cabo la lisis celular mediante un sonicador. Una vez obtenido el extracto cianobacterial, se realizaron experimentos de crecimiento poblacional y tabla de vida. En ambos experimentos se utilizaron 2 concentraciones tóxicas, una en proporción 10:10 y la otra en 20:0. Se colocaron 10 individuos por recipiente (para el caso de tabla de vida se utilizaron solo neonatos) y se cuantificó la densidad diaria. Se observó en los resultados de crecimiento poblacional, que la presencia del extracto procedente del lago recreativo alteró la demografía poblacional de *Brachionus calyciflorus*, ocasionando la mortandad de los organismos en menos de 10 días en el testigo con mayor concentración. Los organismos expuestos a los experimentos de tabla de vida, mostraron un incremento en las variables reproductivas, sin embargo, la esperanza de vida y el promedio de vida, fueron reducidos drásticamente. Se discuten los resultados con énfasis sobre la necesidad y factibilidad de hacer más y mejores estudios, que evalúen los estragos ecológicos causados por los efectos toxicológicos de las cianotoxinas.

INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias ó cianoprocariontes (Komárek 2006) son un grupo de organismos, considerados los primeros fotoautótrofos oxigénicos. Su edad se ha estimado mediante registros de origen fósil en más de 3500 Ma. Siendo el precámbrico el periodo de mayor proliferación, responsables junto con algunos organismos fotosintéticos de alterar la biosfera anóxica y primitiva, haciéndola idónea para que otras formas de vida evolucionaran y comenzaran a colonizar el ambiente terrestre (Berry 2013; Schopf 1974; Komárek 2006). Debido a esta amplia historia evolutiva y al desarrollo de estructuras especializadas (ej. heterocitos: fijación de nitrógeno), las cianobacterias han logrado colonizar la mayoría de los nichos en el planeta, por ello son consideradas cosmopolitas, incluso soportando ambientes inhóspitos en alcalinidad o temperatura (se han identificado picocianobacterias planctónicas a pH >4.5 Y 73°C es la temperatura máxima a la que han sido encontradas cianobacterias del genero *Synechococcus*), siendo el intervalo óptimo para su crecimiento de 20° a 35°C. (Steinberg et al. 1998; Castenholz 2000).

También han sido nombradas como algas azul-verdes debido a que en su fotosistema, además de contar con clorofila a, presentan una alta concentración de ficobiliproteínas (ficocianina, ficoeritrina) que funcionan como pigmentos accesorios y le confieren la coloración azulada tan distintiva.

El tamaño celular de las cianobacterias se encuentra en un intervalo de 2 a 20 µm dependiendo de la especie; sin embargo pueden crecer como colonias de hasta 450 µm. A diferencia de las algas no cuentan con un núcleo definido además de carecer de plastidios y organelos. Su pared celular es Gram negativa y está compuesta de 3 capas (algunos géneros como *Microcystis* presentan una cuarta capa denominada capa-S). Su reproducción es de manera asexual mediante la formación de estructuras tales como endosporas y exosporas (exocitos, beocitos y hormocitos), o por fragmentación de las colonias o de los filamentos (Whitton 2002; Huisman et al. 2005; Pineda 2009).

De origen Eubacterial, las cianobacterias son un grupo ampliamente diversificado, actualmente la taxonomía de estos organismos se basa en la utilización de enfoques morfológicos, ecofisiológicos y moleculares. Existen clasificados más de 150 géneros y alrededor de 2000 especies, divididas en 3 órdenes: Chroococcales, Oscillatoriales y Nostocales (Komárek 2010).

Las cianobacterias son uno de los grupos predominantes en los cuerpos de agua epicontinental (B-Be´res et al. 2012). En general, pueden ser tolerantes al incremento de nutrientes provenientes de la actividad agrícola, industrial, y urbana (Dolman 2012). Las cianobacterias aprovechan este exceso nutrimental permitiéndoles aumentar de manera significativa el promedio de la biomasa de la población, generando fenómenos de crecimiento masivo y acelerado, conocido como florecimientos de algas nocivas (FAN) (Codd 2005).

La formación de un FAN tiene grandes repercusiones con respecto a la calidad del agua, tales como: acumulación de la materia orgánica, disminución de la claridad del agua, color desagradable, mal olor, cambios drásticos en las concentraciones de oxígeno (La descomposición bacteriana posterior a la senescencia de un florecimiento puede generar periodos de hipoxia y anoxia) , muerte de organismos neotónicos (peces, aves, zooplancton, fitoplancton, etc.) generando una disminución drástica de la biodiversidad (Oberholster et al. 2006; Codd 2005; Paerl y Otten 2013).

Existen diversos factores que favorecen el desarrollo de las cianobacterias, entre ellos destacan la intensidad lumínica, que tiene efecto directo sobre el metabolismo, aumentando la actividad fotosintética. La temperatura es otro factor que en los últimos años ha favorecido el crecimiento desmedido de estos organismos, se ha demostrado que en un embalse tropical una temperatura entre los 20 y 26 °C es el intervalo óptimo para su desarrollo exponencial (Martínez, 2002), El cambio climático es considerado un catalizador que permite la expansión de las cianobacterias, debido a que las temperaturas cálidas permiten su proliferación, ya que sus tasas de máximo crecimiento están por encima de los 25°C, además las altas temperaturas evitan la competencia con algas eucariontes al declinar sus poblaciones por no estar adaptadas a las aguas superficiales cálidas (Paerl y Otten 2013). El nitrógeno y fósforo son los nutrientes esenciales para el desarrollo de estos organismos. Sin embargo, en condiciones limitantes de fósforo se lleva a cabo la formación de gránulos de polifosfato, los cuales sirven de reserva y son suficientes para realizar de 2 a 4 duplicaciones celulares. Algunas otras especies cuentan con diversas adaptaciones en sus células vegetativas, que le provee la capacidad de desarrollar acinetos o estructuras de almacenamiento, además cuentan con heterocitos, que son células engrosadas cuya función es fijar nitrógeno atmosférico (Whitton y Potts 2000).

Gran éxito de las cianobacterias es atribuida a su capacidad de regular su flotabilidad vertical a lo largo de la columna de agua, mediante vesículas de gas o aerotopos, permitiendo a estas ubicarse en las capas superiores de mejor iluminación y confiriéndoles estabilidad al disminuir la pérdida por sedimentación (Mur et al. 1999; Whitton y Potts 2000; Justyna 2013).

Una de las hipótesis centrales acerca del por qué las cianobacterias suelen dominar los ecosistemas acuáticos, se basa en su capacidad de evitar la depredación por organismos zooplanctónicos herbívoros. Muchas cianobacterias se ven beneficiadas de su tendencia a crecer en forma de agrupaciones mediante colonias o filamentos, evitando su ingesta por tamaño o exclusión por interferencia de los apéndices de alimentación. Sin embargo, en algunos herbívoros, no indica que esta sea asimilada o digerida, ya que se ha mostrado que especies provistas de un mucílago gelatinosos, no fueron digeridas, incluso además de sobrevivir, lograron absorber nutrientes durante su estancia en el intestino de *Daphnia*, provocando desnutrición y disminución de la salud (Tillmanns et al. 2008; Zhang y Geng 2011; Paerl y Otten 2013). Las cianobacterias suelen ser deficientes en macromoléculas, ácidos grasos (Omega3) y fósforo, los cuales son vitales para el

desarrollo y reproducción de los organismos zooplanctónicos, indicando baja calidad nutricional, provocando bajas tasas de crecimiento en los organismos que se alimentan únicamente de cianobacterias (Alva et al. 2007; Tillmanns et al. 2008).

Las cianobacterias son capaces de producir metabolitos secundarios, denominadas cianotoxinas, las cuales se acumulan en el interior celular, o bien pueden ser excretadas al medio cuando se presenta la lisis celular durante el colapso del FAN. Las cianotoxinas son metabolitos secundarios capaces de inhibir el desarrollo de los organismos que se encuentran en contacto con estas, alterando la estructura de las comunidades acuáticas. Las cianotoxinas se clasifican de acuerdo al órgano o tejido sobre el cual tienen efecto, estas pueden ser citotoxinas o biotoxinas (hepatotoxinas, neurotóxicas y toxinas irritantes) (Vasconcelos 2001; Huisman et al. 2005; Ibrahim 2012). Entre las toxinas producidas por las cianobacterias destacan las Microcistinas-LR, Saxitoxinas y la Anatoxina-a (Vasconcelos 2001; Huisman et al. 2005). Diversos estudios demuestran que las microcistinas son las toxinas más comunes en los cuerpos de agua y la exposición crónica a éstas causa daños en la salud humana y animal (Martínez 2002), debido a que tiene efectos hepatotóxicos que alteran las células hepáticas y el epitelio intestinal. En estudios de bioensayos, se ha comprobado que organismos zooplanctónicos como *Daphnia similis* y neonatos de *Daphnia magna* son extremadamente sensibles a la toxicidad de extractos crudos de *Microcystis* (Okumura et al. 2006), aunque en pruebas con exudados no se obtuvieron resultados congruentes sobre *Daphnia magna*, ya que estos organismos expuestos no presentaron mortandad (Arzate-Cárdenas 2008); por estos motivos se considera que su presencia es peligrosa para la salud de los seres vivos (Vasconcelos 2001; Pérez y Soraci 2008). Se han identificado varios géneros de formadores de FAN y productores de cianotoxinas, entre los cuales están: *Microcystis*, *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Planktothrix*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Raphidiopsis* y *Nodularia* (Codd 2005). Para reconocer la concentración de cianotoxinas disueltas se han desarrollado diversos métodos analíticos como el HPLC, TLC, GC y LC, y el ensayo inmunológico de Elisa, el cual permite conocer la concentración de microcistinas presentes en las muestras de agua (Chorus y Bartram, 1999; Araoz et al. 2010).

Un problema global con respecto a las cianobacterias, es que se ha identificado que más del 50% de los géneros formadores de FAN son capaces de producir cianotoxinas. Las floraciones cianobacteriales pueden llegar a ser más del 80% de la biomasa total del fitoplancton en un sitio eutrofizado, lo cual indica que impiden el desarrollo de otras especies del fitoplancton generando una dominancia y disminuyendo la diversidad de especies (Mihaljević 2011).

Los extractos crudos cianobacteriales son el contenido total intracelular, una vez que se ha producido lisis celular (B-Be'eres et al. 2012). Se han realizado algunas investigaciones sobre los efectos que tienen los extractos crudos en organismos fitoplanctónicos demostrando que estos causan estragos en la fecundidad y

supervivencia de los organismos expuestos, lo cual genera alteraciones tróficas en los ambientes acuáticos (Oberemm et al. 1999; Pietsch et al. 2001; Okumura et al. 2007). El zooplancton es un grupo que puede ser severamente alterado por la existencia de cianotoxinas en el medio (Infante y Riehl 1984). El zooplancton incluye principalmente a rotíferos, cladóceros, copépodos, ostrácodos, estadios larvales de insectos, siendo los primeros tres los más comunes en los reservorios de agua en México (Ramírez-García et al. 2002).

Los rotíferos juegan un papel importante en los procesos ecológicos de las comunidades acuáticas, siendo estos los encargados de transferir la energía de los productores primarios a los consumidores secundarios y terciarios dentro de las redes tróficas (Guo 2012). Estos organismos han sido ampliamente usados en bioensayos toxicológicos, debido a que existe extensa información en diferentes aspectos tales como las características morfológicas externas e internas, la fisiología, la distribución en los sistemas epicontinentales, ciclo de vida, comportamiento ecológico e interacciones, etc. Además de los factores anteriores existen ventajas en la manipulación de estos organismos lo cual facilita y agiliza los ensayos gracias a características como su ciclo de vida relativamente corto, su baja variabilidad genética entre generaciones, su pequeña talla, sus requerimientos nutricionales que son bien conocidos, su reproducción en cortos períodos de tiempo (horas), y su sensibilidad a cambios en la calidad del agua por contaminantes tóxicos (Snell y Janssen 1995; García-García 2007; Alva et al. 2007; Dahms et al. 2011).

Brachionus calyciflorus se encuentra catalogado por APHA y SETAC como una de las especies de aguas epicontinentales de la clase Monogononta, recomendadas para realizar ensayos toxicológicos en laboratorio (Nandini et al. 2005), además una amplia serie de investigaciones realizadas con este organismo apoya su utilización en la presente investigación (Dahms et al. 2011).

ANTECEDENTES

Becker et al. (2010) demostraron la incidencia en embalses y lagunas del mundo, de las toxinas generadas por la cianobacteria *Anabaena crassa*, realizaron un estudio en un embalse ubicado al sur de Brasil (Faxinal), donde existía un florecimiento cianobacterial de *A. crassa*. Una vez colectado el material (durante los meses de enero y febrero del 2004), realizaron extracción de las toxinas por medio de una liofilización y mediante la fractura de las membranas por sonicación de las células durante 1 minuto a 20 kHz. Realizaron bioensayos con ratones albinos, a los cuales se les inyectó intraperitonealmente una dosis correspondiente a 1ml. Se demostró que las concentraciones encontradas de anatoxinas eran bajas debido a que no hubo mortandad en los organismos, por lo cual concluyeron que esta floración no representaba un riesgo latente de contaminación, sin embargo los resultados obtenidos son de relevancia porque es el primer registro de las anatoxinas producidas por *A. crassa* en embalses brasileños.

Ferrao-Filho et al. (2009) evaluaron la eficiencia del uso de cladóceros en el biomonitoreo en zonas eutrofizadas, centrándose en las cianotoxinas como contaminante. Realizando bioensayos con *Daphnia gessneri* y *Moina micrura*, especies que fueron cultivadas en laboratorio y que nunca habían estado en contacto con las cianotoxinas. Los sitios de muestreo fueron el embalse Lajes y Funil, ambos depósitos situados en Río de Janeiro (Brasil), la muestra se tomó de la zona superficial y se transportó al laboratorio donde se filtró con fibra de vidrio para retener las partículas fitoplanctónicas de 41.2 mm. Mediante bioensayos, en donde se utilizaron dosis crónicas y agudas, se evaluaron la supervivencia y la fecundidad de la población en presencia de células liofilizadas de cianobacterias, donde los grupos dominantes identificados estuvieron representados por los géneros *Anabaena*, *Cylindrospermopsis* y *Microcystis*. Los resultados de los bioensayos demostraron que existe una reducción de la tasa de crecimiento de la población, y se presentó parálisis en los movimientos natatorios de los organismos expuestos. La prueba de identificación de toxinas demostró que había presencia de microcistinas y saxitoxinas en altas concentraciones. Concluyeron que los cladóceros son organismos modelo para el estudio de zonas con problemas de eutrofización por cianobacterias debido a su alta sensibilidad.

Pawan et al. (2009) Con el objetivo de identificar el potencial de producción de cianotoxinas, por las cianobacterias presentes en los lagos sódicos de Bogoria, Baringo, Elmenteita, Nakuru, Oloidien y Turkana, representados principalmente por floraciones de *Arthrospira fusiformis*, *Anabaenopsis sp.* y *Microcystis aeruginosa*, mediante marcadores moleculares para la identificación de la aminotransferasa, la cual se localiza en los módulos de *mcyE* y *ndaF*. Colectaron muestra del sedimento y de la columna de agua, a las cuales, mediante PCR se les amplificó el gen 16S rRNA y por medio de primers HEP se identificaron las especies con potencial toxicológico. Los resultados obtenidos muestran la presencia de *Anabaena sp.* en el lago Oloidien, *Anabaena sp.* en el lago Nakuru, *Microcystis aeruginosa* en los lagos Baringo, Bogoria y Elmenteita. Concluyeron que la utilización de marcadores moleculares específicos puede ser exitosamente utilizada en monitoreos de rutina, con la finalidad de monitorear los FAN de cianobacterias tóxicos

Pérez y Soraci (2008) realizaron una revisión bibliográfica de las cianobacterias y las características que les confiere la posibilidad de posicionarse como los organismos fitoplanctónicos dominantes en los reservorios de agua ante altos contenidos de nutrientes o residuos químicos, alta luminosidad, aumento en la temperatura, poca turbulencia, etc. Además a lo largo de su historia evolutiva han modificado la morfología de sus células lo que las posibilita a controlar su posición en la columna de agua, almacenar nutrientes, formación de floraciones debido a la alta tasa reproductiva y la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico compuestos (algunas especies filamentosas). Sin embargo la capacidad de producir metabolitos secundarios que se liberan durante la finalización de la floración, es considerada la adaptación más alarmante para el ser humano, ya que entre estos compuestos químicos se encuentran las cianotoxinas, que son consideradas los

compuestos de alta toxicidad. Las microcistinas son toxinas producidas por las cianobacterias del género *Microcystis*, su importancia radica en su elevada toxicidad y su frecuencia. Estas toxinas generan graves problemas medio ambientales y en las últimas décadas han generado un gran interés debido a la intoxicación aguda en humanos y animales (principalmente peces). En conclusión su presencia es altamente peligrosa para la salud de seres vivos y es de suma importancia realizar investigaciones que permitan conocer más acerca de los factores ambientales que la promueven y su efecto en los organismos.

Arzate-Cardenas (2008) realizó colectas de cianobacterias del género *Microcystis* en cuerpos de agua del Valle de México, que fueron seleccionados por ser sitios donde se realizan actividades deportivas, recreativas y de esparcimiento, además de que algunos de estos sitios son utilizados por las aves migratorias como refugio. La finalidad era identificar mediante marcajes moleculares a las cianobacterias tóxicas presentes en estos cuerpos de agua. Asimismo con el material de colecta realizaron ensayos de toxicidad aguda con el agua (exudados) y extractos crudos de la biomasa constituida principalmente por *Microcystis*, con en el cladóceros *Daphnia magna*. La prueba de toxicidad por medio de exudados no generó la mortalidad de los organismos, sin embargo, en los extractos observó la mortalidad de los neonatos, con lo que calculó la concentración letal media (CL₅₀). Para analizar si la mortandad de estos cladóceros era generada por las microcistinas, realizó ensayos moleculares y amplificó regiones genéticas específicas, además mediante un kit inmunológico (prueba de ELISA) determinó la concentración de microcistinas presentes en los tratamientos donde se presentó mortandad, con esto concluye que las microcistinas causaron intoxicación a los organismos expuestos. Sin embargo no descarta que la presencia de otros metabolitos secundarios producidos por las cianobacterias puedan estar presentes en los extractos crudos y hayan intoxicado al zooplanctón.

Alva-Martínez et al. (2007) evaluaron el incremento poblacional de dos especies de rotíferos (*B. calyciflorus* y *B. havanaensis*) alimentados con *Microcystis aeruginosa* y con una mezcla de *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus*. *Microcystis aeruginosa* fue colectada de pista de canotaje Virgilio Uribe (México DF), en el que la cianobacteria se encuentra presente todo el año. Para que las colonias de la cianobacteria fueran ingeridas por los rotíferos se sonicó la muestra para separar la células y eliminar el mucílago (evitando la lisis celular). Se obtuvieron células de $4.5 \pm 0.5 \mu\text{m}$, que son ligeramente más pequeñas que *Chlorella vulgaris*. Los resultados demostraron que cuando se alimentaba a los rotíferos únicamente con *Microcystis* en altas proporciones celulares o cuando estaba combinada con alguna de las dos algas clorofitas, los organismos disminuyeron su crecimiento poblacional drásticamente. En los tratamientos a los cuales se les alimentó exclusivamente con algas, ambos organismos tuvieron una alta abundancia; y en las proporciones que contenían baja proporción de *Microcystis*, *B. havanaensis* presentó mayor abundancia que *B. calyciflorus*, a pesar de esto en ambos tratamientos los organismos murieron al cabo de dos semanas.

Okumura et al. (2006) evaluaron los efectos generados por los compuestos tóxicos (cianobacterias y lipopolisacáridos) liberados por las FAN, colectaron material con una red para fitoplancton con una abertura de malla para fitoplancton, de dos florecimientos naturales, el primero en el embalse de Barra bonita y el segundo en el embalse de Ibitinga, ambos situados en San Paulo, Brasil. Identificaron que el fitoplancton de ambos embalses estaban constituidos principalmente por *Microcystis* spp. Evaluaron la toxicidad aguda mediante bioensayos con cladóceros (*Daphnia similis*, *Ceriodaphnia silvestrii* y *Ceriodaphnia dubia*) expuestos a extractos crudos cianobacteriales obtenidos de las muestras de los embalses y de una cepa de *Microcystis aeruginosa* cultivada en laboratorio. Analizaron la sensibilidad y la sobrevivencia de los organismos obteniendo como resultados una mayor toxicidad por parte del cultivo del embalse de Ibitinga, esto lo cuantificaron con un kit que mediante un ensayo inmunológico detecta las microcistinas-LR. Concluyeron que *Daphnia similis* tiene una mayor sensibilidad a la toxicidad en comparación de los otros organismos zooplanctónicos evaluados.

Claska et al. (1998) evaluaron mediante experimentos de tabla de vida, la fecundidad y supervivencia de *Daphnia pulex* expuestos a filamentos de cepas tóxicas de *Anabaena affinis* y *Anabaena flos-aquae*, y a una cianotoxina purificada (anatoxina-a) bajo diferentes temperaturas (12, 14, 19 y 25°C). Midieron la sensibilidad de los organismos dependiendo de su tasa de crecimiento finita. Obtuvieron un patrón estadísticamente significativo, al aumentar la temperatura aumenta la sensibilidad, sugiriendo que un aumento de la temperatura en sistemas naturales, puede generar aumento en la inhibición por cianotoxinas presentes en los ambientes, sobre las tasa de crecimiento poblacional de organismos que se encuentra en contacto con estas.

Grant (1992) estudió las características principales de ambientes alcalinos, llamados lagos sódicos (debido a su alta alcalinidad, por la alta concentración de Na_2CO_3), describiendo que los únicos organismos que pueden desarrollarse en estos sitios extremófilos son los organismos alcalófilos, aquellos que tienen la capacidad de crecer en ambientes con valores de Ph que sobrepasan las 8 unidades. Las comunidades cianobacteriales pueden ser las más importantes representantes de la biota béntica y planctónica, esto debido, a su capacidad de mantener un equilibrio osmótico y gran turgencia celular. Estos lagos están comúnmente dominados por una o dos especies, generando la formación de floraciones. En muchos casos, las floraciones de cianobacterias consisten enteramente de organismos de los géneros *Arthrospira* spp. *Anabaenopsis* spp. o géneros unicelulares como *Chroococcus* spp. ó *Pleurocapsa* spp. *Arthrospira* es de una cianobacteria filamentosa, de amplia distribución en los lagos salinos del este de África, se ha documentado la dominancia de *Arthrospira platensis* a lo largo de todo el año en ellos. En el lago Nakuru, uno de los lagos del Valle Rift, se observó que más de 2 millones de aves consumen más de 200 toneladas de biomasa algal de este género cada día. La *Arthrospira* o *Spirulina* (como también

se le conoce) fue y sigue siendo de gran importancia histórica, por su utilización como recurso alimenticio. Los aztecas la consumían como suplemento y las poblaciones nativas cercanas al lago Chad en la región de Kanem la siguen consumiendo en la actualidad. En América existen 20 lagos bajo esta clasificación, de los cuales 17 se ubican en América del Norte (Manito, Canadá y Alkali Valley, Albert, Leonore, Soap, Big Soda, Owens, Mono, Searles, Deep Springs, Rhodes, Marsh, Harney, Summer, Surprise, Pyramid, Walker, Estados Unidos), 1 en América Central (Texcoco, México) y 2 en América del sur (Lagunilla, Venezuela y Antofagasta, Chile).

JUSTIFICACIÓN

México cuenta con una gran cantidad de reservorios acuáticos de gran importancia (INEGI 2009) que presentan problemas de contaminación y eutrofización. Estos factores, en conjunto pueden conllevar a la formación de floraciones de cianobacterias. Además existen cuerpos de agua que presentan problemas de floraciones cianobacteriales tóxicas, esto se ve reflejado en la reducción drástica de la diversidad y abundancia de especies. Por esta razón es de suma importancia desarrollar experimentos que nos permitan pronosticar y evaluar los riesgos de la exposición de algunos organismos a los extractos crudos cianobacteriales, ya que es un método que nos permite comprender lo que puede estar ocurriendo en un medio natural con sobrepoblación de cianobacterias tóxicas. Además estos bioensayos generan información útil para lograr la protección de la diversidad que integra la biota de un ecosistema. Sin embargo, existen poca bibliografía que demuestre el efecto crónico y agudo de los metabolitos secundarios producidos por las cianobacterias (Tabla 1), en especial, no se ha documentado bien qué efecto tienen los extractos crudos sobre los organismos que están en constante contacto con estos, la mayoría de las investigaciones centran su atención en la producción de extractos crudos con la finalidad de purificar pigmentos fotosintéticos de origen cianobacterial para su utilización en farmacología (Fig. 1).

El zooplancton es uno de los grupos que se ve severamente alterado por la presencia de las cianobacterias en el medio, debido a la producción de metabolitos secundarios tóxicos, que inhiben el desarrollo poblacional, ya que reducen la supervivencia y fecundidad de estos. Además, gracias a sus adaptaciones morfológicas, generan un proceso de exclusión por tamaño haciéndolas inaccesibles de consumir, y las que pueden llegar a ser consumidas, son consideradas de baja calidad alimenticia (Paerl y Otten 2013). Al observar que la abundancia de este grupo disminuía drásticamente en presencia de cianobacterias, se comenzaron a generar hipótesis de la existencia de cianotoxinas (Infante y Riehl 1984). El zooplancton incluye principalmente a rotíferos, cladóceros, copépodos, ostrácodos, estadios larvales de insectos, siendo los primeros tres los más comunes en los reservorios de agua en México (Ramírez-García et al. 2002). Los organismos zooplanctónicos tienen un importante rol ecológico, debido a que son considerados dentro de las redes

tróficas como consumidores primarios y son ellos los encargados de transferir la energía a los niveles superiores. La presencia de las cianotoxinas producidas por las cepas tóxicas genera un desequilibrio del ecosistema, alterando la demografía de estos organismos. De este grupo, los rotíferos son organismos que han sido menos utilizados en bioensayos con extractos crudos cianobacteriales en comparación con otros grupos (Fig. 2). Es por esta razón que surge la necesidad de ampliar la información mediante bioensayos de toxicidad que demuestren cuáles son las concentraciones que alteran significativamente las características demográficas de los rotíferos en especial de *Brachionus calyciflorus*.

Palabra de búsqueda	Total de artículos encontrados
Cyanobacteria	25,476
Cyanobacteria toxins	2,647
Cyanobacteria crude extracts	209
cyanobacteria crude extracts México	1

Tabla 1. Número de artículos obtenidos de una revisión bibliográfica con las palabras: cyanobacteria, cyanobacteria toxins, cyanobacteria crude extracts ,cyanobacteria crude extracts México.

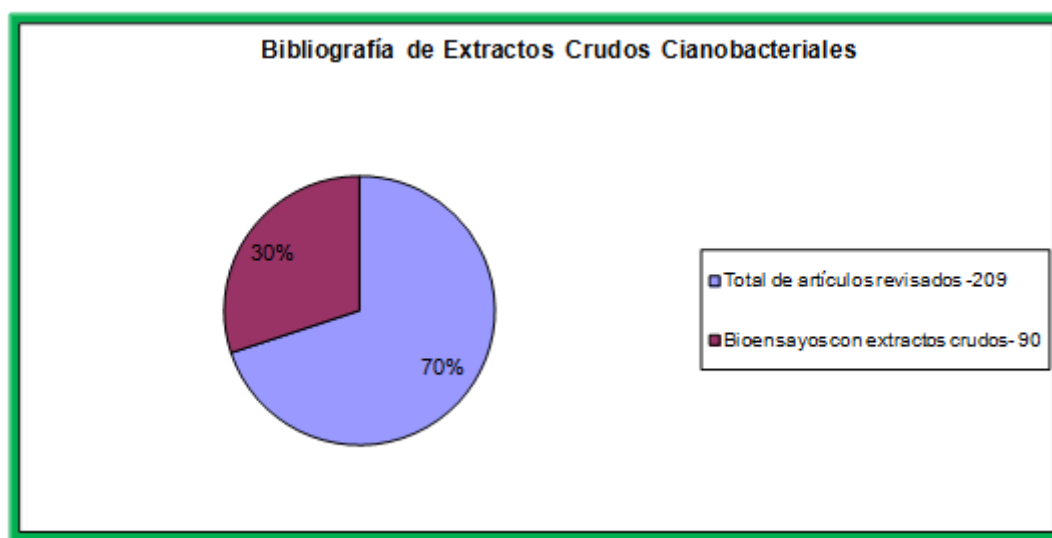


Fig.1. Porcentaje de artículos encontrados donde utilizan extractos crudos cianobacteriales en bioensayos.



Fig.2. Porcentaje de los organismos zooplanctónicos más utilizados en bioensayos con extractos crudos cianobacteriales

HIPÓTESIS

- La presencia de grupos específicos de cianobacterias está relacionado directamente con la presencia de microcistinas. Algunas de las especies registradas para el lago de Texcoco son las que la producen.
- *Brachionus calyciflorus* (Rotifera) es un organismo sensible a sustancias tóxicas presentes en el ambiente, como las cianotoxinas. La exposición crónica de esta especie a extractos crudos cianobacteriales afectará negativamente su supervivencia y fecundidad, lo cual se reflejará en la reducción de la esperanza de vida, la tasa de reproductiva y su tiempo generacional.
- La exposición de dos clones de *Brachionus calyciflorus*, uno aislado del ex lago de Texcoco y otro de los Canales de Xochimilco (sin presencia de cianobacterias tóxicas), a extractos crudos cianobacteriales, causará variaciones demográficas entre ambos.

OBJETIVOS

- ❖ Realizar un muestreo anual de Septiembre de 2012 a Agosto de 2013 de los Lagos Nabor Carrillo y el Lago Recreativo, pertenecientes al ex lago de Texcoco, para estudiar la diversidad cianobacterial presente, los parámetros físico-químicos del agua los Lagos Nabor Carrillo y el Lago Recreativo y su relación con la presencia de *Brachionus calyciflorus*.
- ❖ Cuantificar la concentración de microcistinas presente en los extractos crudos cianobacteriales y en los sitios de muestreo mediante el Kit inmunológico de ELISA.
- ❖ Evaluar el efecto crónico de los extractos crudos de las cianobacterias presentes en el Lago de Texcoco (Nabor Carrillo), sobre las variables demográficas de dos clones *Brachionus calyciflorus* (Rotifera), para evaluar si existen diferentes estrategias poblacionales, durante los meses de Febrero, Mayo y Agosto.

ÁREA DE ESTUDIO

El lago de Texcoco fue uno de los cuerpos lacustres más importantes de la cuenca hidrológica del valle de México, se situaba en el centro del eje neovolcánico transversal que atraviesa el territorio nacional desde la costa del océano Pacífico hasta el Golfo de México. Fue este el sitio donde se estableció la

gran Tenochtitlán, ha sido considerado como la región más importante del país en materia económica, social y política.

Con la conquista y la fundación de la Ciudad de México, el lago de Texcoco se redujo en extensión, debido a desecación que tenía como finalidad evitar inundaciones y urbanizar la zona. Con la finalidad de revertir el deterioro ambiental en el año de 1971 se puso en marcha el proyecto de rescate hidrológico del lago de Texcoco. Actualmente el ex lago de Texcoco se convirtió en una reserva hidroecológica, donde se formaron lagos por medio de dragado convencional, a fin de regular escurrimientos superficiales, tal es el caso de los Lagos: Nabor Carrillo y El Lago recreativo (CITA).

El lago Nabor Carrillo se localiza en las coordenadas 19°28'0"N y 98°58'11"W, cuenta con una capacidad de 36 millones de m³ en una superficie de 1,000 ha. Inicio su operación en 1982; posteriormente, se construyó un bordo perimetral de 12 km de longitud, con una corona de 4 m de ancho y 3.20 metros de altura (Fig.3).

El Lago recreativo tiene una capacidad de 0.375 millones de m³ en una superficie de 25 ha. Su operación se inició en 1982; su afluente proviene de 2 pozos profundos (PP1 y PP3), y de la descarga de la planta de tratamiento terciaria.

Este lago surge del aprovechamiento del campo e prueba que tenía como fin ensayar procedimientos para hundir el terreno.



Fig. 3 Sitios de Muestreo

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de Muestras

Se realizó un muestreo mensual durante ciclo anual 2012-2013 de septiembre a agosto en el Lago Nabor Carrillo y el Lago Recreativo, ambos pertenecientes a la cuenca del lago de Texcoco. Se estableció un sitio de muestreo en la zona litoral

de cada lago. Las muestras se colectaron sin filtrar de la zona superficial, buscando obtener la mayor proporción fitoplanctónica y fueron depositadas en recipientes de plástico de 10 litros de volumen. Las muestras se transportaron en hieleras con la finalidad de que prevalezca lo más posible las características de los sitios. Además se colectaron 100 ml más de agua sin filtrar para la identificación de cianobacterias presentes, estas últimas se fijaron con formalina al 3% con la finalidad de preservar la morfología celular.

Los parámetros físico-químicos de ambos lagos se analizaron a partir de 100ml de agua colectada en recipientes de plástico y se transportaron al laboratorio en una hielera para su posterior estudio. Se midió la concentración de nitratos y fosfatos con el equipo YSI 9100, además se evaluó la concentración de microcistinas mediante el Kit de Elisa. Para la cuantificación de clorofila-a fue necesario colectar 20ml de muestra de la zona superficial y posteriormente fueron filtradas con papel milipore mediante una bomba de vacío manual, estas se almacenaron en tubos Falcón con 10ml de acetona al 90% y se mantuvieron en la hielera, después se refrigeraron durante 24 horas (tiempo en el cual el filtro se disuelve). Se procesaron las muestras conforme al método espectrofotométrico tricromático establecido por APHA.

En los sitios de muestreo se midieron los parámetros físico-químicos de temperatura, conductividad, Ph (conductronic), oxígeno disuelto (YSI 55), salinidad (Salinity Refractometer S/Mill-E), Transparencia vertical con el disco de secchi.

Los cultivos madre de los clones del rotífero *Brachionus calyciflorus*, se colectaron de la zona lacustre del lago Nabor Carrillo (Texcoco) y de los Canales de Xochimilco), se mantuvieron en el laboratorio de Zoología Acuática de la FES Iztacala durante algunos meses. Para el cultivo en el laboratorio se utilizó agua moderadamente dura (medio EPA) que se preparó disolviendo 0.9 g de NaHCO₃, 0.6 g de CaSO₄, 0.6 g de MgSO₄ y 0.04 g de KCl en 1L de agua destilada (Weber, 1993), a 20°C, y se alimentaron exclusivamente con el alga *Chlorella vulgaris* a una concentración de 1x10⁶ células m⁻¹ (hasta el día de su utilización en los bioensayos), el medio de cultivo fue cambiado cada tercer día con la finalidad de evitar la acumulación de pellets, material orgánico y residuos alimenticios. Esta especie tiene un ciclo de vida corto (alrededor de 21 días), se reproducen asexualmente por partenogénesis lo cual da como resultado un gran número de neonatos en un corto periodo de tiempo, esta razón los convierte en organismos ideales para bioensayos.

Preparación del Extracto Crudo de Cianobacteria

Para obtener el extracto crudo de los florecimientos presentes en los sitios de muestreo, se congelaron las muestras (lago Nabor Carrillo y Recreativo) a -70°C durante dos días. Se descongelaron a temperatura ambiente por un periodo de 24 horas, una vez descongelado se sonicó durante 5 min a 14 MHz, para posteriormente congelar nuevamente a -70°C. Este ciclo de congelado/descongelado se repitió cinco veces, con la finalidad de provocar lisis celular. El

extracto se almaceno a -70°C hasta el día de la utilización en los ensayos toxicológicos con rotíferos (Pietsch et al. 2001).

Pruebas crónicas de Toxicidad (crecimiento poblacional)

Las pruebas de toxicidad crónica con extractos crudos, se llevaron a cabo con el rotífero *Brachionus calyciflorus* (con 2 clones, uno aislado de los Canales de Xochimilco y otro del ex Lago de Texcoco) para analizar su sensibilidad a diferentes concentraciones de toxicidad. Se realizaron dos pruebas con diferentes concentraciones de toxicidad, una con extracto crudo concentrado (Febrero, Mayo y Agosto fueron los meses seleccionados para la preparación de los extractos crudos cianobacteriales para su utilización en este experimento) con *Chlorella vulgaris* a una concentración de 0.5×10^6 cels ml^{-1} y extracto crudo diluido en medio EPA con *C. vulgaris* a una concentración de 0.5×10^6 cels ml^{-1} . (10:10) y una prueba control con agua moderadamente dura con *C.vulgaris* a una concentración de 0.5×10^6 cels ml^{-1} . Se colocaron 10 individuos de cada especie en recipientes con un volumen de 20 ml, y se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento. Los tratamientos se colocaron en la incubadora a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ con iluminación difusa. La densidad de los organismos fue cuantificada día a día con un microscopio estereoscopio, hasta el momento en el cual las poblaciones comienzan a declinar. Con los datos obtenidos se realizó la gráfica de crecimiento poblacional y 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 población al tiempo t en días, y mediante el programa SigmaPlot versión 11.0 se evaluaron los datos para obtener un análisis de las variaciones en las densidades poblacionales.

Prueba Crónica de Toxicidad (Tabla de Vida)

Al igual que el experimento anterior, se utilizaron los extractos crudos seleccionados del mes de Febrero, Mayo y Agosto. Para la realización del experimento se colocaron 10 neonatos del rotífero *Brachionus calyciflorus* (ambos clones) en estado óptimo; en recipientes de plástico de 20 ml de volumen con cuatro repeticiones. Para cada tratamiento se realizaron bioensayos con dos concentraciones de extracto crudo concentrado con *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels. ml^{-1} y extracto crudo diluido en medio EPA con *C. vulgaris* a una concentración de 0.5×10^6 cels. ml^{-1} (10:10). El testigos control consto de cuatro réplicas con agua moderadamente dura con *C. vulgaris* a una concentración de 0.5×10^6 cels. ml^{-1} . Para establecer condiciones controladas los bioensayos se colocaron en la incubadora a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ con iluminación difusa durante los días de experimentación. Cada día se cuantificaron los organismos sobrevivientes y los neonatos que nacen cada 12 horas y posteriormente se retiraron del experimento. De los datos de fecundidad y supervivencia se calcularon las variables demográficas con las ecuaciones (Krebs, 1985):

$$\text{Sobrevivencia } lx = \frac{N_x}{N_o}$$

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

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

$$\text{Tasa Reproductiva neta } R_o = \sum l_x m_x$$

$$\text{Tiempo generacional } T = \frac{\sum l_x m_x x}{R_o}$$

$$\text{Tasa intrínseca de incremento poblacional } r = \sum_{x=0} e^{-rx} l_x m_x = 1$$

Con la utilización del programa SigmaPlot versión 11.0 se graficaron las variables demográficas y mediante una ANOVA de un vía, se determinaran las diferencias de los tratamientos en cada variable.

Concentración de Microcistinas

Para la medición de la concentración en los Lagos de Texcoco y de los extractos crudos de microcistinas se usó el “QuantiPlate for Microcytins de EnviroLogix™” (Portland, EUA), siguiendo las instrucciones de uso del fabricante. Los anticuerpos utilizados en el método de ELISA son de origen policlonal y se suministran como antisuero de inmunoglobulina purificada, son empleados como conjugados no marcados o enzimáticos y reaccionan con un antígeno determinado, en este caso las microcistinas.

RESULTADOS

Características Físicoquímicas del Área de Estudio

En el periodo de estudio, el pH se ha presentado básico en ambos puntos de muestreo variando de 9.24 a 11.38 unidades, el valor menor se presento en el mes de abril en el Lago Nabor Carrillo, por el contrario los valores mayores fueron identificados en el Lago recreativo, siendo el mes de octubre el que tuvo la mayor concentración de iones hidronio con 11.38 unidades.

El oxígeno disuelto (OD) Vario entre cada lago y entre los meses de muestreo, siendo Lago Nabor Carrillo el que mostro los valores mayores de concentración a lo largo del periodo de muestreo, entre ambos sitios los valores oscilaron entre 6.40 a 17.28 mg l⁻¹, en promedio las concentraciones más altas se presentaron en el mes de julio para ambos lagos. El mes de marzo fue el que presento mayor variación de concentraciones entre los sitios, con valores de 15.50 mg l⁻¹ en el Lago Recreativo y 6.68 mg l⁻¹ en el Lago Nabor Carrillo.

La salinidad no mostro drásticas variaciones en el lago Nabor Carrillo presentando valores de 4 a 6 (0/00), por otra parte, el Lago Recreativo mostro un intervalo de variación de 3 a 12 (0/00), con esto se confirma como el sitio con mayor concentración de sales carbonatadas. El mes de junio presento los máximos valores de salinidad para ambos sitios (Fig.4). El mes que presento menos concentración de sales fue el mes de septiembre con 6 (0/00) En el Lago Nabor Carrillo y 3 (0/00) en el Lago Recreativo.

El Lago Recreativo fue el sitio con mayor conductividad, los valores oscilan entre 7.57 y 12.99 mscm^{-1} . El lago Nabor Carrillo mostro valores en el rango de 4.10 a 6.71 mscm^{-1} . En promedio el mes que presento los valores mayores de conductividad específica en ambos sitios fue el de mayo, por el contrario, marzo tuvo los menores (6.46 mscm^{-1}).

La transparencia obtenida con el disco de Secchi no varió drásticamente entre los sitios. El mes de agosto fue el mes con menor transparencia y diciembre el de mayor transparencia. A lo largo de los meses de muestreo ambos sitios presentan en promedio valores de Secchi están en el rango de de 3 cm.

La concentración de fosfatos solubles en el Lago Recreativo va en aumento con cada mes, generando un gradiente positivo que va de 20 mg l^{-1} hasta 119 mg l^{-1} hasta el mes de mayo, sin embargo en los meses de junio al mes de agosto se presento un declive en la concentración de fosforo. El Lago Nabor Carrillo presenta el mismo gradiente hasta el mes de abril, pero en el mes de mayo la concentración de fosfatos disminuyo a 21.3 mg l^{-1} . En promedio el Lago con mayor concentración de fosfatos es el lago Recreativo duplicando los valores presentados en el Lago Nabor Carrillo durante los meses de muestreo (49.8 y 22.31 mg l^{-1} respectivamente).

No se encontraron grandes variaciones de concentración de nitratos entre ambos sitios de muestreo, los dos sitios se muestran gradientes ascendentes que sobre pasan en el mes de mayo la unidad (Fig.4). En ambos lagos las concentraciones menores fueron obtenidas en el mes de septiembre (0.38 y 0.24 mg l^{-1}), y antagónicamente los valores mayores fueron reportados en el mes de mayo (1.5 en promedio mg l^{-1}).

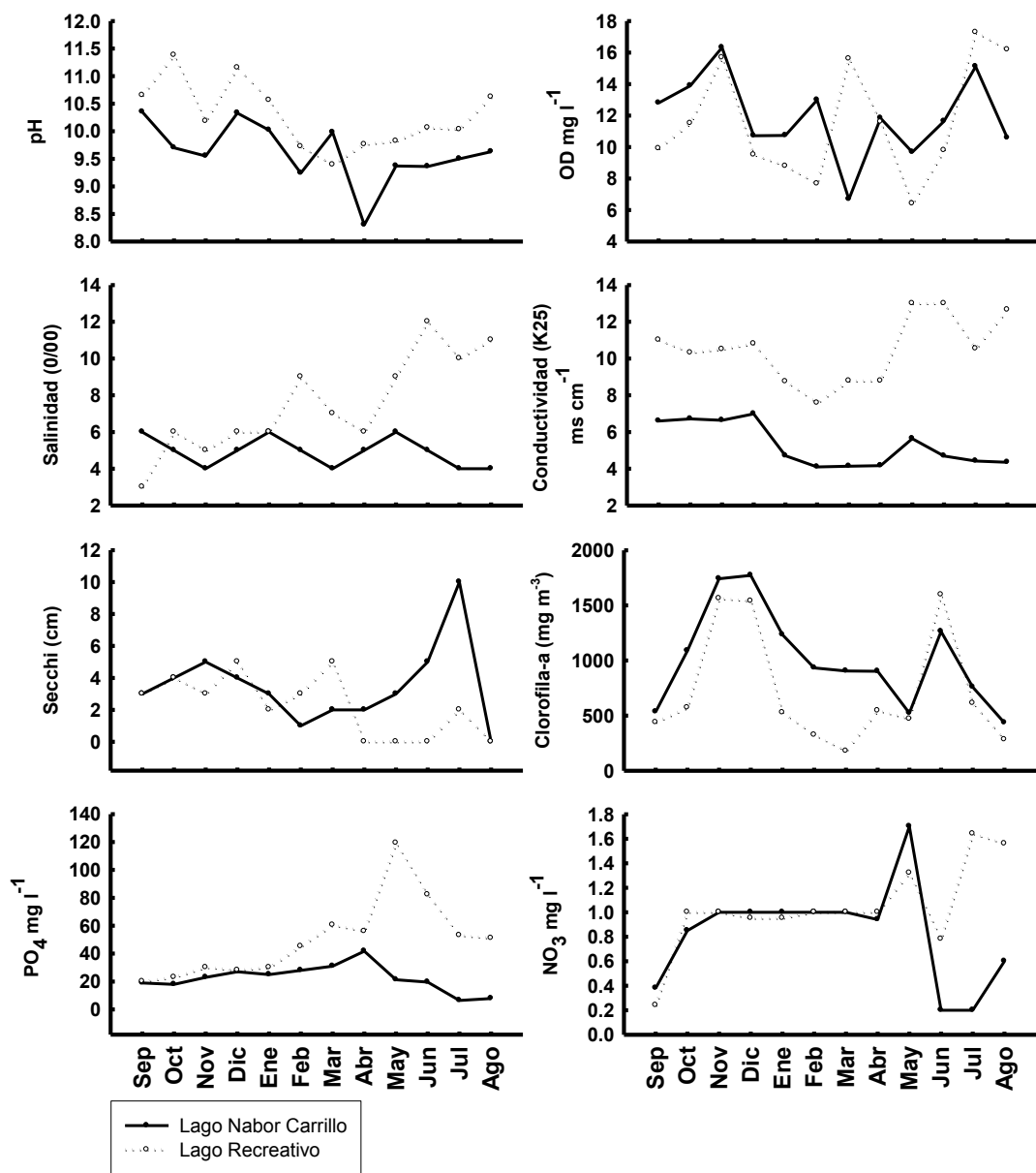


Figura 4. Parámetros Físicoquímicos registrados de septiembre de 2012 a octubre de 2013 en el Lago Nabor Carrillo y El Lago Recreativo (Lagos de Texcoco).

Parámetros	Lago Nabor Carrillo				Lago Recreativo			
	Prom.	DE	Min	Max	Prom.	DE	Min	Max
OD (mg l^{-1})	11.9	0.74	6.6	16.3	11.6	1.05	6.4	17.28
(K25) ms cm^{-1}	5.2	0.33	4.1	6.9	10.4	0.51	7.5	12.9
Salinidad (0/00)	4.9	0.22	4.0	6.0	7.5	0.77	3.0	12.0
pH	9.6	0.15	8.3	10.3	10.2	0.17	9.3	11.3
Secchi (cm)	3.5	0.73	0	10	2.2	0.55	0	5
Clorofila-a (mg m^{-3})	1007	126	435	1772	719	151	117	1595
P-PO4 (mg l^{-1})	22.3	2.77	6.4	41.7	49.8	8.21	20	119
N-NO3 (mg l^{-1})	0.82	0.12	0.20	1.7	1.03	0.10	0.24	1.6
Microcistinas (μl^{-1})	0.67	0.13	0.23	1.59	0.91	0.22	0.20	2.47

Tabla 2. Características fisicoquímicas del Lago Nabor Carrillo y el Lago Recreativo (Prom=Promedio, DE= Desviación estándar, Min= Valor mínimo, Max= Valor Máximo).

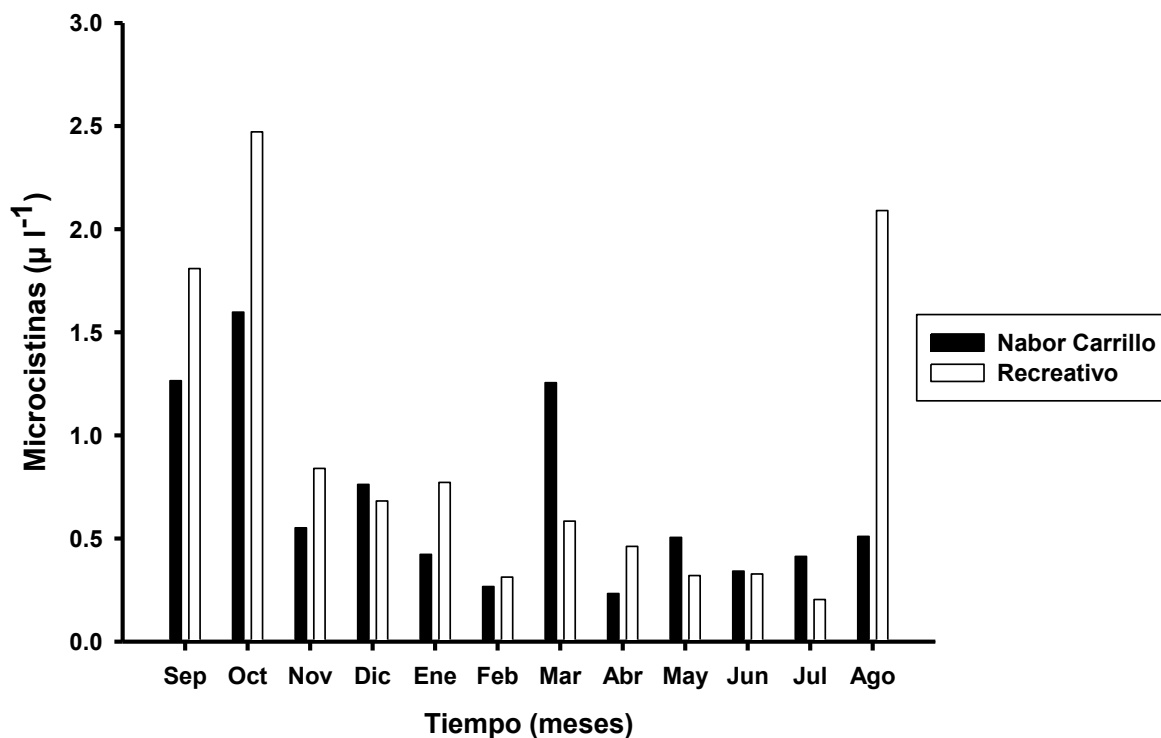


Figura 1. Concentración anual (septiembre de 2012 a octubre de 2013) de Microcistinas en los lagos Nabor Carrillo y Recreativo.

Lago Nabor Carrillo	Concentración de Microcistinas ($\mu\text{g/l}^{-1}$)	Lago Recreativo	Concentración de Microcistinas ($\mu\text{g/l}^{-1}$)
Extracto Crudo Concentrado (Febrero)	0.629	Extracto Crudo Concentrado (Febrero)	0.836
Extracto Crudo Concentrado (Mayo)	1.283	Extracto Crudo Concentrado (Mayo)	2.163
Extracto Crudo Concentrado (Agosto)	1.440	Extracto Crudo Concentrado (Agosto)	3.164
Extracto Crudo Diluido 50% (Febrero)	0.367	Extracto Crudo Diluido 50% (Febrero)	0.481
Extracto Crudo Diluido 50% (Mayo)	0.622	Extracto Crudo Diluido 50% (Mayo)	0.743
Extracto Crudo Diluido 50% (Agosto)	0.606	Extracto Crudo Diluido 50% (Agosto)	2.673

Tabla 5. Concentraciones de Microcistinas en $\mu\text{g/l}^{-1}$, obtenidas a partir de los extractos crudos cianobacteriales concentrados y diluidos de los meses de febrero, mayo y agosto, usando tres testigos estandarizados (0.16, 0.60 y $2.5 \mu\text{g/L}^{-1}$).

Crecimiento Poblacional (Febrero)

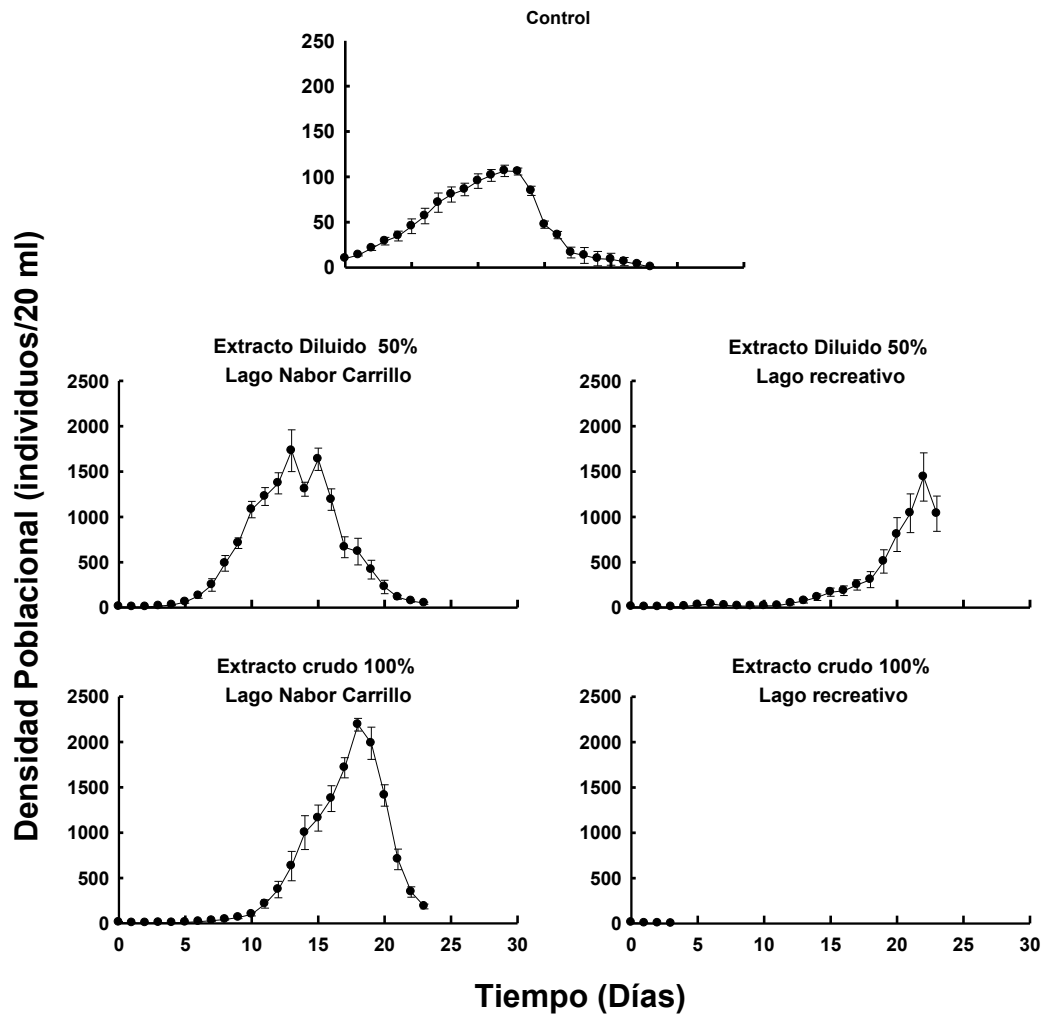
En las curvas de crecimiento poblacional, la presencia del extracto crudo, no generó un efecto negativo sobre la densidad poblacional del clon de *Brachionus calyciflorus* aislado de los Lagos pertenecientes a Texcoco, los organismos expuestos al tóxico extraído del florecimiento presente en el Lago Nabor Carrillo crecieron más que en el tratamiento control. El tratamiento que contenía extracto diluido 50% mostró densidades de hasta 86.5 Ind/ml y el tratamiento con extracto 100% alcanzó densidades de 109.5 Ind/ml, es decir, entre mayor era la concentración mayor fue su crecimiento (Fig.2).

En los organismos expuestos al extracto sin dilución (100%) realizado con el florecimiento cianobacterial presente en el Lago recreativo, se tuvo un efecto negativo sobre su crecimiento, debido a que se generó la mortandad total de los organismos en menos de 5 días. El tratamiento con dilución del 50% mostró un

incremento en la densidad poblacional conforme pasaban los días, hasta alcanzar densidades de hasta 72 Ind/ml. El control obtuvo valores de 5.3 Ind/ml, valores menores que en el tratamiento con 50% de extracto crudo diluido (Fig.3).

Los resultados de crecimiento poblacional del clon de *Brachionus calyciflorus* aislado del Lago de Xochimilco y expuesto a 2 concentraciones tóxicas de un florecimiento cianobacterial presente en el Lago Nabor Carrillo son presentados en la figura 4. Se observa que en los tratamientos tóxicos los organismos mantuvieron una alta densidad poblacional, y al igual que en el clon de Texcoco, entre mayor era la concentración mayor era su crecimiento exponencial, obteniendo valores de 78.5 Ind/ml (extracto 50%) y 105.7 Ind/ml (extracto 100%). A diferencia de los tratamientos con presencia de tóxico, el control mostro valores demográficos de 6 Ind/ml.

Brachionus calyciflorus aislado del Lago de Xochimilco, creció de forma similar que el clon de Texcoco, en presencia del extracto crudo diluido 50% del Lago Recreativo, aumentando su población hasta 89.75 Ind/ml. De igual forma en el tratamiento con extracto sin dilución se puede observar un decremento poblacional, generado por la muerte de los organismos en menos de 5 días (Fig.5).



Crecimiento poblacional de un clon de *Brachionus calyciflorus* (clon aislado del lago Texcoco) expuesto a 2 diferentes concentraciones crónicas de extractos crudos de un florecimiento cianobacterial presente en el mes de Febrero en los lagos Nabor Carrillo y recreativo, se les suministro *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels ml^{-1} como alimento.

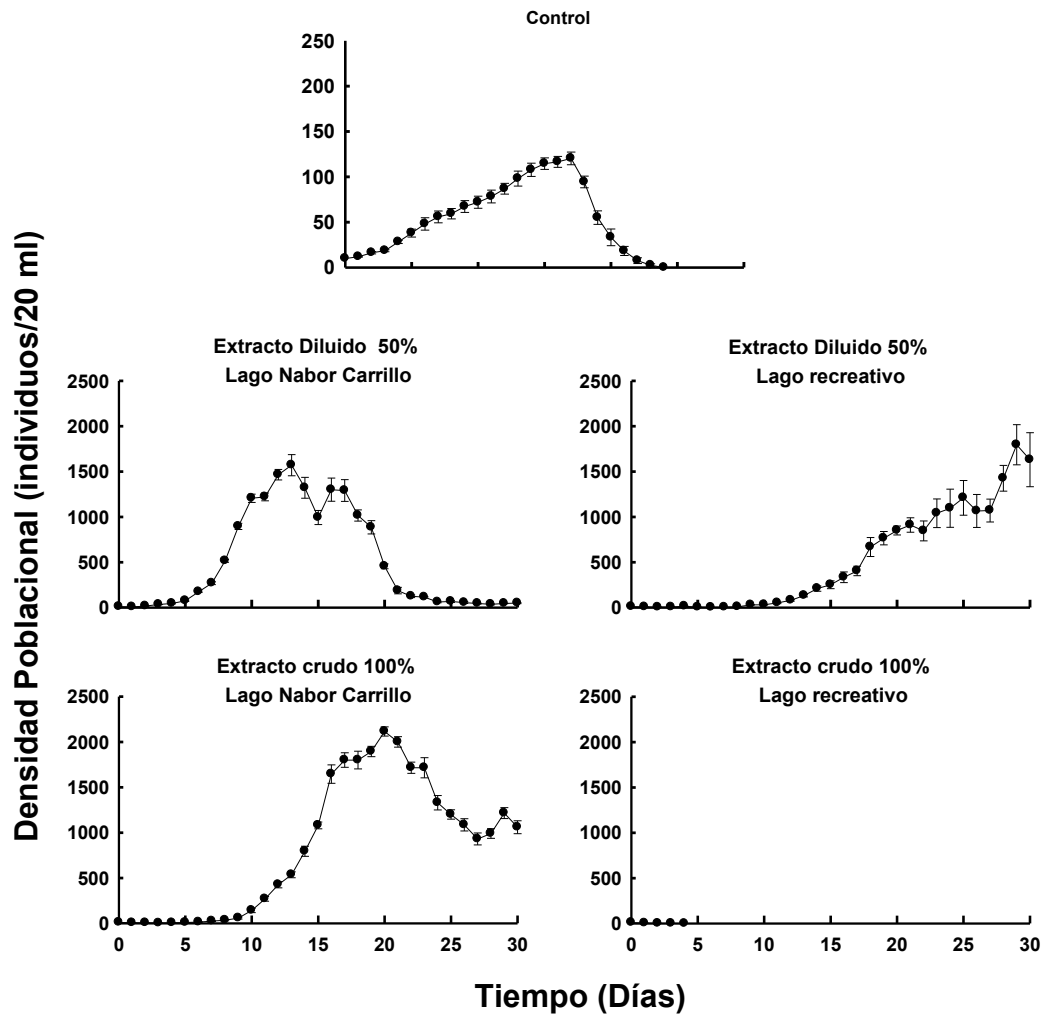


Fig. XX. Crecimiento poblacional de un clon de *Brachionus calyciflorus* (clon aislado de los canales de Xochimilco) expuesto a 2 diferentes concentraciones crónicas de extractos crudos de un florecimiento cianobacterial presente en el mes de Febrero en los lagos Nabor Carrillo y recreativo, se les suministro *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels ml^{-1} como alimento.

Tasas de crecimiento poblacional, densidad máxima y día de densidad máxima (Febrero)

En las tasas de crecimiento poblacional, se puede observar que ambos clones de *Brachionus calyciflorus* muestran diferencias significativas entre los tratamientos con presencia de extracto crudo del Lago Nabor Carrillo (0.48 y 0.38 clon de Texcoco y 0.45 y 0.37 d^{-1} clon de Xochimilco) con respecto al control. Entre los tratamientos tóxicos se puede apreciar que la concentración con 50% de extracto obtuvo los mayores valores del aumento en la tasa de crecimiento poblacional en ambos clones (verificado con una prueba de ANOVA de una vía).

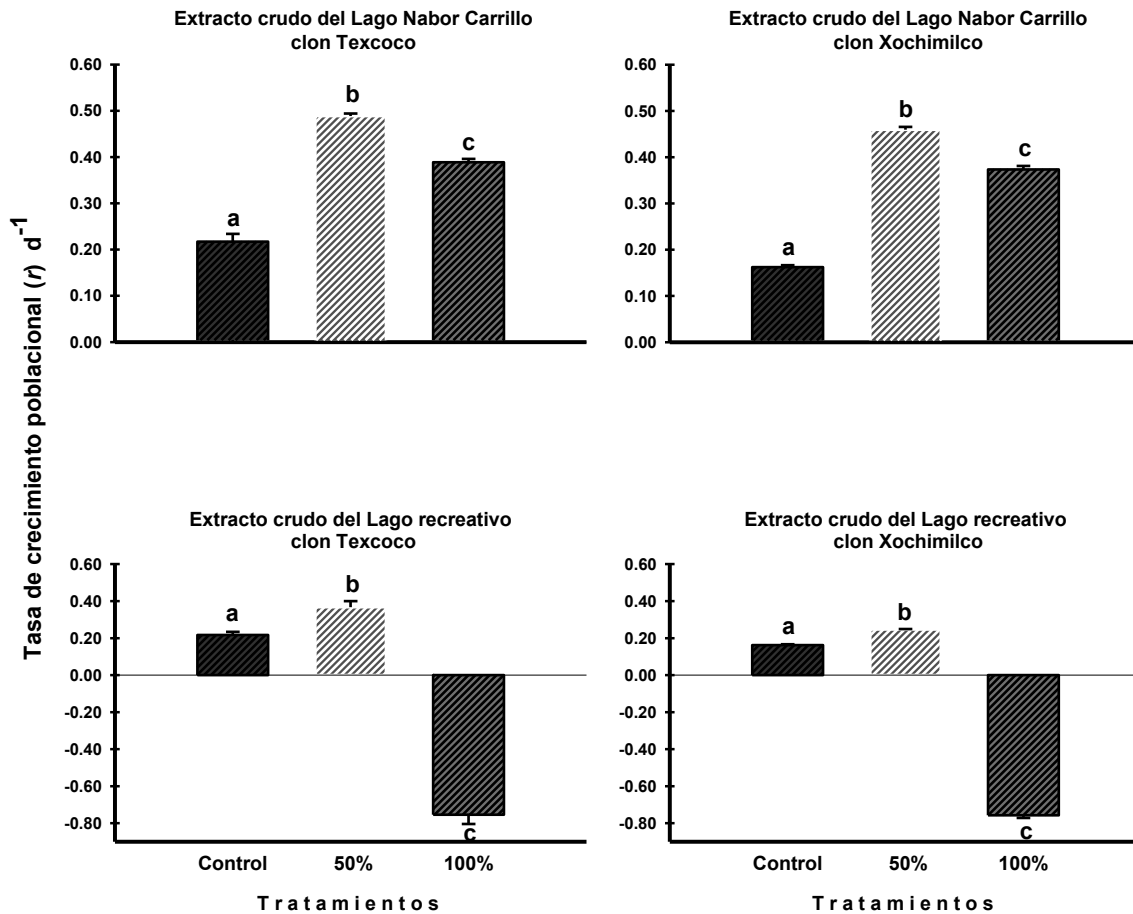
En el extracto preparado del Lago Recreativo, los clones mostraron diferencias significativas entre todos los tratamientos y el control, siendo este último el que mostró los valores positivos más bajos alcanzando una tasa de crecimiento de 0.21 d^{-1} en el clon aislado de Texcoco y 0.16 d^{-1} en el aislado de Xochimilco. Tanto en el experimento realizado con clones de Texcoco y Xochimilco. Los tratamientos que contenían 100% extracto crudo presentaron valores negativos, mostrando ambos un valor negativo de -0.75 d^{-1} (Fig. 6 y 7).

Las graficas de barras de densidad máxima con el clon de Texcoco muestran que existen diferencias significativas entre todos los, siendo el control quien obtuvo los valores menores que son en promedio de 5.45 Ind/ml y el tratamiento con mayor concentración de microcistinas del lago Nabor el que tuvo los valores mayores con 114 Ind/ml. Con este mismo clon pero con el extracto del Lago recreativo existen diferencias significativas entre el control y el tratamiento con 50% de extracto (5.45 y 72 Ind/ml), el tratamiento con 100% de extracto crudo no fue graficado ya que nunca tuvo crecimiento poblacional y su densidad máxima no es representativa (Fig.8).

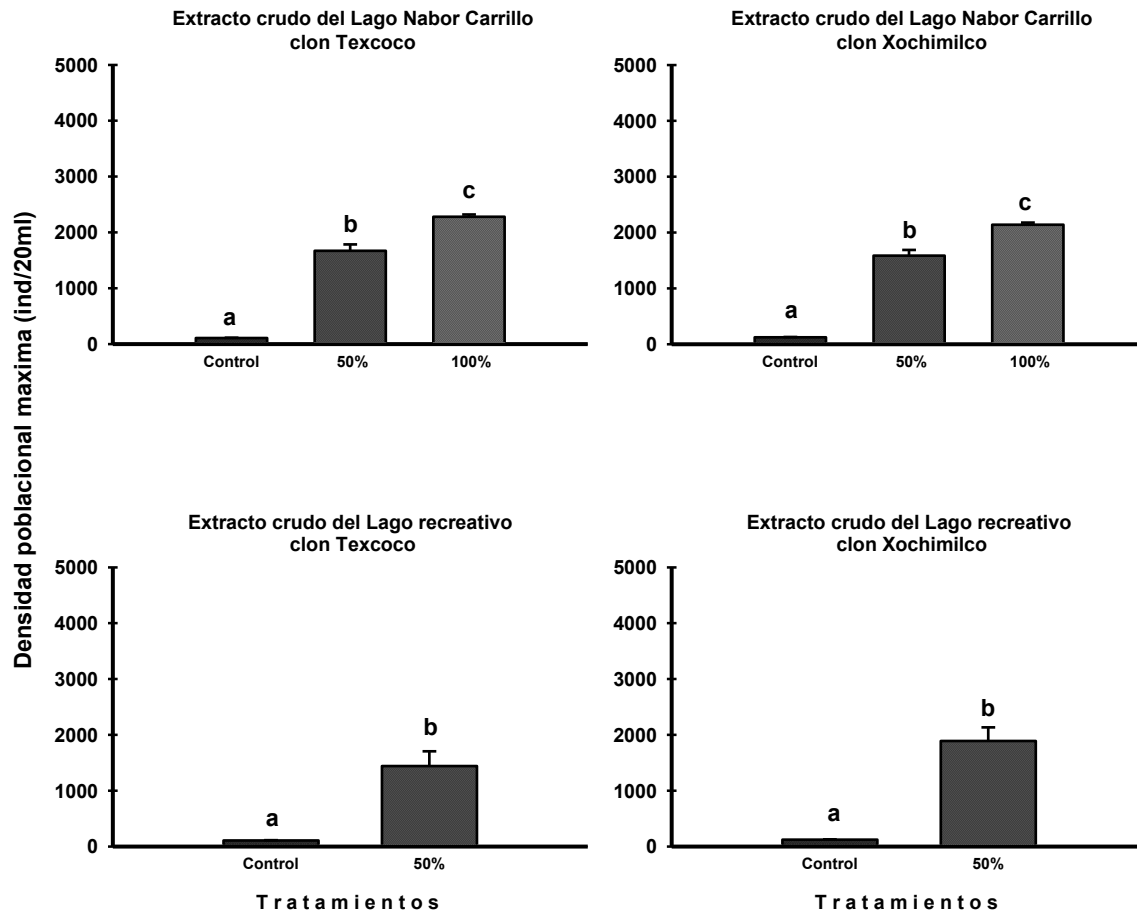
Los valores de densidad máxima obtenidos por el clon de *Brachionus calyciflorus* perteneciente al Lago de Xochimilco se comporto de forma muy similar al de Texcoco, sin embargo entre los tratamientos con presencia de extracto realizado con el florecimiento del Lago Nabor, no existe diferencia significativa (1585 y 2140 Ind/20ml.) Al igual que con el clon de Xochimilco en el extracto del Lago Recreativo no se graficaron los valores de densidad máxima del tratamiento 100%, siendo así el tratamiento 50% toxico el que tuvo los valores mayores con 1890 Ind/20ml (Fig.9).

Los tratamientos tóxicos 50% y 100% del Lago Nabor Carrillo con el clon de Texcoco y el control mostraron un incremento en la densidad poblacional conforme pasaban los días, sus máximas densidades fueron alcanzadas en el días 12 13 y 18, generando así una diferencia significativa entre el día de máxima densidad del extracto 100% con respecto al control y al extracto 50% (Fig. 10). El día 21 fue cuando el tratamiento con extracto 50% de el Lago recreativo mostro su mayor densidad poblacional, casi duplicando los días que tardó el control en alcanzarlo.

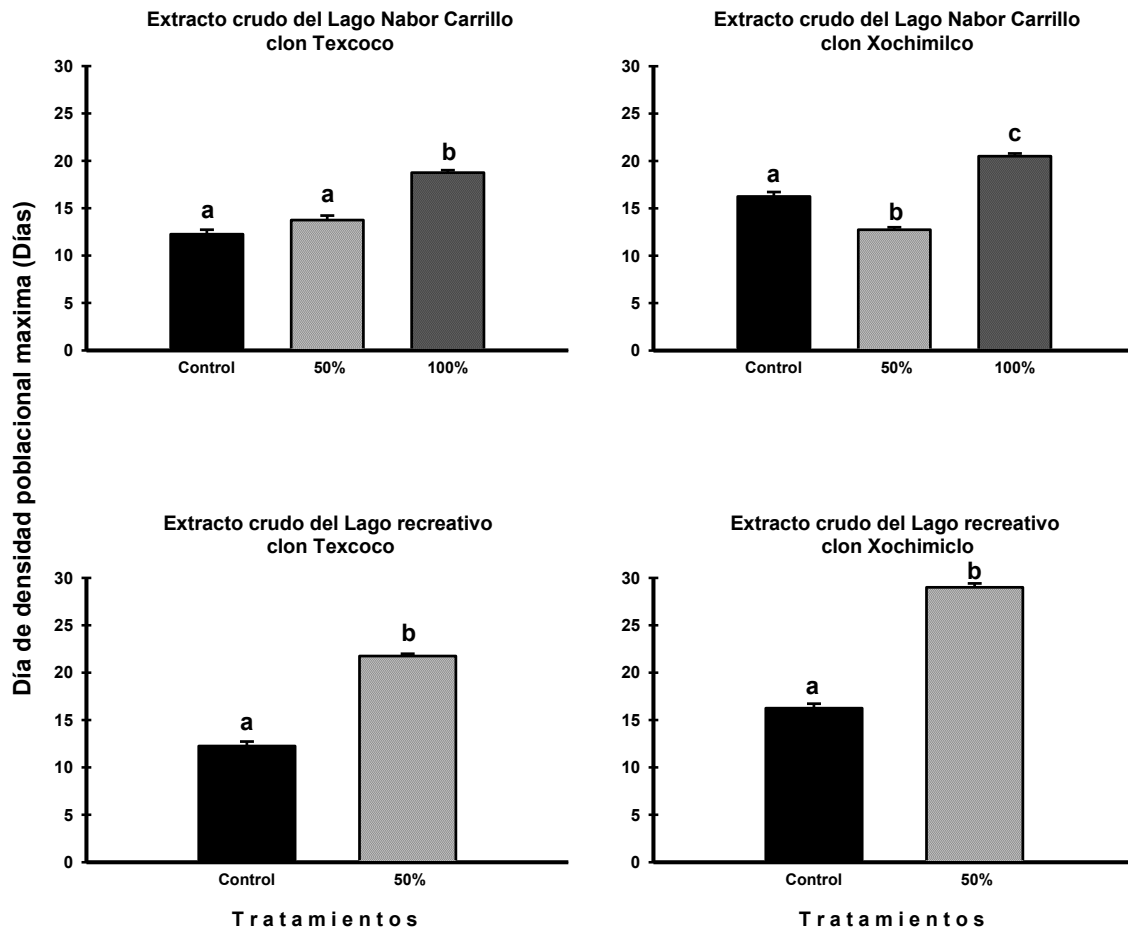
Con el clon de Xochimilco el tratamiento 50% del Lago Nabor fue el que tardó menos días en alcanzar su máxima densidad y se presentó alrededor del día 13, en contra parte el tratamiento 100% presentó su máxima abundancia en el día 20. El tratamiento con extracto 50% del Lago recreativo fue el que más días tardó en alcanzar su densidad máxima de todos los experimentos, obteniendo esta en el día 29 de experimentación (Fig.11).



Tasas de crecimiento poblacional (r) *Brachionus calyciflorus* (clones aislado de Texcoco y Xochimilco) en el experimento realizado en el mes de Febrero. Obtenida de 3 tratamientos (control, tratamiento con 50% y 100% de extracto crudo de 2 florecimientos cianobacteriales presentes en el Lago Nabor Carrillo y el Lago Recreativo, con cuatro repeticiones \pm error estándar.



Densidad máxima de *Brachionus calyciflorus* (clones aislados de Texcoco y de los canales de Xochimilco), obtenida de 3 tratamientos: control, tratamiento con 50% y 100% de extracto crudo de 2 florecimientos cianobacteriales presentes en el Lago Nabor Carrillo y el Lago Recreativo, durante el mes de Febrero.



Día de densidad máxima *Brachionus calyciflorus* (clones aislados del lago de Texcoco y de los canales de Xochimilco), obtenida de 3 tratamientos: control, tratamiento con 50% y 100% de extracto crudo de 2 florecimientos cianobacteriales presentes en el Lago Nabor Carrillo y el Lago Recreativo, durante el mes de Febrero.

Tabla 4. Análisis de varianza de una vía (ANOVA), para determinar si existen diferencia significativas entre 2 concentraciones de extractos cianobacteriales del mes de Febrero (tratamientos con 100% y 50% de extracto crudo diluido), sobre dos clones de *Brachionus calyciflorus*, y un testigo control compuesto de EPA y *C. vulgaris*, donde DF = grados de libertad, SS = suma de cuadrados, MS = media al cuadrado, F= prueba de Fisher y P = valor P.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Tasas de crecimiento: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Texcoco, Lago Nabor Carrillo)	2	0.151	0.0754	158.045	<0.001
Residual	9	0.00429	0.000477		
Total	11	0.155			
Tasas de crecimiento: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Texcoco, Lago Recreativo)	2	2.964	1.482	283.730	<0.001
Residual	9	0.0470	0.00522		

Total	11	3.011			
Tasas de crecimiento: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Xochimilco, Lago Nabor Carrillo)	2	0.187	0.0935	612.996	<0.001
Residual	9	0.00137	0.000153		
Total	11	0.188			
Tasas de crecimiento: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Xochimilco, Lago Recreativo)	2	2.478	1.239	3941.542	<0.001
Residual	9	0.00283	0.000314		
Total	11	2.481			
Densidad máxima: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Texcoco, Lago Nabor Carrillo)	2	10031904.167	5015952.083	258.980	<0.001
Residual	9	174312.750	19368.083		
Total	11	10206216.917			
Densidad máxima: Control, Tratamiento y 50% (Clon Texcoco, Lago Recreativo)	1	3544453.125	3544453.125	25.046	0.002
Residual	6	849112.750	141518.792		
Total	7	4393565.875			
Densidad máxima: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Xochimilco, Lago Nabor Carrillo)	2	8682691.500	4341345.750	276.228	<0.001
Residual	9	141448.750	15716.528		
Total	11	8824140.250			
Densidad máxima: Control, Tratamiento y 50% (Clon Xochimilco, Lago Recreativo)	1	6242811.125	6242811.125	52.143	<0.001
Residual	6	718348.750	119724.792		
Total	7	6961159.875			
Día de Densidad máxima: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Texcoco, Lago Nabor Carrillo)	2	92.667	46.333	66.720	<0.001
Residual	9	6.250	0.694		
Total	11	98.917			
Día de Densidad máxima: Control y Tratamiento 50% (Clon Texcoco, Lago Recreativo)	1	180.500	180.500	309.429	<0.001
Residual	6	3.500	0.583		
Total	7				
Día de Densidad máxima: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Xochimilco, Lago Nabor Carrillo)	2	120.500	60.250	120.500	<0.001
Residual	9	4.500	0.500		
Total	11	125.000			
Día de Densidad máxima: Control y Tratamiento 50% (Clon Xochimilco, Lago Recreativo)	1	312.500	312.500	340.909	<0.001
Residual	6	5.500	0.917		
Total	7	318.000			

Crecimiento Poblacional (Mayo)

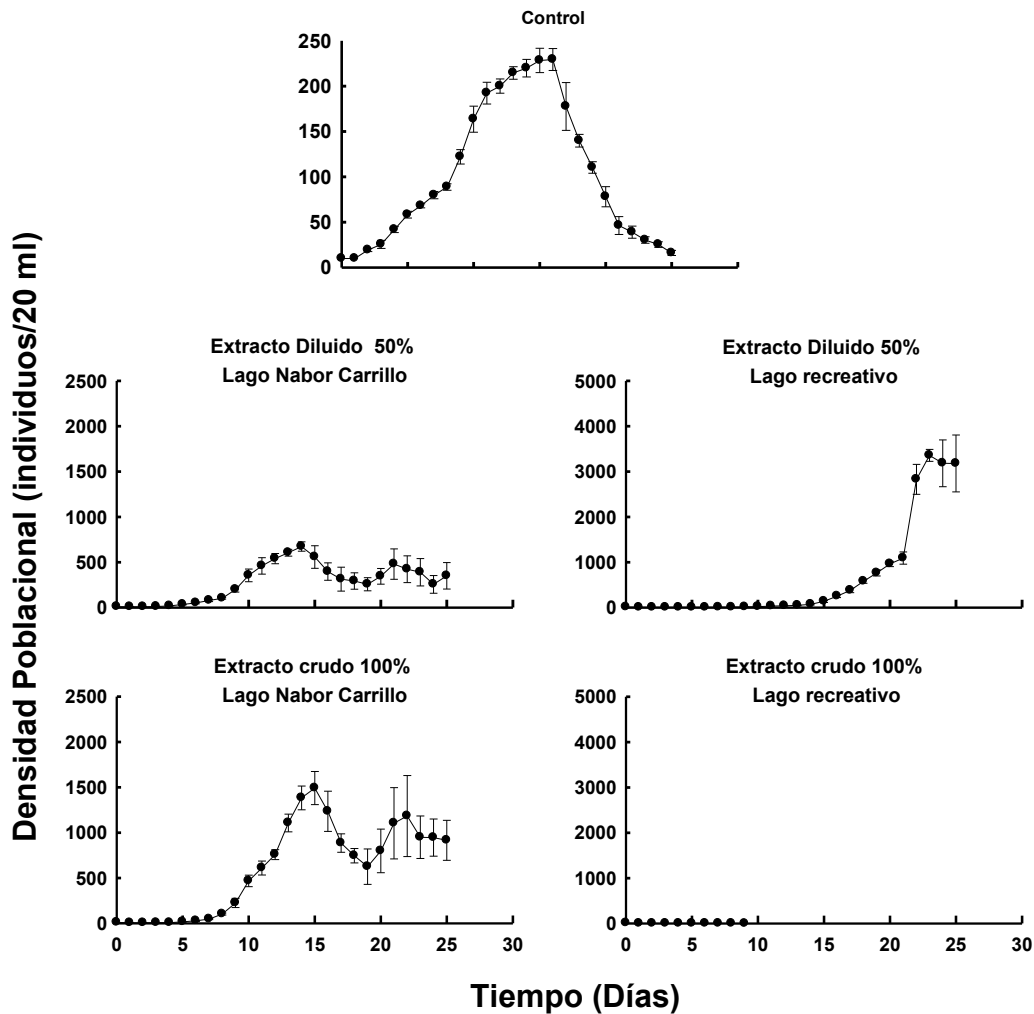
En las curvas de crecimiento poblacional con el clon de Texcoco, colocado en el extracto del Lago Nabor Carrillo, presento un mayor aumento poblacional en el tratamiento que contenía 100% del extracto, con densidades máximas de 74.5 Ind/ml, y en el tratamiento con 50% de extracto su densidad máxima fue 33.6 Ind/ml, a pesar de estas altas densidades, su crecimiento exponencial se vio aletargado más de 5 días.

Por su parte, los clones de Texcoco expuestos al 50% de extracto de el lago Recreativo, presentaron un mayor aletargamiento de crecimiento exponencial, superando más de la mitad del tiempo (días) de experimentación, sin embargo, alcanzaron valores demográficos de 167 Ind/ml.

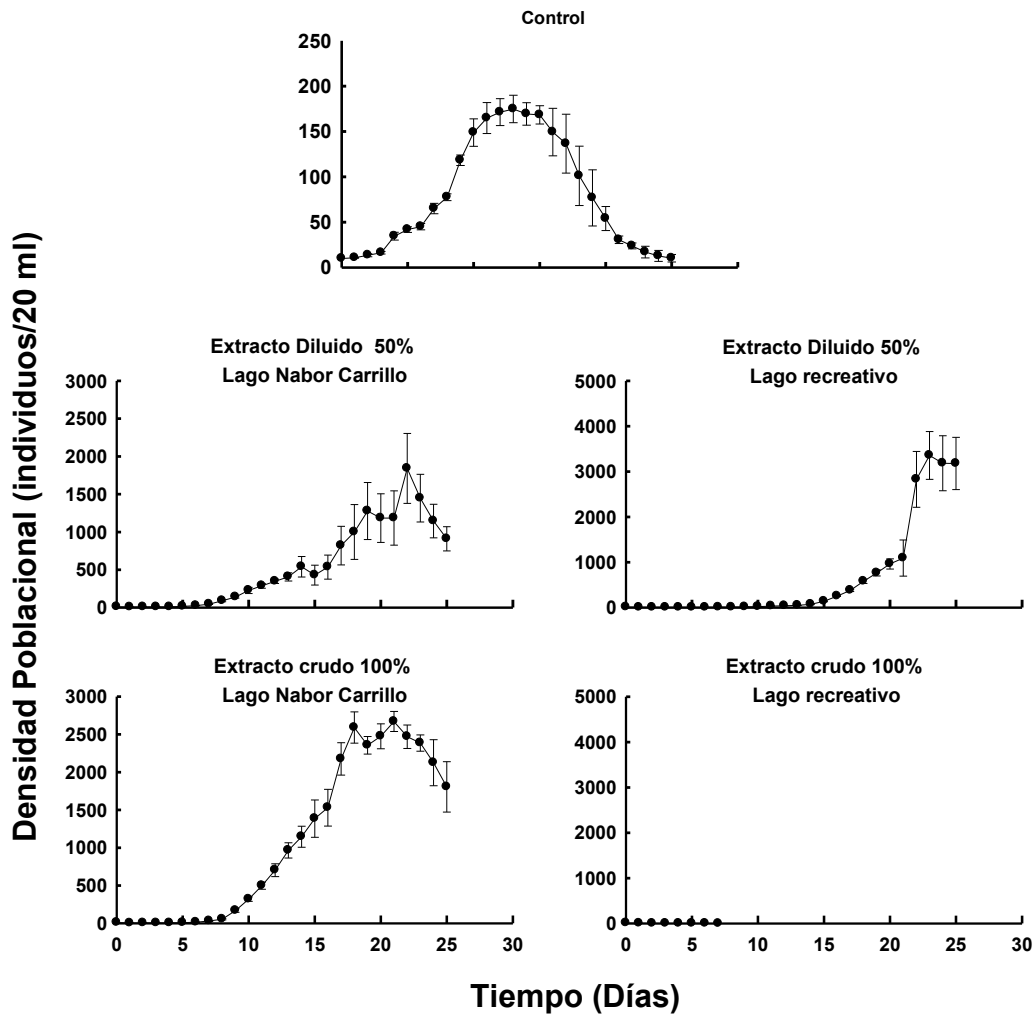
En los organismos expuestos al extracto sin dilución (100%), realizado con el florecimiento cianobacterial presente en el Lago recreativo, se tuvo un efecto negativo sobre su crecimiento exponencial, debido a que se genero la mortandad total de los organismos en menos de 5 días. El tratamiento con dilución del 50% mostró un incremento en la densidad poblacional conforme pasaban los días, hasta alcanzar densidades de hasta 72 Ind/ml. El control obtuvo valores de 5.3 Ind/ml, valores menores que en el tratamiento con 50% de extracto crudo diluido (Fig.3).

Los resultados de crecimiento poblacional del clon de *Brachionus calyciflorus* aislado del Lago de Xochimilco y expuesto a 2 concentraciones toxicas de un florecimiento cianobacterial presente en el Lago Nabor Carrillo son presentados en la figura 4. Se observa que en los tratamientos tóxicos los organismos mantuvieron una alta densidad poblacional, y al igual que en el clon de Texcoco, entre mayor era la concentración mayor era su crecimiento exponencial, obteniendo valores de 78.5 Ind/ml (extracto 50%) y 105.7 Ind/ml (extracto 100%). A diferencia de los tratamientos con presencia de tóxico, el control mostro valores demográficos de 6 Ind/ml.

Brachionus calyciflorus aislado del Lago de Xochimilco, creció de forma similar que el clon de Texcoco, en presencia del extracto crudo diluido 50% del Lago Recreativo, aumentando su población hasta 89.75 Ind/ml. De igual forma en el tratamiento con extracto sin dilución se puede observar un decremento poblacional, generado por la muerte de los organismos en menos de 5 días (Fig.5).



Crecimiento poblacional de un clon de *Brachionus calyciflorus* (clon aislado del lago Texcoco) expuesto a 2 diferentes concentraciones crónicas de extractos crudos de un florecimiento cianobacterial presente en el mes de Mayo en los lagos Nabor Carrillo y recreativo, se les suministro *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels ml^{-1} como alimento.



Crecimiento poblacional de un clon de *Brachionus calyciflorus* (clon aislado de los canales de Xochimilco) expuesto a 2 diferentes concentraciones crónicas de extractos crudos de un florecimiento cianobacterial presente en el mes de Mayo en los lagos Nabor Carrillo y recreativo, se les suministro *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels ml^{-1} como alimento.

Tasas de crecimiento poblacional, densidad máxima y día de densidad máxima (Mayo)

Las barras de tasa de crecimiento poblacional, muestran que los extractos crudos cianobacteriales del lago Nabor Carrillo no generaron decremento de la tasa, por el contrario, promovieron el crecimiento exponencial, a mayor concentración del extracto mayor fue el aumento demográfico, superando incluso al tratamiento control. Los tratamientos que contenían 50% del extracto en ambos clones obtuvieron valores de 0.37 y 0.29 d^{-1} , siendo el segundo valor el obtenido por el clon aislado de Xochimilco. El tratamiento con mayor tasa de incremento fue el clon de Texcoco colocado en 100% del extracto, alcanzo un valor de 0.43 d^{-1} , es decir, el doble que el testigo.

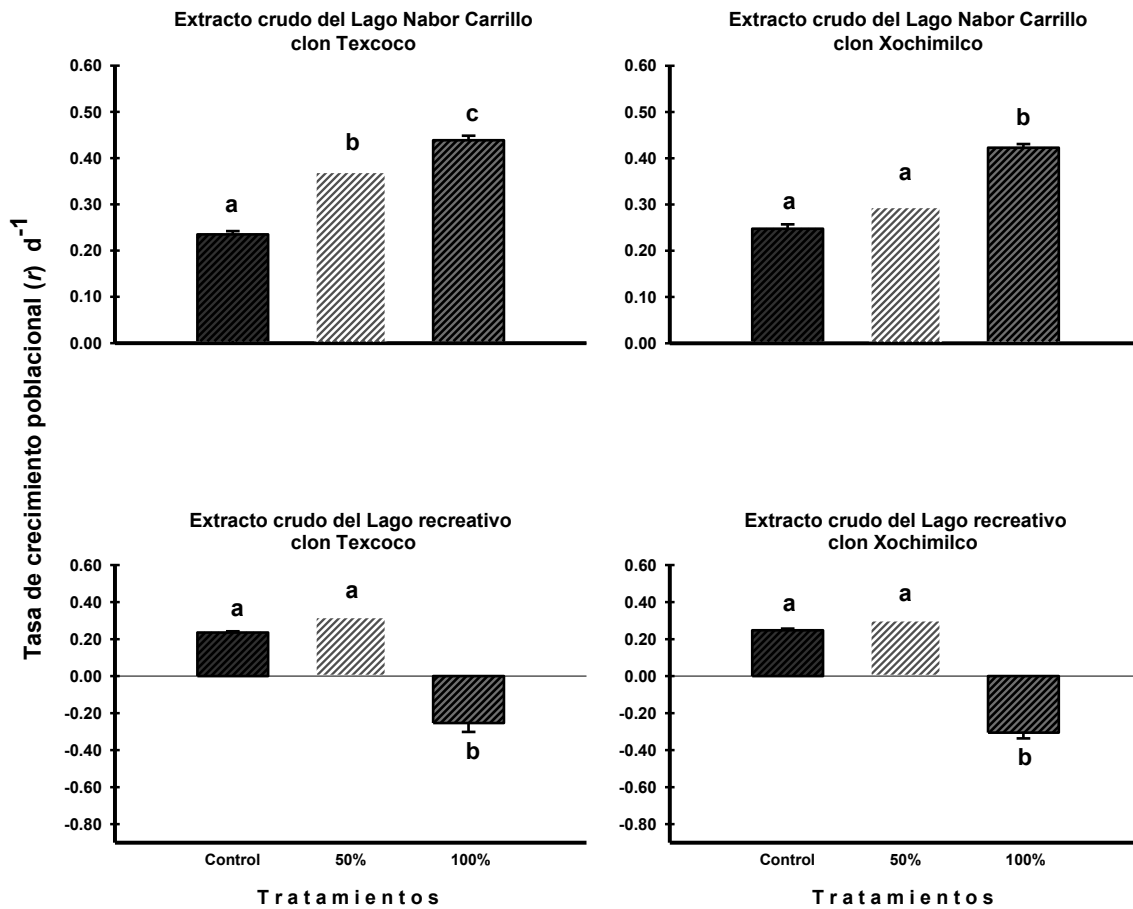
En el extracto preparado del Lago Recreativo los clones mostraron diferencias significativas entre todos los tratamientos con respecto al testigo, donde el tratamiento que contenía 100% de extracto mostro valores negativos en los dos clones, presentando una tasa de crecimiento de -0.25 y -0.30 d^{-1} , (Fig. 6 y 7). Contrariamente, los clones colocados en el tratamiento con 50% de células lisadas, tuvieron las mayores unidades de incremento con 0.32 y 0.30 d^{-1} , siendo el primer valor mostrado por el clon de Texcoco.

Los valores de densidad máxima obtenidos por el clon de *Brachionus calyciflorus* perteneciente al Lago de Texcoco, sometido a extractos crudos del lago Nabor carrillo, mostraron una relación entre la concentración del extracto y su abundancia, entre mayor fue la concentración, mayor fue el aumento demográfico, alcanzado valores de 718 Ind/20ml en el extracto 50% y 2370 Ind/20ml en el extracto 100%. En el caso de los organismo sometidos al extracto del lago recreativo para este mismo clon, el tratamiento que contenía 50% de extracto obtuvo los valores mayores de densidad poblacional (3758 Ind/20ml), los organismo expuestos al extracto 100% la población no sobrevivieron, muriendo en el día 9.

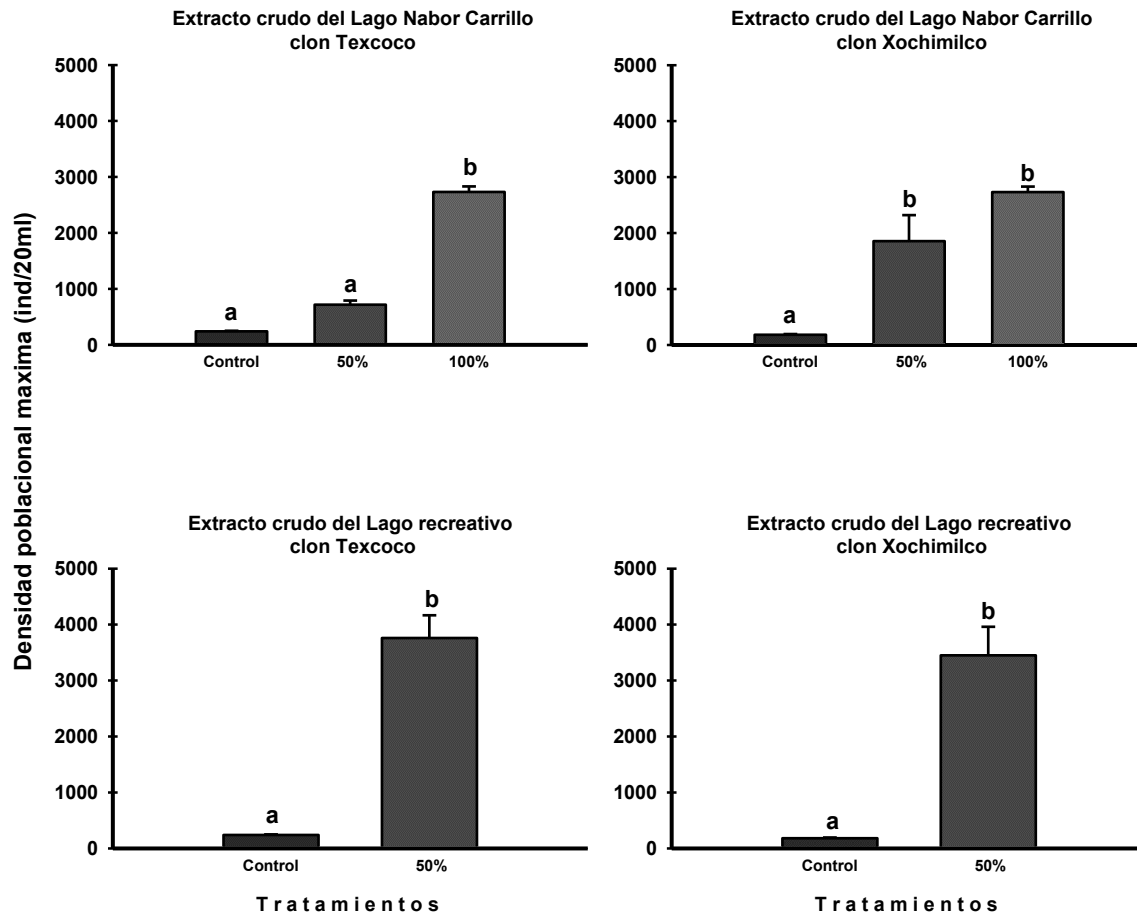
El clon de Xochimilco mostro la misma tendencia, aumentando su demografía al exponerse a los extractos crudos cianobacteriales del lago Nabor Carrillo, entre los tratamiento que con presencia de extracto, no existe diferencia significativa, pero si la hay cuando se comparan con el tratamiento control, superando a este de forma drástica (control: 181 Ind/20ml, extracto 50%: 1855 Ind/20ml y extracto 100%: 2739 Ind/20ml). El tratamiento 50% del lago recreativo, tuvo los mayores valores de densidad mostrados por este clon de Xochimilco, alcanzando un aumento demográfico de 3450 Ind/20ml.

Los tratamientos tóxicos 50% y 100% del Lago Nabor Carrillo, con el clon de Texcoco, no mostraron diferencias significativas entre ellos ni en contra del control, con respecto al día de mayor demografía. Sin embargo, el tratamiento expuesto al extracto 50% del lago recreativo si muestra diferencia significativa con el control, postergando su máxima densidad hasta el día 23, casi al final del experimento.

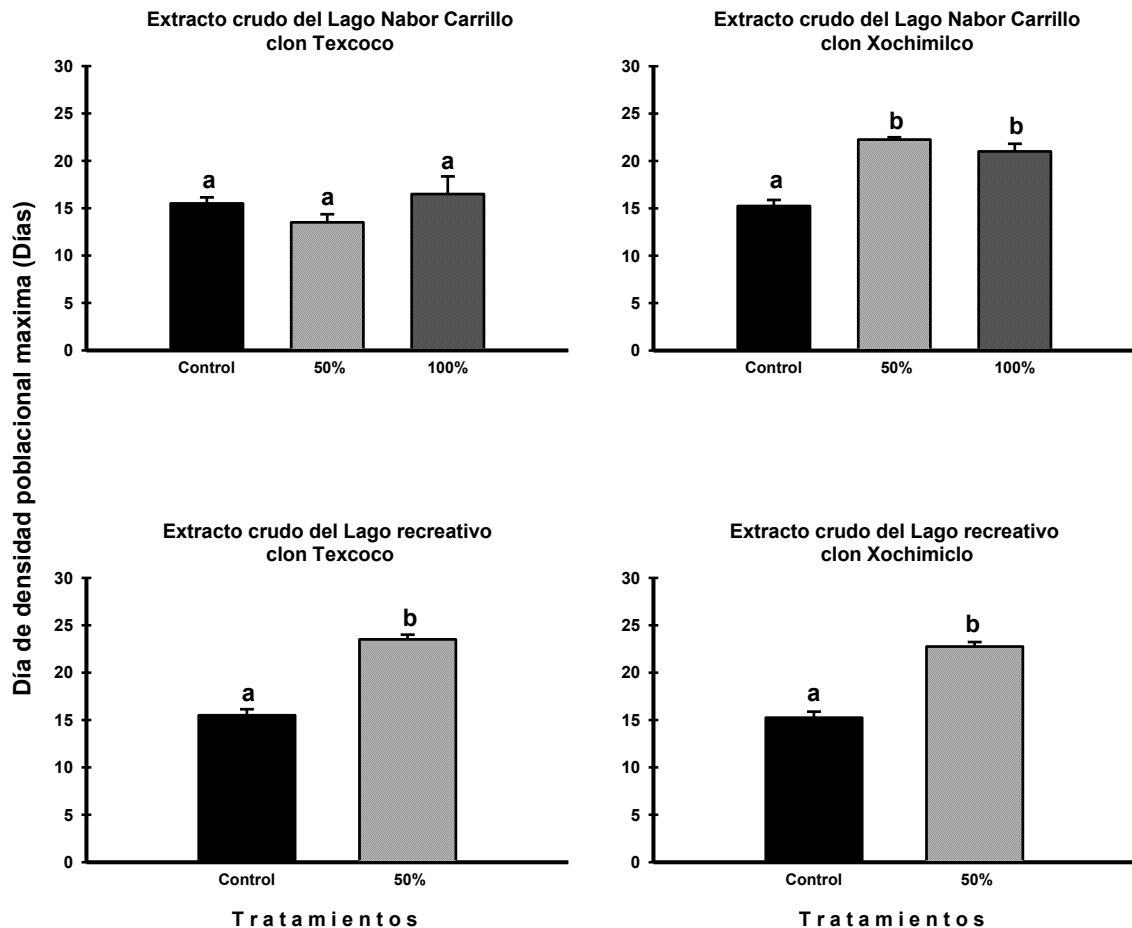
A diferencia del clon de Texcoco, el clon de Xochimilco sometido a los extractos del lago Nabor, si mostraron diferencias significativa con el testigo (día 15), obteniendo su máxima densidad hasta el día 22 y 21. El tratamiento 50% del lago Recreativo, igualo al tratamiento 50% del lago Nabor, teniendo en el día 22 su mayor densidad demográfica.



Tasas de crecimiento poblacional (r) *Brachionus calyciflorus* (clones aislado de Texcoco y Xochimilco) en el experimento realizado en el mes de Mayo. Obtenida de 3 tratamientos (control, tratamiento con 50% y 100% de extracto crudo de 2 florecimientos cianobacteriales presentes en el Lago Nabor Carrillo y el Lago Recreativo, con cuatro repeticiones \pm error estándar.



Densidad máxima de *Brachionus calyciflorus* (clones aislados de Texcoco y de los canales de Xochimilco), obtenida de 3 tratamientos: control, tratamiento con 50% y 100% de extracto crudo de 2 florecimientos cianobacteriales presentes en el Lago Nabor Carrillo y el Lago Recreativo durante el mes de Mayo.



Día de densidad máxima *Brachionus calyciflorus* (clones aislados del lago de Texcoco y de los canales de Xochimilco), obtenida de 3 tratamientos: control, tratamiento con 50% y 100% de extracto crudo de 2 florecimientos cianobacteriales presentes en el Lago Nabor Carrillo y el Lago Recreativo, durante el mes de Febrero.

Tabla 4. Análisis de varianza de una vía (ANOVA), para determinar si existen diferencia significativas entre 2 concentraciones de extractos cianobacteriales del mes de Mayo (tratamientos con 100% y 50% de extracto crudo diluido), sobre dos clones de *Brachionus calyciflorus*, y un testigo control compuesto de EPA y *C. vulgaris*, donde DF = grados de libertad, SS = suma de cuadrados, MS = media al cuadrado, F= prueba de Fisher y P = valor P.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Tasas de crecimiento: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Texcoco, Lago Nabor Carrillo)	2	0.0912	0.0456	102.094	<0.001
Residual	9	0.00402	0.000446		
Total	11	0.0952			
Tasas de crecimiento: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Texcoco, Lago Recreativo)	2	0.653	0.326	99.938	<0.001

Residual	9	0.0294	0.00327		
Total	11	0.682			
Tasas de crecimiento: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Xochimilco, Lago Nabor Carrillo)	2	0.101	0.0504	56.562	<0.001
Residual	9	0.00802	0.000891		
Total	11	0.109			
Tasas de crecimiento: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Xochimilco, Lago Recreativo)	2	0.832	0.416	245.616	<0.001
Residual	9	0.0153	0.00169		
Total	11	0.848			
Densidad máxima: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Texcoco, Lago Nabor Carrillo)	2	3842888.000	1921444.000	17.330	<0.001
Residual	9	997836.000	110870.667		
Total	11	4840724.000			
Densidad máxima: Control, Tratamiento y 50% (Clon Texcoco, Lago Recreativo)	1	24773760.500	24773760.500	74.821	<0.001
Residual	6	1986635.000	331105.833		
Total	7	26760395.500			
Densidad máxima: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Xochimilco, Lago Nabor Carrillo)	2	13398113.167	6699056.583	22.907	<0.001
Residual	9	2632001.500	292444.611		
Total	11	16030114.667			
Densidad máxima: Control, Tratamiento y 50% (Clon Xochimilco, Lago Recreativo)	1	21369453.125	21369453.125	40.977	<0.001
Residual	6	3128984.750	521497.458		
Total	7	24498437.875			
Día de Densidad máxima: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Texcoco, Lago Nabor Carrillo)	2	18.667	9.333	1.527	0.268
Residual	9	55.000	6.111		
Total	11	73.667			
Día de Densidad máxima: Control y Tratamiento 50% (Clon Texcoco, Lago Recreativo)	1	120.125	120.125	73.923	<0.001
Residual	6	9.750	1.625		
Total	7	129.875			
Día de Densidad máxima: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Xochimilco, Lago Nabor Carrillo)	2	103.167	51.583	33.764	<0.001
Residual	9	13.750	1.528		
Total	11	116.917			
Día de Densidad máxima: Control y Tratamiento 50% (Clon Xochimilco, Lago Recreativo)	1	105.125	105.125	81.387	<0.001
Residual	6	7.750	1.292		
Total	7	112.875			

Variables Demográficas de Tabla de vida, Clon Texcoco (Mayo)

Promedio de vida

Los organismos colocados en el tratamiento control, obtuvieron los valores más altos de promedio de vida (13.3 días). Por otro lado, los tratamientos expuestos a extracto crudo cianobacterial, tienen un promedio de vida menor, siendo el tratamiento sometido al extracto crudo 100% del lago recreativo el más vulnerable,

reduciendo drásticamente su promedio de vida (4.4 días). Las diferencias entre los tratamientos, fueron verificadas con una ANOVA de valor $P < 0.001$ (Tabla 5).

Esperanza de vida

De acuerdo con las pruebas de Tukey ($\alpha=0.05$) realizadas, los tratamientos 50%, 100% del lago Nabor Carrillo y el tratamiento 50% del lago Recreativo, tienen en promedio la misma esperanza de vida (alrededor de 8 días), en comparación con el control, se reduce su esperanza de vida 5 días, demostrando que los extractos crudos cianobacteriales tienen un efecto negativo sobre esta variable demográfica.

Tasa de reproducción bruta

El control y el tratamiento con 100% de extracto crudo del lago Recreativo, presentaron los menores valores reproductivos. Los organismos expuestos a extractos crudos del lago Nabor carrillo, fueron agrupados en un mismo bloque (evaluado con una prueba Tukey, $\alpha=0.05$), y el tratamiento que obtuvo los mayores valores reproductivos, fue el tratamiento que contenía 50% extracto crudo del lago Recreativo, indicando que el extracto crudo promueve el aumento en la tasa bruta reproductiva.

Tasa de reproducción neta

A diferencia de la tasa de reproducción bruta, la tasa de reproducción neta toma en cuenta la variable demográfica de supervivencia. Al igual, que en la tasa de reproducción bruta, el tratamiento expuesto a 50% del extracto del lago Recreativo, tuvo la misma tendencia, obteniendo valores superiores a 20 Neonatos/Hembras⁻¹. El tratamiento expuesto al extracto crudo 100% del lago Recreativo tuvo efecto sobre esta variable, al inhibir la reproducción, debido a que mostró valores menores a 2 Neonatos/Hembras⁻¹. Comparando solo los tratamientos que contenían extracto del lago Nabor, se observa entre mayor es concentración, menores son los valores de esta variable demográfica.

Tiempo generacional

Tiempo que transcurre entre el nacimiento del organismo y su primera reproducción. Se observa la formación de 3 grupos (Tukey, $\alpha=0.05$), donde el control representa el primero, al obtener los mayores valores de esta variable (más de 8 días), el grupo dos lo conforman, los tratamientos que contenían extracto crudo 100 y 50% de Nabor y 50% del lago Recreativo (entre 7 y 6 días), el último grupo lo conforma el tratamiento 100% del lago Recreativo, obteniendo los valores menores de tiempo generacional, demostrando que los extractos crudos cianobacteriales promueven la reproducción temprana de los organismos expuestos.

Tasa de Incremento poblacional

Los valores mayores y menores de esta variable, se presentaron en los organismos expuestos al extracto del lago Recreativo, siendo el tratamiento 100%

el que obtuviera los menores valores de incremento poblacional (0.17 d^{-1}). El tratamiento control y ambos extractos pertenecientes al lago Nabor, fueron agrupados por la prueba de Tukey en un bloque ($0.32-0.46 \text{ d}^{-1}$).

Brachionus calyciflorus Texcoco

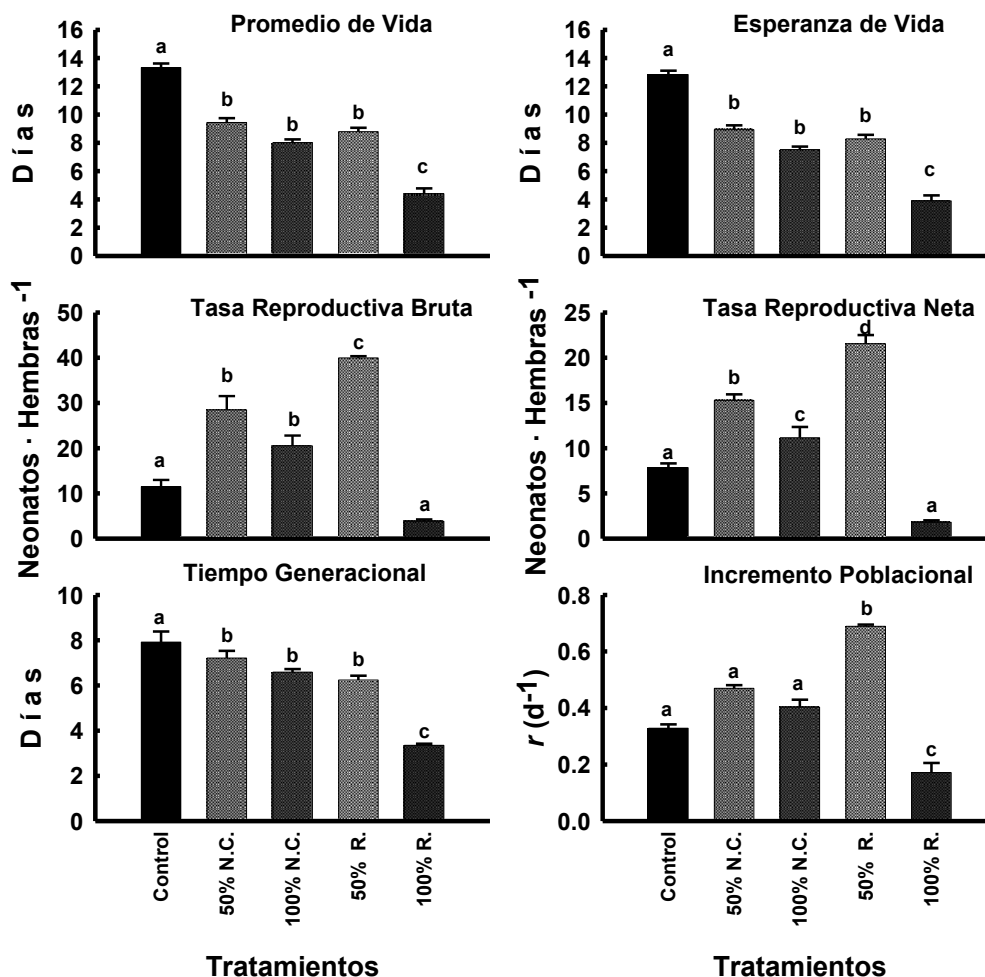


Tabla de vida de *Brachionus calyciflorus* (clon aislado de Texcoco), experimento realizado en el mes de Mayo, sometido a bioensayos crónicos, con dos diferentes concentraciones de extractos crudos (50% N.C.= extracto crudo diluido al 50% elaborado con el florecimiento del lago Nabor Carrillo, 100% N.C.= extracto crudo concentrado elaborado con el florecimiento del lago Nabor Carrillo, 50% R.= extracto crudo diluido al 50% elaborado con el florecimiento del lago Recreativo, 50% R.= extracto crudo concentrado, elaborado con el florecimiento del lago Recreativo) y como alimento *C. vulgaris* a $0.5 \times 10^6 \text{ cels ml}^{-1}$.

Tabla 4. Análisis de varianza de una vía (ANOVA), para determinar si existen diferencias significativas entre 4 concentraciones de extractos crudos cianobacteriales del mes de Mayo (tratamientos con 100% y 50% de extracto crudo diluido de los Lagos Nabor Carrillo y Recreativo), sobre un clon de *Brachionus calyciflorus* aislado de Texcoco, y un testigo control compuesto de EPA y *C. vulgaris*, donde DF = grados de libertad, SS = suma de cuadrados, MS = media al cuadrado, F= prueba de Fisher y P = valor P.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Promedio de vida	4	163.824	40.956	116.064	<0.001
Residual	15	5.293	0.353		
Total	19	169.117			
Esperanza de vida	4	163.824	40.956	116.064	<0.001
Residual	15	5.293	0.353		
Total	19	169.117			
Tasa reproductiva bruta	4	3201.229	800.307	59.629	<0.001
Residual	15	201.323	13.422		
Total	19	3402.552			
Tasa reproductiva neta	4	891.140	222.785	92.679	<0.001
Residual	15	36.058	2.404		
Total	19	927.197			
Tiempo generacional	4	48.869	12.217	39.907	<0.001
Residual	15	4.592	0.306		
Total	19	53.461			
Incremento poblacional	4	0.580	0.145	81.928	<0.001
Residual	15	0.0266	0.00177		
Total	19	0.607			

Variables Demográficas de Tabla de vida, clon Xochimilco (Mayo)

Promedio de vida

De acuerdo a los resultados obtenidos de la prueba de Tukey, no existen diferencias significativas, en el tiempo promedio de vida de un organismo, entre los tratamientos 50% y 100% con el extracto del lago Nabor Carrillo y el 50% del lago Recreativo. El testigo obtuvo las mayores unidades, alcanzando en promedio un valor de 12.9 días, por el contrario, los organismos expuestos a la mayor concentración del extracto del lago Recreativo, tuvieron un promedio de vida de apenas 4.3 días, siendo estos los más afectados por la presencia la concentración del extracto. Las diferencias entre los tratamientos, fueron verificadas con una ANOVA de valor P <0.001(Tabla 5).

Esperanza de vida

De la misma forma que en el promedio de vida, los tratamientos 50% y 100% con el extracto del lago Nabor Carrillo y el 50% del lago Recreativo, se concentran en un grupo (Tukey $\alpha=0.05$), en promedio de 7 a 8 días, es el tiempo que se espera estadísticamente que tenga de vida un organismo expuesto a estas concentraciones de extractos. Los valores obtenidos por el tratamiento que contenía el 100% del extracto del lago recreativo, lo acreditan como la concentración con mayor efecto negativo sobre esta variable demográfica, disminuyendo su esperanza de vida a tan solo 3.8 días de sobrevivencia.

Tasa de reproducción bruta

En la variable de tasa reproductiva bruta, *Brachionus calyciflorus* clon de Xochimilco, mostro diferencias significativas entre el control y el tratamiento 100% del lago Recreativo, contra los tratamientos 50% y 100% con el extracto del lago Nabor Carrillo y el 50% del lago Recreativo (evaluado con una prueba Tukey, $\alpha=0.05$), siendo estos últimos los que obtuvieron los valores reproductivos mayores (21,22 y 23 neonatos/ hembras⁻¹ respectivamente).

Tasa de reproducción neta

En esta variable demográfica se presenta la misma tendencia, que en la tasa bruta, donde los tratamientos 50% y 100% con el extracto del lago Nabor Carrillo y el 50% del lago Recreativo, tuvieron los mayores valores de reproducción. El tratamiento que contenía 100% del extracto procedente del lago Recreativo, obtuvo una disminución en esta variable reproductiva, alcanzando un valor de 2 neonatos/ hembras⁻¹.

Tiempo generacional

En la variable de tiempo generacional, se presenta la formación de 4 bloques (Tukey, $\alpha=0.05$), donde el control representa el primero, teniendo valores de 7.7 días, el bloque dos lo forma el ambas concentraciones de extracto procesado con la muestra del lago Nabor, el tercer bloque es representado por el tratamiento 50% de extracto del lago Recreativo con un tiempo generacional en promedio de 5.7 días. Por último, el tratamiento que contenía 100% del extracto del lago recreativo, formo el último bloque, obteniendo valores de tiempo generacional de menos de la mitad que el tratamiento usado como control (3.2 días).

Tasa de Incremento poblacional

Los tratamientos con extracto del lago Nabor Carrillo, no obtuvieron diferencias significativas entre ellos, así que independientemente de la concentración, los organismos expuestos a ellos mostraron una tasa de incremento de 0.45 d⁻¹. El extracto elaborado del lago Recreativo diluido 50%, fue el de mayor incremento demográfico, alcanzado un valor en promedio de 0.6 d⁻¹. En contra parte, el control y el tratamiento 100% del Recreativo, fueron agrupados como los tratamiento con menor incremento poblacional con valores de 0.29 y 0.25 d⁻¹ respectivamente (Tukey, $\alpha=0.05$).

***Brachionus calyciflorus* Xochimilco**

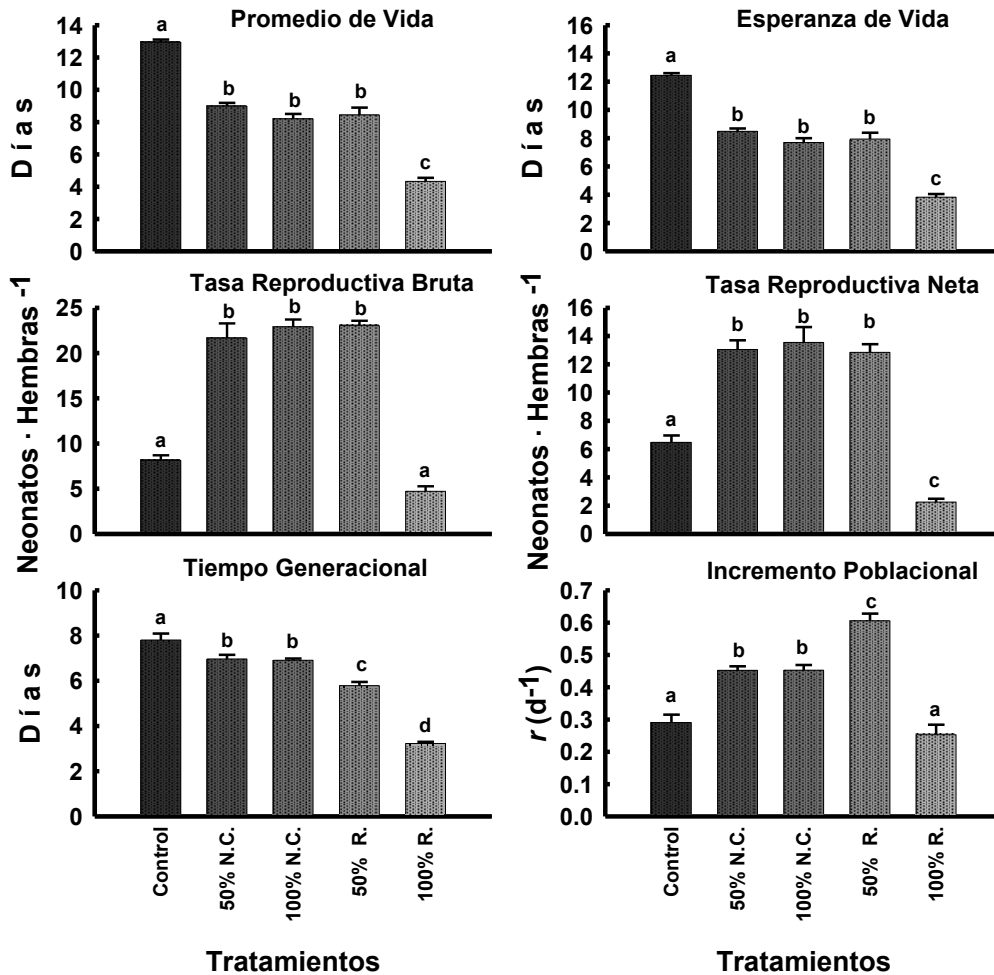


Tabla de vida de *Brachionus calyciflorus* (clon aislado de Xochimilco), experimento realizado en el mes de Mayo, sometido a bioensayos crónicos, con dos diferentes concentraciones de extractos crudos (50% N.C.= extracto crudo diluido al 50% elaborado con el florecimiento del lago Nabor Carrillo, 100% N.C.= extracto crudo concentrado elaborado con el florecimiento del lago Nabor Carrillo, 50% R.= extracto crudo diluido al 50% elaborado con el florecimiento del lago Recreativo, 50% R.= extracto crudo concentrado, elaborado con el florecimiento del lago Recreativo) y como alimento *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels ml^{-1} .

Tabla 4. Análisis de varianza de una vía (ANOVA), para determinar si existen diferencia significativas entre 4 concentraciones de extractos crudos cianobacteriales del mes de Mayo (tratamientos con 100% y 50% de extracto crudo diluido de los Lagos Nabor Carrillo y Recreativo), sobre un clon de *Brachionus calyciflorus* aislado de Xochimilco, y un testigo control compuesto de EPA y *C. vulgaris*, donde DF = grados de libertad, SS = suma de cuadrados, MS = media al cuadrado, F= prueba de Fisher y P = valor P.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Promedio de vida	4	150.131	37.533	114.984	<0.001
Residual	15	4.896	0.326		
Total	19	155.027			
Esperanza de vida	4	150.131	37.533	114.984	<0.001
Residual	15	4.896	0.326		
Total	19	155.027			
Tasa reproductiva bruta	4	1273.707	318.427	94.850	<0.001
Residual	15	50.358	3.357		
Total	19	1324.065			
Tasa reproductiva neta	4	407.398	101.850	57.246	<0.001
Residual	15	26.687	1.779		
Total	19	434.086			
Tiempo generacional	4	50.605	12.651	99.509	<0.001
Residual	15	1.907	0.127		
Total	19	52.512			
Incremento poblacional	4	0.324	0.0809	40.782	<0.001
Residual	15	0.0298	0.00198		
Total	19	0.353			

Supervivencia Mayo (Ix)

Las graficas de supervivencia, de ambos clones de *Brachionus calyciflorus*, demuestran que la presencia de los extractos crudos cianobacteriales (en ambas concentraciones y proveniente de ambos sitios), generan una reducción de esta variable. A mayor concentración de los extractos crudos cianobacteriales, mayor es el efecto negativo sobre la supervivencia de los organismos expuestos.

Los organismos de ambos clones, colocados en extractos del lago Nabor Carrillo 50% presentaron una supervivencia de 17 días, mientras que los controles tuvieron valores de 19 días el clon de Texcoco y 18 días el clon de Xochimilco.

En los bioensayos realizados con extracto crudo 100% del lago Nabor, el clon de Texcoco sobrevivió 15 días, el clon de Xochimilco a esta misma concentración tan solo 13 días, de mostrando mayor sensibilidad en esta variable demográfica.

El clon de Xochimilco, colocado en los extractos crudos provenientes del lago Recreativo, también mostró mayor sensibilidad, comparándolo con el clon de Texcoco, debido a que tuvo una supervivencia de 14 días y el clon de Texcoco obtuvo un valor de 18 días, sin embargo, este aletargamiento de la sobrevivencia fue obtenida por un solo organismo.

Los organismos expuestos al extracto crudo sin dilución del lago Recreativo, obtuvieron los valores de supervivencia más bajos, comparada con el control, esta fue de tan solo el 50% de este (10 días clon de Texcoco y 9 días clon de Xochimilco).

Fecundidad Mayo (mx)

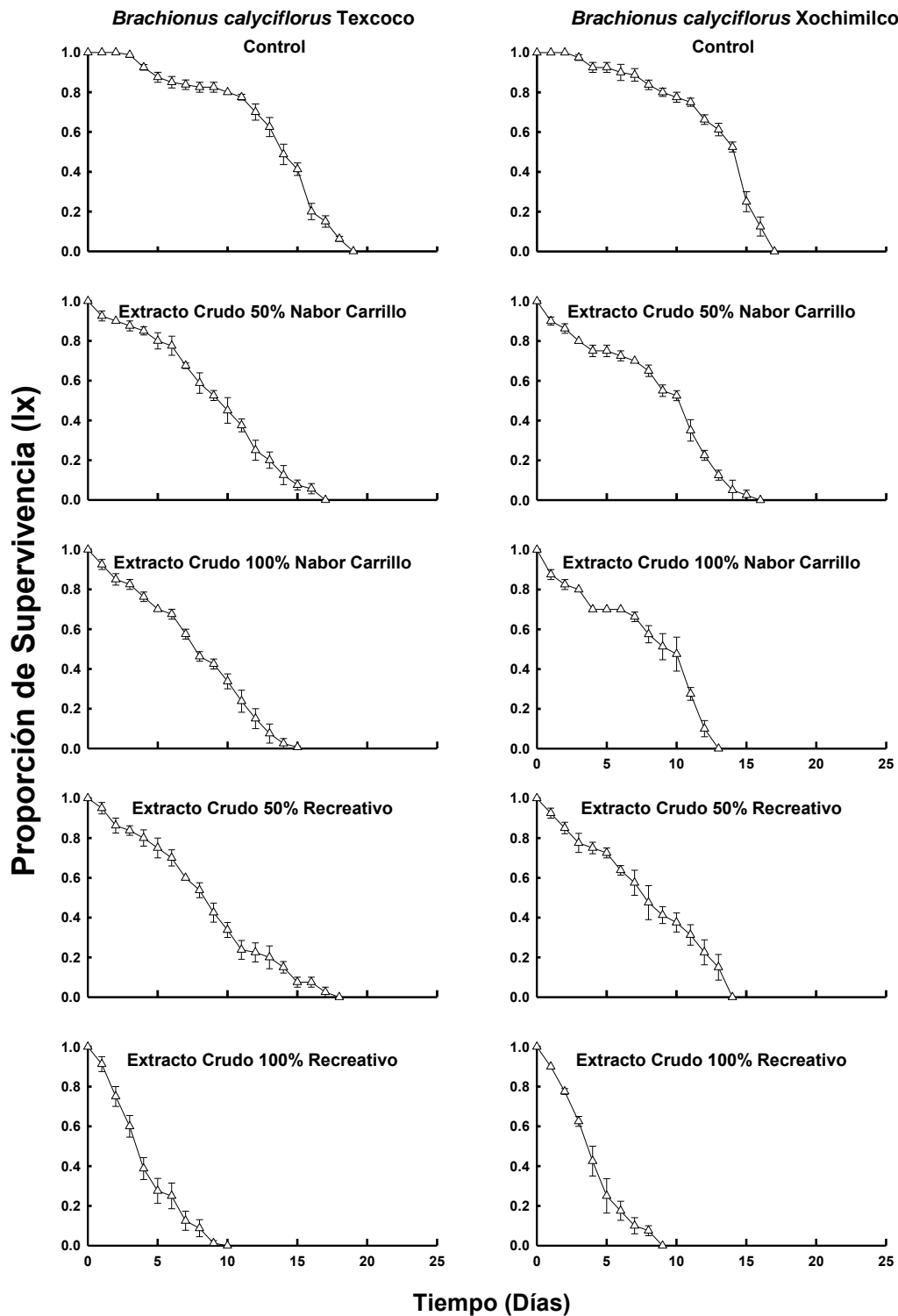
Las graficas de Fecundidad de ambos clones de *Brachionus calyciflorus*, demuestran que la presencia de los extractos crudos cianobacteriales (en ambas concentraciones y proveniente de ambos sitios), promueven un aumento de esta variable demográfica, sin embargo, es por un periodo de tiempo menor al control.

Los organismos de ambos clones, expuestos a la concentración que contenía 50% del extracto cianobacterial del lago Nabor Carrillo, tuvieron sus mayores valores reproductivos alrededor del día 8 de experimentación alcanzando 5.3 Ind/ día en el experimento con el rotífero de Texcoco y 4.4 Ind/ día con el de Xochimilco.

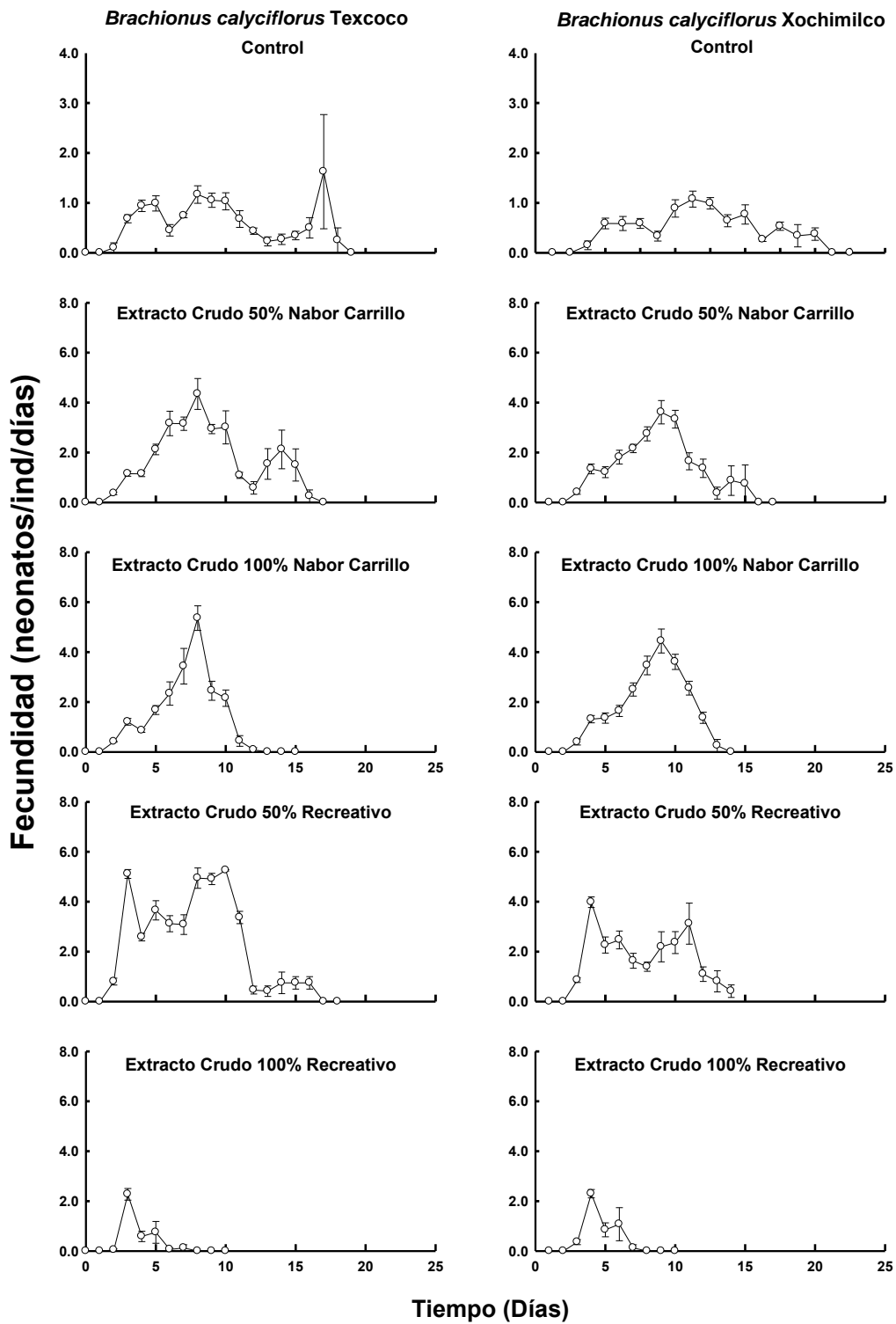
De la misma manera que en el extracto con 100% del lago Nabor, en el tratamiento diluido 50% los organismos tuvieron sus mayores valores reproductivos alrededor del día 8, sin embargo posterior a este día, la fecundidad declina hasta llegar a la inhibición de esta.

En el experimento con 50% de extracto del lago Recreativo, la fecundidad mostro diferentes picos de reproducción a lo largo de un periodo de tiempo mayor, en comparación con los organismos expuesto al extracto del lago Nabor. El periodo de fecundidad para ambos clones fue del día 4 hasta el día 11, momento en el cual comienza a declinar esta variable.

Por último, los extractos sometidos al extracto no diluido del lago Recreativo, mostraron un solo pico de fecundidad, presente en el día 4 en ambos clones, alcanzando valores de 2.2 Ind/ día en ambos.



Índice de Supervivencia (Ix) de dos clones de *Brachionus calyciflorus* sometidos a dos concentraciones de extractos crudos cianobacteriales del Lago Nabor Carrillo y *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels ml^{-1} como alimento. Medía obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.



Índice de Fecundidad (mx) de dos clones de *Brachionus calyciflorus* sometidos a dos concentraciones de extractos crudos cianobacteriales del Lago Nabor Carrillo

y Recreativo y *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels ml⁻¹ como alimento. Medía obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

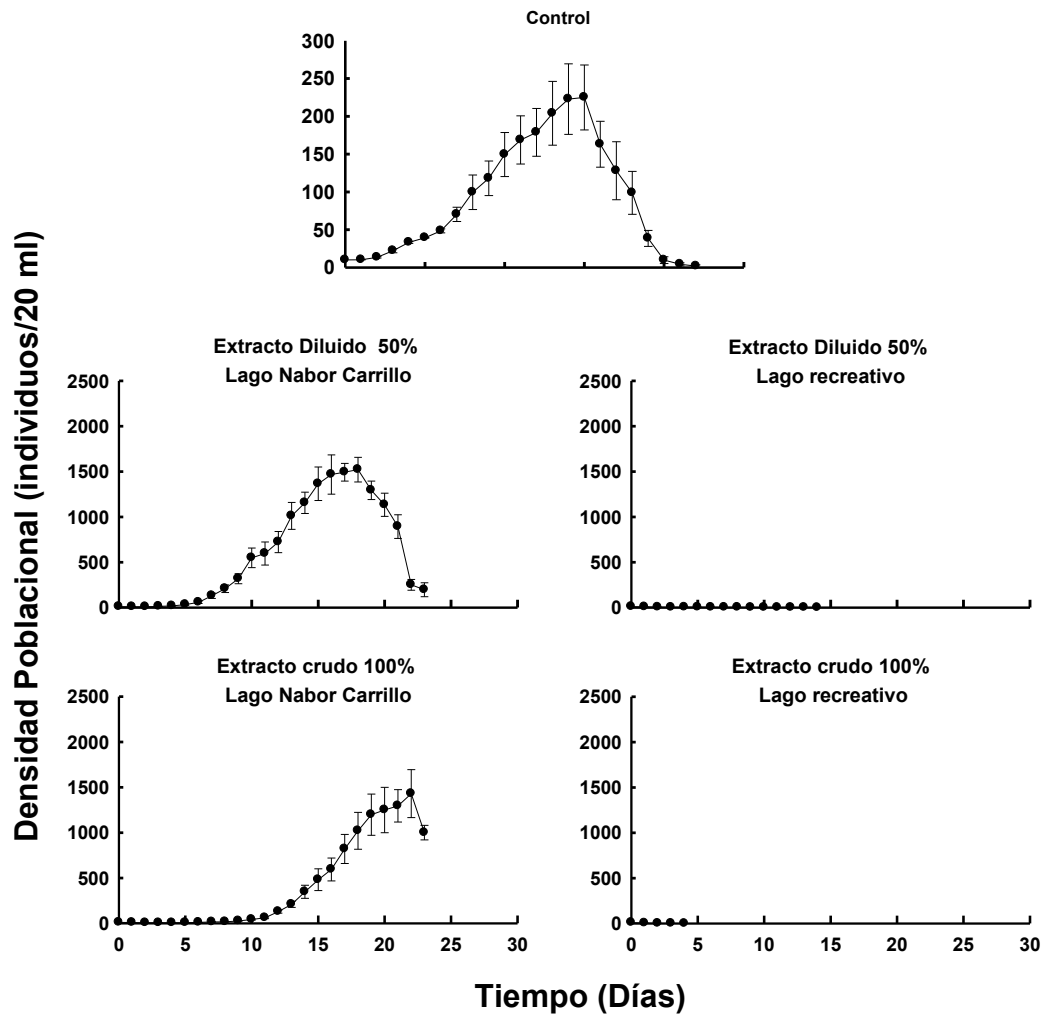
Crecimiento Poblacional (Agosto)

En las curvas de crecimiento poblacional, con el clon aislado del lago de Texcoco, en el experimentos que contenían 50 y 100% del extracto crudo, se observa un incremento que supera de manera drástica al testigo control, alcanzado en promedio, densidades poblacionales de 1520 y 1430 Ind./20 ml consecutivamente. La presencia de los extractos crudos, promueve el aumento poblacional, sin embargo, entre mayor es la concentración mayor es el tiempo que tardan en comenzar el crecimiento exponencial de los individuos expuestos, a diferencia del control que desde el primer día de experimentación crece exponencialmente.

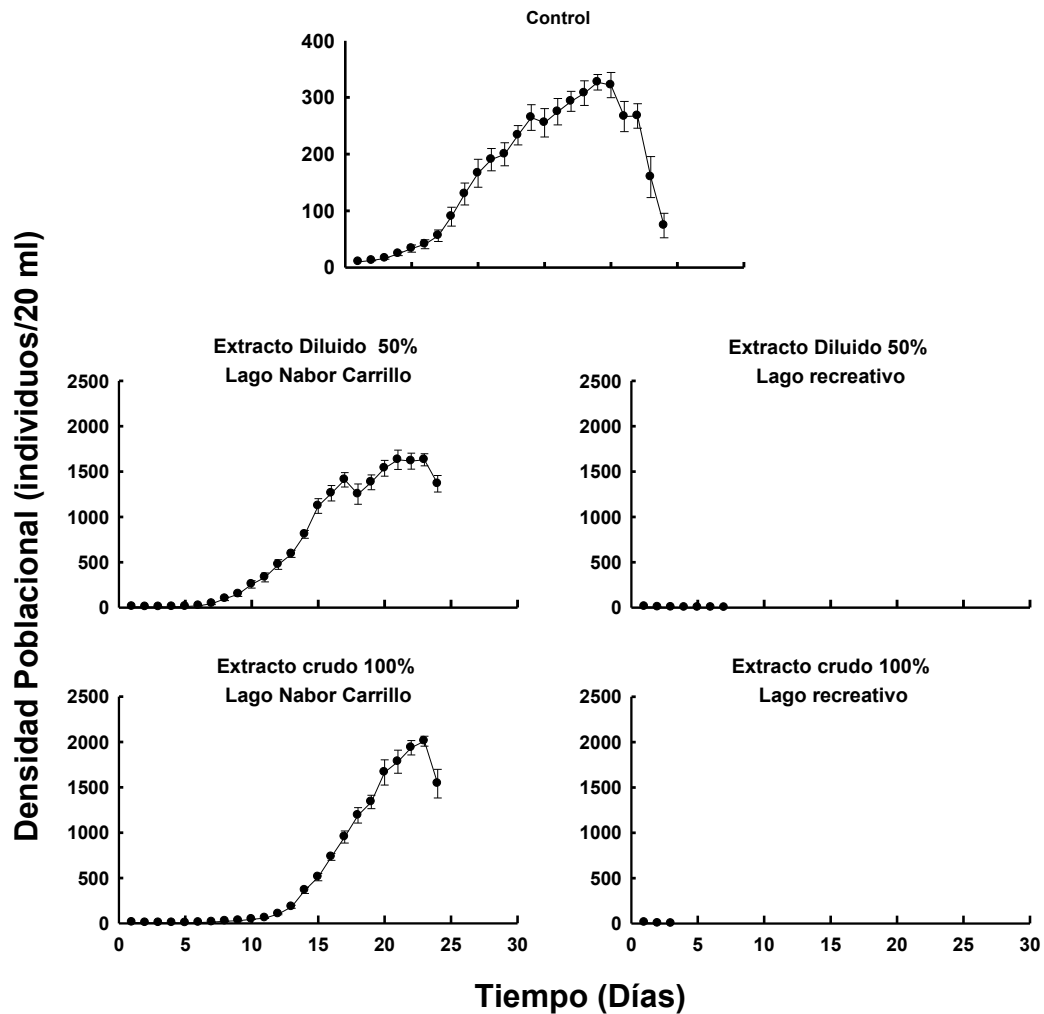
En el caso de los organismos expuestos a los extractos crudos del lago Recreativo, la presencia de este, tuvo un efecto negativo sobre la población de *Brachionus calyciflorus* clon de Texcoco, ocasionando la mortandad total de los organismos en menos de 15 días en el tratamiento que contenía extracto diluido 50% y 5 días en el testigo con extracto concentrado (100%). El tratamiento control mostró un incremento en la densidad poblacional conforme pasaban los días, hasta alcanzar su densidad máxima que fue de 225 Ind./20 ml.

En las curvas de crecimiento poblacional con el clon de Xochimilco, la presencia del extracto crudo, no generó el decaimiento poblacional del clon de *Brachionus calyciflorus* aislado del lago de Xochimilco, los organismos expuestos al extracto del florecimiento presente en el Lago Nabor Carrillo crecieron más que en el tratamiento control. El tratamiento que contenía extracto diluido 50% mostro densidades de hasta 1630 Ind/20ml y el tratamiento con extracto 100% alcanzo densidades mayores a 2000 Ind/20ml, es decir, entre mayor era la concentración mayor fue su crecimiento exponencial (Fig.2).

En los organismos expuestos al extracto crudos 50 y 100% realizados con el florecimiento cianobacterial presente en el Lago recreativo, se observo que estos tienen un efecto negativo sobre su crecimiento exponencial y sobrevivencia, al generarse la mortandad total de los organismos en 7 y 3 días respectivamente. El control obtuvo valores promedio de 326 Ind/20ml, (Fig.3).



Crecimiento poblacional de un clon de *Brachionus calyciflorus* (clon aislado del lago Texcoco) expuesto a 2 diferentes concentraciones crónicas de extractos crudos de un florecimiento cianobacterial presente en el mes de Agosto en los lagos Nabor Carrillo y recreativo, se les suministro *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels ml^{-1} como alimento.



Crecimiento poblacional de un clon de *Brachionus calyciflorus* (clon aislado del lago Xochimilco) expuesto a 2 diferentes concentraciones crónicas de extractos crudos de un florecimiento cianobacterial presente en el mes de Agosto en los lagos Nabor Carrillo y recreativo, se les suministro *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels ml^{-1} como alimento.

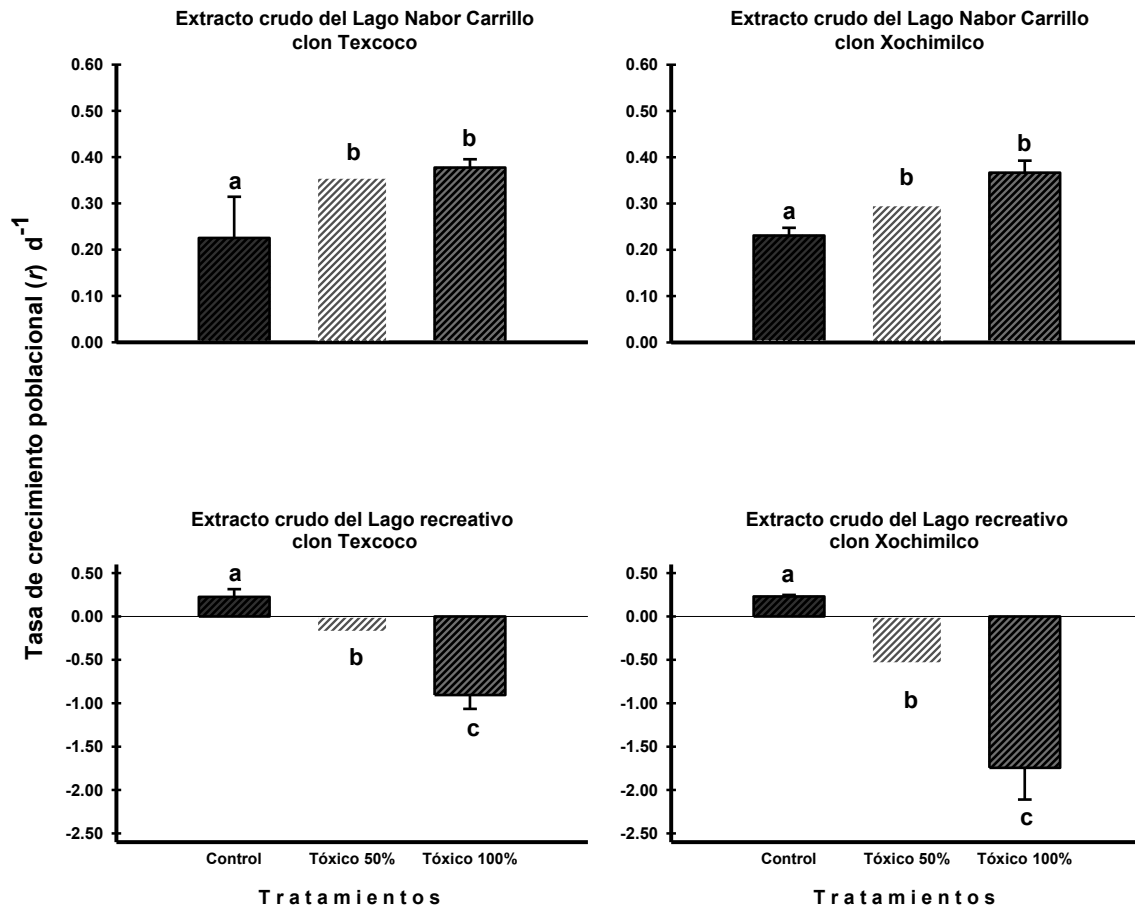
Tasas de crecimiento poblacional, densidad máxima y día de densidad máxima (Agosto)

En las barras de tasa de crecimiento poblacional, con el clon de *Brachionus calyciflorus* proveniente de Texcoco, se observa una diferencia significativa (evaluado con una prueba de Tukey $\alpha=0.05$) entre los tratamientos con presencia de extracto y el control. Este último alcanzó valores demográficos de 0.22 d^{-1} , mientras que el tratamiento 50% 0.35 d^{-1} y 0.37 d^{-1} el tratamiento concentrado, es decir, en cuanto mayor es la concentración del extracto, mayor es la tasa de crecimiento. El clon aislado de Xochimilco presentó la misma tendencia demográfica, aumentando su tasa de incremento a mayor concentración del extracto crudo del lago Nabor.

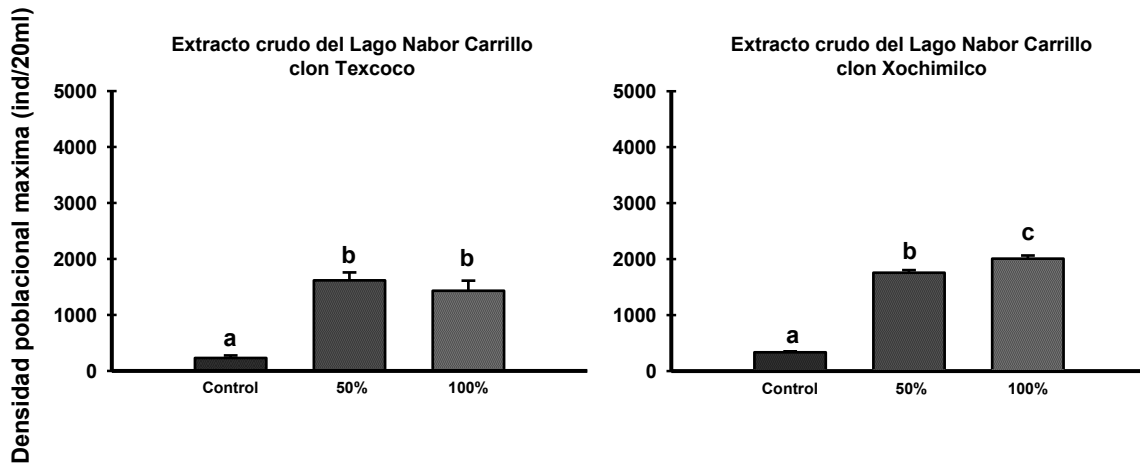
Los organismos de ambos clones expuestos al contenido interno celular (extracto crudo) del florecimiento presente en el lago Recreativo, mostraron un decremento poblacional en las dos concentraciones a las que fueron sometidos. Los tratamientos con los mayores valores de decremento poblacional, fueron el clon de Xochimilco expuesto al extracto concentrado obteniendo un valor negativo de -1.7 d^{-1} y el clon de Texcoco sometido a la misma concentración de este sitio con un valor de -0.9 d^{-1} . Ambos controles obtuvieron valores positivos con 0.22 d^{-1} en el clon de Texcoco y 0.23 d^{-1} con el clon de Xochimilco. Los resultados anteriores confirman que los extractos crudos cianobacteriales, del mes de Agosto, provenientes del lago Recreativo, tuvieron un efecto toxicológico ambos clones de *Brachionus calyciflorus*, independiente de la concentración a la que fueron expuestos.

Las barras de densidades máximas, muestran que los dos clones sometidos a los extractos crudos del lago Nabor Carrillo, tienen densidades superiores a las presentadas por los tratamientos libres de extracto. El clon de Xochimilco tuvo sus mayores abundancias en la concentración sin dilución, obteniendo en promedio una densidad máxima de 2008 Ind/20ml., lo cual es seis veces mayor a la máxima abundancia del testigo control (334 Ind/20ml.).

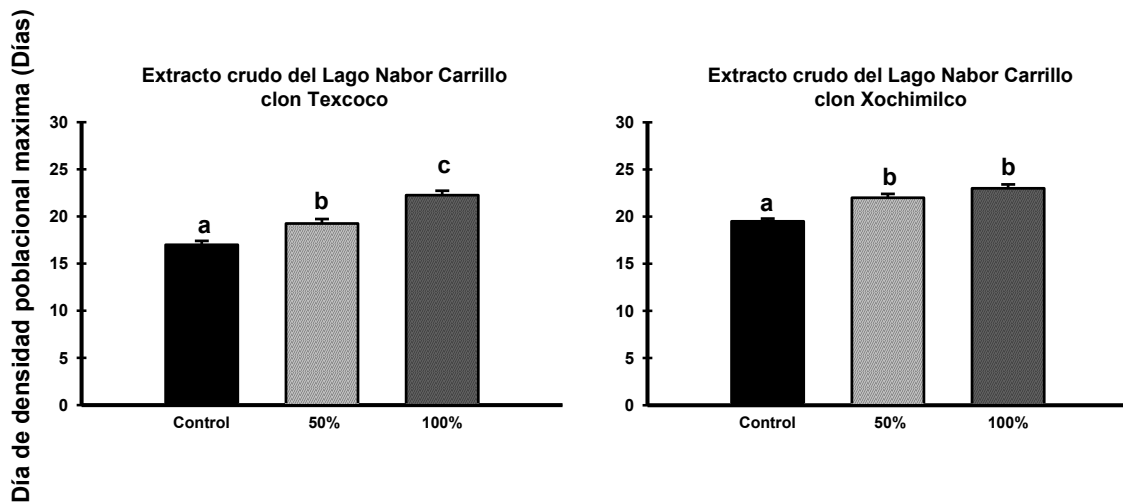
El tratamiento control con el clon de Texcoco, tuvo su mayor densidad poblacional en el día 17, los organismos expuestos a los extractos crudos del lago Nabor carrillo, postergaron dos días más su máxima densidad en el tratamiento con 50% de extracto y 4 días en el tratamiento sin dilución del extracto crudo. Lo anterior indica que debido a la presencia de los extractos, los organismos postergan su reproducción a la fase final del crecimiento exponencial. Este mismo comportamiento fue realizado por el clon de Xochimilco, sin embargo, no se demostraron diferencias significativas entre los tratamientos con presencia de extractos, pero si las hay entre estos y el control, el cual alcanzó su máxima densidad en el día 19.



Tasas de crecimiento poblacional (r) *Brachionus calyciflorus* (clones aislado de Texcoco y Xochimilco) en el experimento realizado en el mes de Mayo. Obtenida de 3 tratamientos (control, tratamiento con 50% y 100% de extracto crudo de 2 florecimientos cianobacteriales presentes en el Lago Nabor Carrillo y el Lago Recreativo, con cuatro repeticiones \pm error estándar.



Densidad máxima de *Brachionus calyciflorus* (clones aislados de Texcoco y de los canales de Xochimilco), obtenida de 3 tratamientos: control, tratamiento con 50% y 100% de extracto crudo de 2 florecimientos cianobacteriales presentes en el Lago Nabor Carrillo y el Lago Recreativo durante el mes de Agosto.



Día de densidad máxima *Brachionus calyciflorus* (clones aislados del lago de Texcoco y de los canales de Xochimilco), obtenida de 3 tratamientos: control, tratamiento con 50% y 100% de extracto crudo de 2 florecimientos cianobacteriales presentes en el Lago Nabor Carrillo y el Lago Recreativo, durante el mes de Febrero.

Tabla 4. Análisis de varianza de una vía (ANOVA), para determinar si existen diferencia significativas entre 2 concentraciones de extractos cianobacteriales del mes de Mayo (tratamientos con 100% y 50% de extracto crudo diluido), sobre dos clones de *Brachionus calyciflorus*, y un testigo control compuesto de EPA y *C. vulgaris*, donde DF = grados de libertad, SS = suma de cuadrados, MS = media al cuadrado, F= prueba de Fisher y P = valor P.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Tasas de crecimiento: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Texcoco, Lago Nabor Carrillo)	2	0.0546	0.0273	26.805	<0.001
Residual	9	0.00917	0.00102		
Total	11	0.0638			
Tasas de crecimiento: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Texcoco, Lago Recreativo)	2	2.622	1.311	37.736	<0.001
Residual	9	0.313	0.0347		
Total	11	2.935			
Tasas de crecimiento: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Xochimilco, Lago Nabor Carrillo)	2	0.0259	0.0129	17.737	<0.001
Residual	9	0.00656	0.000729		
Total	11	0.0324			
Tasas de crecimiento: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Xochimilco, Lago Recreativo)	2	7.919	3.959	19.202	<0.001
Residual	9	1.856	0.206		
Total	11	9.774			
Densidad máxima: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Texcoco, Lago Nabor Carrillo)	2	4535475.167	2267737.583	31.218	<0.001
Residual	9	653783.750	72642.639		
Total	11	5189258.917			
Densidad máxima: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Xochimilco, Lago Nabor Carrillo)	2	6513256.167	3256628.083	456.668	<0.001
Residual	9	64181.500	7131.278		
Total	11	6577437.667			
Día de Densidad máxima: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Texcoco, Lago Nabor Carrillo)	2	55.500	27.750	33.300	<0.001
Residual	9	7.500	0.833		
Total	11	63.000			
Día de Densidad máxima: Control, Tratamiento 50% y Tratamiento 100% (Clon Xochimilco, Lago Nabor Carrillo)	2	23.167	11.583	27.800	<0.001
Residual	9	3.750	0.417		
Total	11	26.917			

Variabes demográficas de Tabla de Vida, Clon Texcoco (Agosto)

Promedio de vida

Específicamente para el experimento con *Brachionus calyciflorus* clon aislado de Texcoco, el tratamiento control, mostró los valores mayores en la variable promedio de vida, alcanzando casi 13 días. Los resultados obtenidos demuestran que estos organismos al estar en contacto con el extracto reducen drásticamente

su promedio de vida, alcanzado solo 8.5 días en extracto crudo diluido del lago Nabor Carrillo (50:50) y 8 para los organismos expuestos al extracto concentrado (Fig. 4). En los extractos provenientes del lago Recreativo, se observa un mayor efecto negativo, sobre los organismos de bioensayo, al tener un promedio de vida de tan solo 4.7 días, es decir, casi un 1/3 del testigo control en el extracto crudo 50% y 2.1 días en el extracto 100%. Las diferencias entre los tratamientos, fueron verificadas con una ANOVA de valor $P < 0.001$ (Tabla 5).

Esperanza de vida

Los datos obtenidos de la esperanza de vida resultaron muy semejantes a los del promedio de vida, los máximos valores fueron obtenidos por control, que contenía medio EPA y *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels ml^{-1} como alimento, decreciendo consecuentemente los valores en los tratamientos con extracto crudo. (Fig.4). La prueba de Tukey $\alpha = 0.05$, no mostro diferencia significativa entre la respuesta de los organismos expuestos al 100 y 50% de extractos crudos del lago Nabor Carrillo.

Tasa de reproducción bruta

En la evaluación de las variables reproductivas, la tasa de reproducción bruta, demostró que existe un mayor número de eclosiones en los tratamientos que contenían extracto crudo contra del control, promoviendo la reproducción, excepto, en el experimento que contenía extracto crudo concentrado del lago Recreativo, el cual, obtuvo los menores valores reproductivos, al tener tan solo una tasa de 1.3 neonatos/ hembras⁻¹. Por el contrario, el mayor valor reproductivo fue alcanzado por el experimento sometido al extracto crudo diluido 50% presente en Agosto en el lago Recreativo.

Tasa de reproducción neta

La tasa reproductiva neta, mostró la misma tendencia, existiendo una mayor reproducción en el tratamiento 50% Nabor Carrillo y una extremadamente menor en el tratamiento que contenía 100% de extracto del lago Recreativo, obteniendo menos de un organismo por día de experimentación (0.17 neonatos/ hembras⁻¹).

Tiempo generacional

Los valores obtenidos del tiempo generación, mostraron que los organismos en el extracto diluido 50 y 100% para ambos sitios, tardan aproximadamente de 2 a 6 días desde su nacimiento hasta su primera reproducción, a diferencia del tratamiento con ausencia de extracto (control), en el cual, se observa que los organismos tienen un tiempo generacional de 8. Por las tendencias anteriores, se puede asumir que la presencia de los extractos crudos de ambos sitios, promueven la reproducción temprana de *Brachionus calyciflorus*.

Tasa de Incremento poblacional

En la tasa de incremento poblacional (r) de *Brachionus calyciflorus* clon Texcoco, de acuerdo a la prueba de Tukey se generó la formación de tres grupos (sin diferencias significativas entre ellos): el primero es representado por el control y el tratamiento que contenía 100% del extracto del lago Nabor carrillo, y el segundo fue mostrado por los tratamientos que contenían 50% de extracto de ambos sitios. Por último el tratamiento 100% del lago recreativo mostró, que los organismos expuestos a este extracto crudo cianobacterial, son afectados drásticamente debido a que obtuvieron valores negativos de -0.2 d^{-1} (Fig. 4).

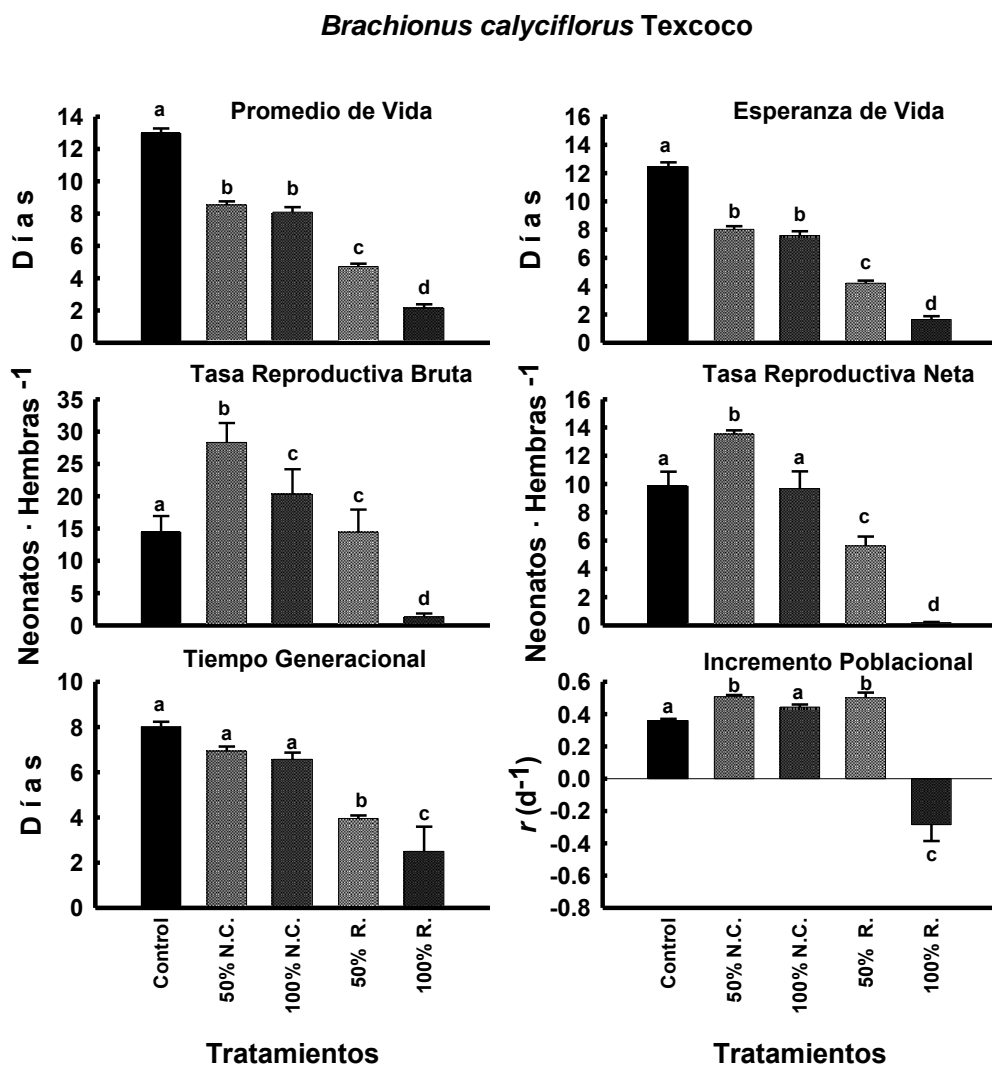


Tabla de vida de *Brachionus calyciflorus* (clon aislado de Texcoco), experimento realizado en el mes de Agosto, sometido a bioensayos crónicos, con dos diferentes concentraciones de extractos crudos (50% N.C.= extracto crudo diluido al 50% elaborado con el florecimiento del lago Nabor Carrillo, 100% N.C.= extracto crudo concentrado elaborado con el florecimiento del lago Nabor Carrillo, 50%

R.= extracto crudo diluido al 50% elaborado con el florecimiento del lago Recreativo, 50% R.= extracto crudo concentrado, elaborado con el florecimiento del lago Recreativo) y como alimento *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels ml⁻¹.

Tabla 4. Análisis de varianza de una vía (ANOVA), para determinar si existen diferencia significativas entre 4 concentraciones de extractos crudos cianobacteriales del mes de Agosto (tratamientos con 100% y 50% de extracto crudo diluido de los Lagos Nabor Carrillo y Recreativo), sobre un clon de *Brachionus calyciflorus* aislado de Texcoco, y un testigo control compuesto de EPA y *C. vulgaris*, donde DF = grados de libertad, SS = suma de cuadrados, MS = media al cuadrado, F= prueba de Fisher y P = valor P.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Promedio de vida	4	270.120	67.530	260.734	<0.001
Residual	15	3.885	0.259		
Total	19	274.005			
Esperanza de vida	4	270.120	67.530	260.734	<0.001
Residual	15	3.885	0.259		
Total	19	274.005			
Tasa reproductiva bruta	4	1563.059	390.765	11.389	<0.001
Residual	15	514.640	34.309		
Total	19	2077.699			
Tasa reproductiva neta	4	413.442	103.360	42.500	<0.001
Residual	15	36.480	2.432		
Total	19	449.922			
Tiempo generacional	4	74.590	18.648	20.684	<0.001
Residual	15	13.523	0.902		
Total	19	88.114			
Incremento poblacional	4	1.796	0.449	47.650	<0.001
Residual	15	0.141	0.00942		
Total	19	1.937			

VARIABLES DEMOGRÁFICAS DE TABLA DE VIDA, CLON XOCHIMILCO (AGOSTO)

Promedio de vida

Específicamente para el experimento con *Brachionus calyciflorus* clon de Xochimilco, los valores de promedio de vida más altos fueron los del tratamiento control, que fue superior a 13 días. Separando por sitios, se puede apreciar que entre mayor es la concentración del extracto, menor es el promedio de vida de los organismos de bioensayo. El tratamiento con los menores valores de promedio de vida, fueron los sometidos al 100% del extracto del lago Recreativo con menos de 2 días de vida (Fig. 5).

Esperanza de vida

Los valores de esperanza de vida se mantuvieron similares a los obtenidos en el gráfico de promedio de vida, siendo nuevamente el control quien obtuvo los valores superiores, consecuentemente el testigo con 50% de extracto del lago

Nabor tuvo valores superiores a los 7 días. Nuevamente la concentración con 100% de extracto del lago Recreativo, resulto tener la menor esperanza de vida (Fig.5).

Tasa de reproducción

Los organismos que se expusieron al tratamiento con 50% de extracto del lago Recreativo, obtuvieron los resultados más bajos en la tasa reproductiva bruta (0.4 neonatos/hembras⁻¹), en comparación con los tratamiento que contenía 50y 100% de extracto del lago Nabor, en el cual los organismos duplicaron la reproducción de neonatos en comparación con el control libre de extracto, que obtuvo en promedio 17 neonatos por día. Mediante una ANOVA de una vía de valor $P < 0.001$, se reiteraron las diferencias reproductivas existentes entre los organismos expuestos a los extractos y los que se mantuvieron en EPA con *C. vulgaris* (Tabla 6).

Tasa de reproducción bruta

Los organismos colocados en los extractos crudos que contenían 50% del lago Nabor, obtuvieron los máximos valores de esta variable reproductiva, con más de 14 neonatos por día. Sin embargo la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) no encontró diferencia significativa entre este y el control que tuvo valores de reproductivos de casi 13 organismos nuevos por día de experimentación (Fig. 5). Los tratamientos con 50 y 100% del extracto del lago Recreativo, fueron los más afectados por la presencia de este, disminuyendo drásticamente esta tasa reproductiva, alcanzado valores de 4 y 0.1 neonatos/hembras⁻¹ respectivamente.

Tiempo generacional

El índice de tiempo generacional, muestra que entre mayor es la concentración de los extractos, menores son los valores del tiempo generacional, Además, todos los tratamientos con extractos tienen diferencias significativas con el control, por este motivo se puede adjudicar, que los extractos crudos cianobacteriales presentes en el lago de Texcoco (ambos sitios), promueven la reproducción temprana de los organismos expuestos a ellos (Fig. 5).

Tasa de Incremento poblacional

La tasa de incremento poblacional, arrojó valores negativos en el tratamiento con mayor concentración del extracto del lago Recreativo (-0.5 d^{-1}), resultando ser tóxico para los organismos expuestos. Los valores mayores de esta variable demográfica, fueron obtenidos por los tratamientos expuestos a los extractos del lago Nabor carrillo con 0.5 d^{-1} para el tratamiento diluido y 0.4 d^{-1} para el tratamiento concentrado. El control tuvo una tasa de incremento (0.3 d^{-1}) menor en comparación con los tratamientos del lago Nabor, pero no menor en comparación con los del lago Recreativo.

Brachionus calyciflorus Xochimilco

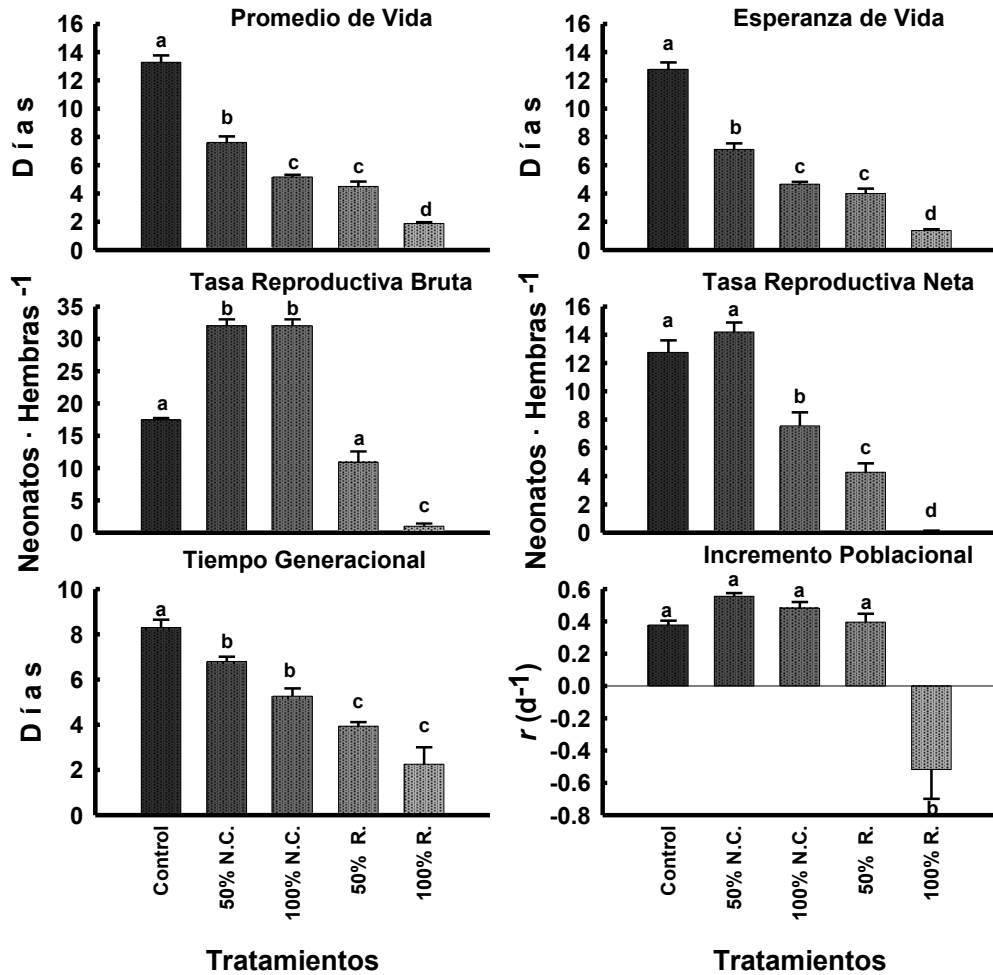


Tabla de vida de *Brachionus calyciflorus* (clon aislado de Xochimilco), experimento realizado en el mes de Agosto, sometido a bioensayos crónicos, con dos diferentes concentraciones de extractos crudos (50% N.C.= extracto crudo diluido al 50% elaborado con el florecimiento del lago Nabor Carrillo, 100% N.C.= extracto crudo concentrado elaborado con el florecimiento del lago Nabor Carrillo, 50% R.= extracto crudo diluido al 50% elaborado con el florecimiento del lago Recreativo, 100% R.= extracto crudo concentrado, elaborado con el florecimiento del lago Recreativo) y como alimento *C. vulgaris* a 0.5×10^6 cels ml⁻¹.

Tabla 4. Análisis de varianza de una vía (ANOVA), para determinar si existen diferencia significativas entre 4 concentraciones de extractos crudos cianobacteriales del mes de Agosto (tratamientos con 100% y 50% de extracto crudo diluido de los Lagos Nabor Carrillo y Recreativo), sobre un clon de *Brachionus calyciflorus* aislado de Xochimilco, y un testigo control compuesto de EPA y *C. vulgaris*, donde DF = grados de libertad, SS = suma de cuadrados, MS = media al cuadrado, F= prueba de Fisher y P = valor P.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Promedio de vida	4	297.946	74.487	164.113	<0.001
Residual	15	6.808	0.454		
Total	19	304.754			
Esperanza de vida	4	297.946	74.487	164.113	<0.001
Residual	15	6.808	0.454		
Total	19	304.754			
Tasa reproductiva bruta	4	2379.115	594.779	49.936	<0.001
Residual	15	178.662	11.911		
Total	19	2557.776			
Tasa reproductiva neta	4	548.950	137.238	69.016	<0.001
Residual	15	29.828	1.989		
Total	19	578.778			
Tiempo generacional	4	89.517	22.379	31.958	<0.001
Residual	15	10.504	0.700		
Total	19	100.021			
Incremento poblacional	4	3.091	0.773	25.367	<0.001
Residual	15	0.457	0.0305		
Total	19	3.548			

DISCUSIÓN

Los lagos sódicos son ambientes hipertróficos y de alta alcalinidad, debido a la alta concentración de sales, especialmente de NaCl, en sus diversas formas. Además, son considerados los ambientes más estables en cuanto al pH se refiere, con un rango de 8 a >12 (Jones et al. 1998). Una de las características sobresalientes de los lagos sódicos es el color, (verde o rojo) por el desarrollo de floraciones masivas de microorganismos, que se ve reflejado en una alta productividad primaria, estos sitios son comúnmente dominados por organismos capaces de vencer el estrés osmótico, generado por los altos niveles de solutos diluidos en las aguas y crecer de manera optima bajo estas características particulares (Jones et al. 1998; Grant 2004).

Las altas tasa fotosintéticas son representadas por densas poblaciones alcalofilas de cianobacterias, que son dominadas usualmente por una o dos especies (Grant et al. 1990). En las últimas décadas, las cianobacterias se han posicionado como un grupo comúnmente dominante no solo en los lagos sódicos, más bien, en cuerpos de agua epicontinental, debido al desarrollo de estrategias que las capacitan para competir de manera sobresaliente con el fitoplancton y evitar el pastoreo por organismos zooplanctónicos, tales como: capacidad de almacenaje de nutrientes (gránulos de polifosfato), regulación de su posición vertical a lo largo de la columna de agua (vacuolas de gas o aerotopos) (Mur et al. 1999; Walsby

2005; Kobos et al. 2013), tendencia a formar agrupaciones, colonias o filamentos, evitando la presión por depredación por interferencia de apéndices alimenticios o por exclusión de tamaño, además, las cianobacterias pueden ser deficientes en macromoléculas vitales para el crecimiento o reproducción del zooplancton (Geng y Xie 2008; Zhang y Geng 2011), producción de un amplio rango de metabolitos secundarios, algunos con capacidad toxicológica (cianotoxinas) (Porter y Orcutt 1980; Tillmanns 2008; Paerl y Otten 2013). Igual que varios lagos sódicos en el mundo (Grant 1992), el Lago Nabor Carrillo en Texcoco también tiene altas densidades de las cianobacterias; donde la comunidad está dominada por *Planktothrix*, *Anabaenopsis*, *Microcystis* y *Arthorspira*.

Las cianotoxinas producidas por las cianobacterias, pueden ser divididas, de acuerdo a su estructura química en: péptidos cíclicos (microcistinas y nodularinas), alcaloides (anatoxina, anatoxina-a, saxitóxinas, cilindrospermopsina) Lipopolisacáridos (toxinas irritantes) (Codd 2000; Apeldoorn et al. 2007). El grupo más estudiado de cianotoxinas son las microcistinas, debido alta concentración en los cuerpos de agua con problemas de floraciones cianobacteriales (Magalhaes et al. 2003). México es un país que cuenta con las condiciones óptimas para el desarrollo de florecimientos algales nocivos, aunado a esto, el incremento en la concentración de nutrientes, es otro factor que provoca la persistencia de las floraciones a lo largo del año.

En este trabajo, se evaluó la concentración mensual de microcistinas disueltas en las muestras y en los extractos crudos cianobacteriales mediante el kit de Elisa. En promedio anual, el Lago recreativo mostró un valor de $0.91 \mu\text{g l}^{-1}$ que está por debajo del valor guía otorgado por la OMS ($1 \mu\text{g l}^{-1}$ de Microcistina-LR), pero, en los meses de agosto y septiembre, ambos sitios de muestreo, sobrepasan drásticamente este valor. El Kit de Elisa solo detecta 4 variantes de Microcistinas (LR, LA, RR y YR), y hasta la actualidad se han descrito más de 80 variantes (Khalloufi et al. 2012), de las cuales, algunas de estas toxinas, pueden tener mayor potencial toxicológico (Wiegand y Pflugmacher 2005). A pesar de esto, es de considerar que el valor guía de calidad de agua, es usado únicamente en la evaluación de fuentes de agua con finalidad de uso humano, este no es el caso, para los lagos pertenecientes a Texcoco, los cuales, han sido llenados con aguas procedentes de plantas de tratamiento. Sin embargo, no dejan de presentar una amenaza para los organismos que se desarrollan en estos ambientes.

Las concentraciones de microcistinas en el lago Nabor carrillo se ubican en un rango de $0.23-1.59 \mu\text{g l}^{-1}$ y para el lago Recreativo $0.20-2.47 \mu\text{g l}^{-1}$, estas concentraciones se encuentran dentro del rango encontrado para aguas internacionales, que es $0.02- 200 \mu\text{g l}^{-1}$, sin embargo, en promedio una población cianobacterial saludable, produce una concentración de 0.1 a $10 \mu\text{g l}^{-1}$ de cianotoxinas disueltas, pero puede variar dependiendo de las cianobacterias presentes o de la edad del bloom (aumenta la concentración cuando es el decline del bloom) (Sivonen y Jones 1990). Comparando con las concentraciones reportadas en algunos cuerpos de agua mexicanos, las concentraciones de microcistinas obtenidas son bajas, Vasconcelos en 2010, reporto altas

concentraciones en Zumpango ($62.4 \mu\text{g l}^{-1}$), Los Ángeles ($26.3 \mu\text{g l}^{-1}$), Chapultepec ($78 \mu\text{g l}^{-1}$) y Cuemanco ($4.9 \mu\text{g l}^{-1}$), concluye que estas altas concentraciones son un potencial riesgo para la salud humana. Figueroa-Sanchez realizo la medición anual de microcistinas en el embalse de Valle de Bravo (cuerpo de agua con fines de consumo humano), encontrando concentraciones de microcistinas que no resultan alarmantes (0.5 a $0.7 \mu\text{g l}^{-1}$). En este mismo embalse, Alillo-Sánchez obtuvo de la misma forma, la concentración de microcistinas de Febrero a noviembre del año 2010, donde el mes de abril presento la mayor concentración, alcanzando un valor superior a $5 \mu\text{g l}^{-1}$, marcando una relación existente entre el biovolumen del género *Dolichospermum* y la concentración de MC-LR.

Microcystis es el género cianobacterial con potencial toxico más común en los cuerpo de agua de México, sin embargo se ha reportado la presencia de otras especies toxicas encontradas en climas tropicales y subtropicales como *Planktothrix*, *Nodularia*, *Aphanizomenon*, *Anabaenopsis*, etc, productores de microcistina (Chorus y Bartram 1999).

La mayoría de los trabajos que demuestran la interacción del zooplancton con cianobacterias potencialmente toxicas, han sido realizados con un solo clon, sin embargo, existe evidencia que demuestra que los efectos sobre el zooplancton pueden variar en gran medida entre géneros, especies e incluso entre clones (Rossi et al.2006; Okumura et al. 2007), debido a la presión por factores bióticos y abióticos que afectan la composición clonal, cambiando la sensibilidad a compuestos xenobioticos (Hietala 2007). Se esperaban que existieran diferentes respuestas o varianzas ecológicas, relacionadas a su exposición constante con el bloom cianobacterial, presente en el los lagos representantes de Texcoco, sin embargo, como especie se desarrollaron estrategias similares.

Varios estudios han demostrado que algunas especies zooplanctónicas tienen la capacidad de coexistir y crecer en presencia de estos compuestos, e incluso algunas tienen la capacidad de desarrollar tolerancia al ser expuestas, debido a su historia de coexistencia en ambientes eutrofizados (Ferraó-Filho y Kozlowsky-Suzuki 2011) (Ramírez-García et al. 2002; Alva 2007). Los rotíferos son más tolerantes a las microcistinas producidas por las cianobacterias en comparación con otros representantes del zooplancton (Hansson et al. 2007). Nuestros resultados favorecen estas hipótesis, debido a la gran tolerancia mostrada por ambos clones de *Brachionus calyciflorus* ante los extractos crudos; en los experimentos de crecimiento poblacional, llegando a incrementar su poblaciones aun mas que el tratamiento control, pero este proceso de adaptación de los neonatos nacidos en tratamientos tóxicos solo se refleja en los experimentos con concentraciones bajas de microcistinas. Estas concentraciones generan efectos estimulantes en el crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus*, este tipo de respuestas son de vital importancia en organismos que viven en ambientes con fluctuaciones ambientales. Huang et al. en 2012, obtuvo respuestas demográficas similares, al someter a *Brachionus calyciflorus* a diferentes concentraciones de microcistina-LR (0 - a $200 \mu\text{g l}^{-1}$) y diferentes temperaturas, obteniendo altas tasas

de crecimiento poblacional, en los experimentos con presencia de estos compuestos bioactivos, observando que el aumento de la temperatura generó una mayor absorción de microcistinas, potencializando los efectos estimulantes en presencia de microcistinas.

Existen pocos trabajos que demuestren el efecto de los extractos crudos cianobacteriales, sobre organismos que están expuestos a la presencia de cianotoxinas. La mayoría de los trabajos se enfocan en el efecto producido por las cianotoxinas purificadas, omitiendo el hecho de la existencia de otras sustancias propias de las cianobacterias o del mismo ambiente que puedan causar un efecto de potenciación por sinergismo. Oberemm et al. (1997) evaluó el efecto de los extractos crudos cianobacteriales y de microcistina purificada en 3 concentraciones (0.5, 5 y 50 $\mu\text{g l}^{-1}$) sobre embriones de pez cebra, los resultados demostraron que los extractos tienen un mayor efecto negativo, al ocasionar malformaciones y alta mortandad durante el desarrollo embrionario de este pez. Este efecto adverso puede ser ocasionado por sinergismo de otras sustancias producidas por las cianobacterias o que se encuentran en el ambiente. 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), al someter a la microalga *Scenedemus armatus*, macrofito *Ceratophyllum demersum*, invertebrado *Chaoborus crystalinus* y a los huevos de pez *Danio rerio*, donde la concentración de microcistinas evaluadas en el extracto fue de 24.8 $\mu\text{g l}^{-1}$. El único trabajo realizado con extractos crudos cianobacteriales, mediante el lisado de celular (congelado/descongelado) con organismos zooplanctónicos, fue presentado por Okumura et al. (2010), donde muestran los efectos adversos de estos sobre la fecundidad y la sobrevivencia de *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* y *Ceriodaphnia silvestrii*, argumentando que estos efectos toxicológicos, pueden generar cambios drásticos en la composición de la biota presente. En este trabajo *Brachionus calyciflorus* (ambos clones), fue afectado negativamente, al someterlo al extracto crudo realizado con el material proveniente del lago Recreativo sin dilución, provocando un efecto negativo sobre la supervivencia y la fecundidad, reduciéndolas al mínimo, durante todos los meses de experimentación, este extracto mostro las mayores concentraciones de microcistinas (0.8 a 3.1 $\mu\text{g l}^{-1}$), este impacto negativo sobre la demografía de *Brachionus calyciflorus* a causa de intoxicación, fue reportado previamente por Alva et al. (2007), que mediante dietas cianobacteriales, observó una drástica reducción poblacional, al someter a este organismo al consumo de dietas compuestas de *Microcystis aeruginosa*, considerando toxica y deficiente nutrimentalmente a esta cianobacteria. Gilbert (1994) también demostró la susceptibilidad de este rotífero al ser expuesto a una cepa toxica de *Anabaena flos-aquae*, donde ingirió con gran eficiencia los filamentos; sin embargo, resulto ser el menos sensible ante anatoxina-a purificada en comparación con *Asplanchna girodi*, *Keratella cochlearis* y *Synchaeta pectinata*.

El promedio de vida y la esperanza de vida de los rotíferos sometidos a los extractos crudos cianobacteriales, tanto en mayo como en agosto, fue reducida hasta en un 86% (mes de agosto) en la concentración sin dilución del lago

Recreativo, esta reducción en la longevidad, se debe posiblemente, a la dominancia del género *Planktothrix* durante este mes en el lago. Esta cianobacteria es considerada una de las mayores productoras de microcistinas, debido a que almacena altas concentraciones de esta cianotoxina (1-2 μ por μ de clorofila a) (Chorus y Bartram 1999). Sin embargo, en experimentos de laboratorio, se ha demostrado que *Brachionus calyciflorus*, es capaz de usar a esta cianobacteria como fuente de alimento suplementario, a pesar de su bajo aporte nutrimental, aunque se registra un afecto adverso sobre este rotífero, principalmente los juveniles, los cuales, son fuertemente afectados en comparación con la etapa adulta (Weithoff y Walz 1995). Esto concuerda con lo obtenido en la supervivencia de los organismos expuestos, donde en los primeros días de experimentación existe la mayor reducción de esta variable demográfica.

El aumento de la fecundidad en los experimento de tabla de vida, en los tratamientos 100 y 50% del lago Nabor carrillo en mayo y agosto y 50% del lago recreativo en el mes de mayo y agosto, posiblemente es un cambio en la estrategia reproductiva generada por la presencia de los extractos crudos, conocido comúnmente como compromiso (*Trade-off*), donde existe un incremento en algún rasgo como consecuencia de las situaciones ecológicas o ambientales (Stearns 2000). En este caso la fecundidad aumento de forma desmedida en comparación con el control, sin embargo, el costo de este incremento, se vio reflejado en la reducción de otras variables de la tabla de vida como: esperanza y promedio de vida, reduciéndolos drásticamente. Además, a pesar de que no fue medido el crecimiento somático, se apreció una reducción del tamaño de los neonatos al nacer y del tamaño de los organismos durante el proceso experimental, en comparación con el control.

IMPLICACIONES

El aumento y la persistencia de las poblaciones cianobacteriales, a consecuencia del excesivo incremento en la entrada de nutrientes a los sistemas acuáticos, provenientes de actividades humanas, se ha convertido en una problemática de carácter mundial común (Paerl y Otten 2013). Por esta razón, distintas agencias, entre ellas la Organización Mundial de la Salud, han establecido desde el año de 1998, un valor guía de 1 μ /L de microcistina variante LR, para fuentes de agua para consumo humano (Chorus y Bartram 1999), 4 μ /L en aguas de uso recreacional, sin embargo, este mismo organismo, categoriza que las aguas con concentraciones de microcistinas menores a 10 μ /L son consideradas relativamente de bajo riesgo para la salud humana, exposición de entre 10 y 20 μ /L implican un riesgo moderado y por encima de 20 μ /L se considera de alto riesgo con efectos adversos sobre la salud (Paerl y Otten 2013). Sin embargo estas concentraciones son basadas en promedios de adultos (60 kg) y solo en un análogo de microcistinas, además, ha sido documentado, que existen cianobacterias capaces de producir simultáneamente más de una cianotoxina o otros compuesto activos con potencial toxicológico como: cianopeptidos, lipolisacaridos y acidos linoleicos (Jungmann 1992; Chorus y Bartram 1999).

La formación de floraciones por cianobacterias con potencial tóxico ejerce efecto sobre todos los niveles tróficos, sin embargo, los invertebrados acuáticos (en especial el zooplancton), es uno de los grupos de mayor vulnerabilidad, al encontrarse en contacto directo con los componentes bioactivos producidos por las cianobacterias, por tal motivo requieren de atención especial (Oliveira 2013).

Es necesario incrementar es el estudio, acerca del efecto ocasionado por florecimientos cianobacteriales naturales y los efectos deletéreos que pueden ocasionar sobre zooplancton, en especial sobre rotíferos, no obstante es uno de los grupos comúnmente utilizados en bioensayos ecotoxicológicos (Clesceri et al. 1998). En adición, la mayoría de los trabajos que evalúan los efectos negativos cianobacteriales, se enfocan en cepas cultivadas en laboratorio y en zooplancton de zonas templadas (Sotero-Santos et al. 2006), por eso surge la necesidad de profundizar mediante el desarrollo de proyectos, que demuestren las diferentes respuestas que pueden mostrar los organismos zooplanctónicos de zonas tropicales, ante la presencia de estos compuestos con potencial toxicológico. La toxicidad de las sustancias evaluadas, depende del organismo sobre el cual se evalúen estas; estas suelen ser más tóxicas para animales (Agrawal et al. 2005), que para algas o plantas (Perron et al. 2012).

Así como hay estudios que reportan alta toxicidad de los extractos crudos cianobacteriales (Okumura et al. 2006; Vasconcelos et al. 2010; Lürling 2003), también hay trabajos que sugieren que las floraciones no siempre son tóxicas, o causan daños. Feizhou en 2013 reportó que las células lisadas de un florecimiento presente en el lago Taihu, no tuvieron un efecto adverso, ya que no hubo diferencias significativas entre la densidad y biomasa de los tratamientos y los controles, sobre *Bosmina longirostris*, *Ceriodaphnia cornuta*, *Mesocyclops spp.*, *Limnoithona sinensis*, *Sinocalanus dorrii* y *Schmackeria inopinus* (rango de 9.7 a 44.9 μL). *B. calyciflorus* mostró la capacidad de usar como suplemento alimenticio una cepa de *Microcystis aeruginosa* y mostrar tolerancia a una cepa tóxica de esta misma especie cianobacterial, debido a su capacidad de mantener altas tasas de alimentación, aprovechando las fuentes nutrimentales asociadas cercanamente con esta cianobacteria, las cuales incluyen bacterias, protozoos y algas, de los cuales obtiene los nutrientes necesarios para mantenerse en el medio durante floraciones cianobacteriales (Starkweather y Kellar 1983; Fulton y Paerl 1987).

Existen diversas características de los rotíferos que los promueven a los rotíferos como candidatos adecuados para la realización de pruebas toxicológicas poblacionales agudas y crónicas, tales como: su ciclo de vida relativamente corto, su baja variabilidad genética entre generaciones, su pequeña talla, sus requerimientos nutricionales que son bien conocidos, su reproducción en cortos períodos de tiempo, y su sensibilidad a cambios en la calidad del agua, debido a contaminantes tóxicos autóctonos o alóctonos (Sarma y Nandini 2006; Dahms et al. 2011), Actualmente han sido usados como organismos modelo en ensayos ecotoxicológicos, sustituyendo la evaluación sobre ratones o ratas (Heinze 1996; Becker et al. 2010).

BIBLIOGRAFÍA

- Alillo-Sánchez JL, Gaytán-Herrera ML, Martínez-Almeida VM, Ramírez-García P (2014) Microcystin-LR equivalents and their correlation with *Anabaena* spp. (*Dolichospermum* spp.) in the main reservoir of a hydraulic system of Central Mexico. *Inland Waters* (in press).
- Alva, M. A., S.S.S. Sarma., S. Nanidini.2007.*Population dynamics of Brachionus calyciflorus and Brachionus havanaensis (Rotifera) on mixed diets with Microcystis aeruginosa and green algae*, *Hidrobiológica*. 17 (1 Suplemento): 59-67.
- Alva-M. A., S.S.S. Sarma, S. Nanidini. 2007. *Effect of mixed diets (cyanobacteria and green algae) on the populations growth of the cladocerans Ceriodaphnia dubia and Moina macrocopa*. *Aquat Ecol*. 41:579–585.
- APHA (American public Health association). American Water Works Association & Water Pollution control Federation. 1994. Standard methods for the examination of water and wastewater . 17 Ed. APHA Washington D.C. 1197pp.
- Arzate, C. M. 2008. *Detección de Cianobacterias toxigénicas pertenecientes al género Microcystis mediante marcadores y ensayos biológicos* .Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.
- Becker, V., Ihara, P., Yunes, S. J., Huszar, Vera. L. M.2010. *Occurrence of anatoxina(s) during a bloom of Anabaena crassa in a water-supply reservoir in southern Brazil*. *J Appl Phycol*. 22:235–241.
- Codd, G., Morrison, L., Metcalf, J. 2005. *Cyanobacterial toxins: risk management for health protection*, *Toxicol. Appl. Pharmacol*.03:264–272.
- Ferrao-Filho, A. de S., Soaresb, M. C. S., Magalha~ esc, V. de F., Azevedoc, S. M.F.O.2009. *Biomonitoring of cyanotoxins in two tropical reservoirs by cladoceran toxicity bioassays*. *Ecol Appl*. 72 :479–489.
- Finney, D. J. 1971. *Probit Analysis*, 3a. ed. Cambridge University Press, Londres.
- Garcia, G. G .,S.S.S. Sarma, S. Nanidini.2007.*Combined effects of sediment and lead (PbCl2) on the demography of Brachionus patulus (Rotifera: Brachionidae)*. *Hydrobiologia*, 593:209–218.
- <http://mapserver.inegi.gob.mx/geografia/espanol/datosgeogra/hidro/lagunas.cfm>
- Huisman, J., Matthijs, H., Visser, P.2005. *Harmful Cyanobacteria*, 1° edición, Springer, Países Bajos.
- Infante, A., Riehl, W. 1984. *The effects of cyanophyta upon zooplanckton in a eutrphic tropic lake (lake Valencia, Venezuela)*. *Hydrobiologia*1,293-298.

- Krebs, C. J. 1985. *Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*, 3rd edn. Harper and Row, New York.
- Martínez-Romero, E., Martínez-Salgado, M., Millán-Cabrera, M., Ramírez-García, P. 2002. *Determinación de toxinas biológicas en una fuente de abastecimiento de agua dulce*, XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental Cancún, México.
- Mihaljević, M., Stevic, F. 2011. *Cyanobacterial blooms in a temperate river-floodplain ecosystem: the importance of hydrological extremes*, *Aquat Ecol*, 45:335–349.
- 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 Res.* 11: 111–123.
- Okumura, D., Sotero-Santos, R., Takenaka-Akemi, R., Rocha, O. 2006. *Evaluation of cyanobacteria toxicity in tropical reservoirs using crude extracts bioassay with cladocerans*, *Ecotoxicology*, 16: 263-270.
- Pérez, D.S., Soraci, A.L., Tapia, M.O. 2008. *Cianobacterias y cianotoxinas: rol de las microcistinas en la salud humana y animal y su detección en muestras de agua*, *Analecta Veterinaria* 28:48-56.
- Ramírez-García, P., Nandini, S., S.S.S. Sarma., Robles, E., Cuesta, I., Hurtado M. 2002. *Seasonal variation of zooplankton abundance in the freshwater reservoir Valle de Bravo (Mexico)*. *Hydrobiologia*, 467: 99-108.
- Sarma SSS, Nandini S (2006) Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans. *Journal Environmental Science and Health part B* 41:1417-1430.
- Sivonen K, Jones G (1999) Cyanobacterial toxins. In: Chorus I, Bartram J (eds) *Toxic cyanobacteria in water—A guide to their public health consequences, monitoring and management*. E & FN Spon, London, pp 41–91.
- Vasconcelos V, A Martins, M Vale, A Antunes, J Azevedo, Welker, O Lopez, G Montejano (2010) First report on the occurrence of microcystins in planktonic cyanobacteria from Central Mexico. *Toxicon* 56: 425-431.
- Vasconcelos, V. 2001. *Cyanobacteria toxins: diversity and Ecological*, *Limnetica*, 20, 45-58.
- Weber, C. I. 1993. *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms*, 4th edn. United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, EPA/600/4-90/027.