

# **UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS**



**“DETERMINACIÓN DE MICROCISTINAS LR, YR Y RR EN AGUA DEL LAGO DE  
CHAPALA Y SUS IMPLICACIONES EN LA SALUD DE LA POBLACIÓN DE AGUA  
CALIENTE, PONCITLÁN, JALISCO”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN EN MODALIDAD**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**P R E S E N T A**

**MIRIAM EVELIA PÉREZ VÁZQUEZ**

Las Agujas, Zapopan, Jalisco, Noviembre del 2018



# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

Secretaría Académica

Coordinación de la carrera de Biología

**C. Miriam Evelia Pérez Vázquez**

**Presente**

Manifestamos a usted que con esta fecha, ha sido **aprobado** su tema de titulación en la modalidad de Tesis, Tesina e Informes, opción específica Tesis con el trabajo intitulado: **“Determinación de Microcistinas LR, YR y RR en agua del lago de Chapala y sus implicaciones en la salud de la población de Agua Caliente, Poncitlán, Jalisco”**, para obtener el título de licenciado en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como **Director** de tesis al Dr. Javier García Velasco y **Asesor** al Dr. Alejandro Aarón Peregrina Lucano.

Sin más por el momento, aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

**A T E N T A M E N T E**  
**"PIENSA Y TRABAJA"**

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal. 12 de febrero de 2018

**MTRA. CINTHYA ARACELI LÓPEZ LÓPEZ**  
**PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

**MTRA. ROSA MARÍA DOMÍNGUEZ ARIAS**  
**SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

**COMITE DE  
TITULACION**



**LICENCIATURA  
EN BIOLOGIA**

**FORMATO 4**  
**Autorización impresión de tesis**

Las Agujas, Zapopan, Jalisco  
Fecha: 14 de Septiembre de 2018

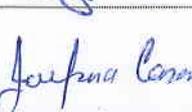
**MTRA. CINTHYA ARACELI LÓPEZ LÓPEZ**  
**PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**  
**LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**  
**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS**  
**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**PRESENTE:**

Por este conducto nos permitimos informar a Usted que habiendo revisado el trabajo de titulación "**Determinación de microcistinas LR, YR y RR en agua del Lago de Chapala y sus implicaciones en la salud de la población de Agua Caliente, Poncitlán, Jalisco.**" modalidad: **Tesis, Tesina, Informes**, opción específica: **Tesis**, del Reglamento General de Titulación de la Universidad de Guadalajara, que realizó el pasante: **MIRIAM EVELIA PÉREZ VÁZQUEZ** con código: **209405054**, consideramos que ha quedado debidamente concluido para su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

  
DR. JAVIER GARCIA VELASCO  
Director/a del trabajo

  
DR. ALEJANDRO AARON  
PEREGRINA LUCANO.  
Asesor(es) del trabajo

Grado y nombre completo del sinodal	Código	Firma	Fecha
Dra Martha Georgina Orozco Medina	9020853		14 Sept 2018
M.C. Martha Alicia Lara Gonzalez	2813653		21/09/18
Dra. Josefina Casas Solis	9508775		19/Sept/18
Dr. Alejandro Aaron Peregrina L.	9303693		20/sep/18

## **RESUMEN**

Determinación de microcistinas LR, YR y RR en agua del Lago de Chapala y sus implicaciones en la salud de la población de Agua Caliente, Poncitlán, Jalisco.

Miriam Evelia Pérez Vázquez

Director: Dr. Javier García Velasco

Las microcistinas (MCs) son hepatotoxinas producidas por cianobacterias, capaces de causar daño a la salud a corto y largo plazo. Dada su elevada toxicidad y el riesgo que implica su consumo, son consideradas como un problema ambiental, ecotoxicológico y sanitario; lo que las convierte en uno de los principales contaminantes de las aguas, superando en importancia a los metales pesados y plaguicidas. Por ello, la OMS sugiere un límite provisional de 1.0 µg/L y declara que los pacientes con diálisis renal son el grupo especialmente vulnerable. Es así que, se realizó la determinación de MCs en agua del Lago de Chapala (en las inmediaciones del poblado Agua Caliente, en Poncitlán, Jal. México). Mediante el uso de las técnicas SPE y UPLC-MS/MS se encontraron concentraciones entre 0.6 y 0.013 µg/L de MC-LR y MC-RR, lo que sugiere que la población es susceptible a padecer efectos genotóxicos, mutagénicos y teratogénicos, expuesta principalmente por el uso recreativo y consumo de animales y cultivos contaminados. Este trabajo, representa la primera propuesta metodológica de estandarización de la técnica para el análisis de MCs y cuya aplicación puede solventar la necesidad de cumplir con actualizaciones en las Normas Oficiales Mexicanas.

## **DEDICATORIA**

A Dios y a mis padres Cruz Evelia Vázquez Morales y Benito Pérez Sánchez por darme la vida y la oportunidad de vivirla. Espero que estén siempre orgullosos de mí.

A María Lilia Anaya de Chávez y José de Jesús Chávez Loza por estar al pendiente de mi formación como persona, de mis estudios y de mis metas futuras, esperando y deseando siempre lo mejor.

A todos y cada uno de mis profesores, que durante toda mi vida me han preparado constantemente para los retos venideros; gracias por su paciencia y amor a la enseñanza.

A Víctor Alonso Galván Álvarez, por su cariño e incondicional apoyo.

A mis compañeros de laboratorio y a todos mis amigos, en especial a quienes me han acompañado en el desarrollo de este proyecto: Liliana García, Montserrat Vega, Kevin Carrillo, Guillermo Alejandro, Julio Navarro y Tania Villaseñor.

A los habitantes del poblado de Agua Caliente, especialmente a la Sra. Lidia, a quien agradezco por abrir las puertas de su hogar y de la localidad, por apoyar en cualquier necesidad que se presentara durante este y otros proyectos afines, por compartir las costumbres, necesidades y dificultades que enfrentan día a día y, por sus ganas de ver salir adelante a su familia y a toda su comunidad.

Finalmente este trabajo está particularmente dedicado a todas las instituciones responsables de dotar de agua de calidad a la población mexicana y, a los investigadores y estudiantes que en un futuro hagan uso de su contenido, para que puedan encontrar en estas páginas una ventana y punto de partida en la labor de dar respuesta y soluciones a problemáticas ambientales.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad de Guadalajara y al Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) por brindar un espacio para el aprendizaje y desarrollo personal.

A todas y cada una de las personas que de una u otra manera participaron en la culminación de este proyecto. En particular al Dr. Ramón Rodríguez Macías, Secretario Académico del CUCBA, a quien especialmente agradezco por el incondicional apoyo otorgado.

A la Dra. Inmaculada Saiz Martínez y al Dr. Javier Aldaz Berruezo, así como a todo el equipo del Laboratorio de Salud Pública, del Instituto de Salud Pública y Laboral de Navarra, España, quienes abrieron las puertas al proyecto he hicieron posible su realización.

Al Dr. Felipe de Jesús Lozano Kasten, al Mtro. Horacio Guzmán Torres y a todo el equipo de trabajo que desempeña una labor en la comunidad de Agua Caliente, gracias por la oportunidad de convivir, trabajar y aprender con ustedes.

A mi director de tesis el Dr. Javier García Velasco a quien expreso mi más entero agradecimiento por su gran calidad humana, por su amistad, compañía, lecciones, asesorías y consejos.

De igual manera emito un especial agradecimiento al Dr. Alejandro Aarón Peregrina Lucano, así como a mis lectores por sus comentarios y asesorías, los cuales contribuyeron en gran medida a la retroalimentación de esta investigación. Particularmente quiero agradecer a la Dra. Martha Georgina Orozco Medina, a la Dra. Josefina Casas Solís y a la Mtra. Martha Alicia Lara González por su disposición y aportaciones, las cuales fueron de suma importancia para esta y futuras publicaciones; gracias por su acogedora guía y constante interés en mi formación, así como por las oportunidades de participar en publicaciones, cursos y grupos de investigación.

*Todas las sustancias son venenos, no existe ninguna que no lo sea.  
La dosis, es la diferencia entre un veneno y el remedio*

*Paracelso*

## ÍNDICE

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>3</b>
<b>LISTA DE TABLAS .....</b>	<b>4</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>5</b>
<b>2. ANTECEDENTES .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1 La Contaminación del Agua.....</b>	<b>7</b>
<b>2.1.1 La eutrofización de los cuerpos de agua .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1.2 Cianobacterias y cianotoxinas .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1.2.1 Intoxicaciones masivas por cianotoxinas.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1.3 Las microcistinas.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1.3.1 Estructura química.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1.3.2 Toxicocinética .....</b>	<b>18</b>
<b>2.1.3.3 Toxicodinamia.....</b>	<b>20</b>
<b>2.1.3.4 Ingesta diaria tolerable.....</b>	<b>21</b>
<b>2.2 Métodos de Análisis para las Microcistinas.....</b>	<b>21</b>
<b>2.3 Antecedentes Normativos para las Microcistinas en México .....</b>	<b>24</b>
<b>2.4 Grupos Vulnerables y Problemática en el Área de Estudio .....</b>	<b>25</b>
<b>3. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>27</b>
<b>4. HIPÓTESIS .....</b>	<b>28</b>
<b>5. OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
<b>6. METODOLOGÍA .....</b>	<b>28</b>
<b>6.1 Diseño Metodológico .....</b>	<b>28</b>
<b>6.2 Descripción del Área de Estudio .....</b>	<b>29</b>
<b>6.3 Protocolo de Muestreo .....</b>	<b>30</b>
<b>6.3.1 Localización de los puntos .....</b>	<b>30</b>
<b>6.3.2 Toma de la muestra.....</b>	<b>33</b>
<b>6.4 Analítica del Agua.....</b>	<b>35</b>

6.4.1	<i>Determinación de parámetros fisicoquímicos</i> .....	35
6.4.2	<i>Determinación de la diversidad fitoplanctónica</i> .....	36
6.4.3	<i>Determinación de microcistinas</i> .....	37
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>43</b>
7.1	<b>Datos de Acompañamiento en Campo</b> .....	43
7.2	<b>Determinación de Variables Fisicoquímicas</b> .....	45
7.3	<b>Determinación del Fitoplancton</b> .....	48
7.4	<b>Determinación de Microcistinas LR, YR y RR</b> .....	50
7.5	<b>Asociación entre Variables Fisicoquímicas y MCs</b> .....	53
<b>8.</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>55</b>
8.1	<b>Variables Fisicoquímicas y su asociación con las MCs</b> .....	55
8.2	<b>Composición del Fitoplancton</b> .....	59
8.3	<b>Microcistinas LR, YR y RR</b> .....	61
8.4	<b>Estimación del Riesgo Potencial para la Población Expuesta</b> .....	65
8.4.1	<i>Factor de riesgo presente por actividad agrícola</i> .....	66
8.4.2	<i>Factor de riesgo presente por actividad pecuaria</i> .....	67
8.4.3	<i>Factor de riesgo presente por actividades recreativas</i> .....	68
<b>9.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>70</b>
<b>10.</b>	<b>PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES A FUTURO</b> .....	<b>71</b>
<b>11.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>73</b>
<b>12.</b>	<b>ANEXO I</b> .....	<b>88</b>
<b>13.</b>	<b>ANEXO II</b> .....	<b>89</b>
<b>14.</b>	<b>ANEXO III</b> .....	<b>96</b>
<b>15.</b>	<b>ANEXO IV</b> .....	<b>102</b>

## LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Diagrama simplificado de los factores que determinan las causas de las floraciones cianobacterianas y los efectos de éstas sobre los sistemas acuáticos y su biota. Recuperada de Pérez, et al., (2008).....	12
<i>Figura 2.</i> Estructura química de las microcistinas Cyclo (-D-Ala-L-X-D-eritro- $\beta$ -Me-Asp-L-Y-ADDA-D-Glu-Mdha) Recuperada y modificada de De Luca, et al., (2010).....	17
<i>Figura 3.</i> Diagrama de flujo con los procesos llevados a cabo durante la elaboración del presente proyecto.....	29
<i>Figura 4.</i> Mapa que muestra la ubicación de la comunidad de Agua Caliente del municipio de Poncitlán y los puntos de muestreo. Elaborado mediante el uso del sistema de información geográfica Quantum Gis®. ....	33
<i>Figura 5.</i> Diagrama que explica la Extracción en Fase Sólida.....	42
<i>Figura 6.</i> Diagrama que muestra el proceso simplificado y resumido de una Cromatografía de Líquidos Acoplada a Espectrometría de Masas en Tándem (UPLC-MS/MS). ....	42
<i>Figura 7.</i> Resultados obtenidos para turbiedad en cada muestra y el Límite Máximo Permitido por la modificación a la NOM-127-SSA1-1994. ....	47
<i>Figura 8.</i> Resultados obtenidos en la determinación de potencial de hidrógeno (pH) en cada punto durante los 5 muestreo y los Límites Máximos Permitidos de la modificación a la NOM-127-SSA1-1994 y de los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua.....	48
<i>Figura 9.</i> Curva de calibración para la cuantificación de MC-LR. ....	51
<i>Figura 10.</i> Curva de calibración para la cuantificación de MC-YR.....	51
<i>Figura 11.</i> Curva de calibración para la cuantificación de MC-RR.....	51
<i>Figura 12.</i> Análisis de Componentes Principales (PCA) de las muestras positivas a MC-LR y sus parámetros fisicoquímicos correspondiente.....	54
<i>Figura 13.</i> Análisis de Componentes Principales (PCA) de las muestras positivas a MC-RR y sus parámetros fisicoquímicos correspondientes. ....	54
<i>Figura 14.</i> Cluster elaborado con los valores promedio de fisicoquímicos y las concentraciones de MCs LR y RR. ....	55
<i>Figura 15.</i> Concentraciones de MCs totales en la literatura internacional, durante el estudio de cuerpos de agua eutrofizados, mediante los análisis de HPLC y LC/MS-MS.....	61

## LISTA DE TABLAS

<i>Tabla 1.</i> Variables más comunes de MCs y su número de identificación CAS (Chemical Abstracts Service). .....	18
<i>Tabla 2.</i> Estaciones de muestreo y los criterios para su selección.....	31
<i>Tabla 3.</i> Especificaciones para la colecta y almacenamiento de muestras destinadas a análisis físicoquímicos.....	34
<i>Tabla 4.</i> Métodos analíticos aplicados para la determinación de los parámetros físicoquímicos FQ II...	35
<i>Tabla 5.</i> Funciones de masas para el análisis de las microcistinas LR, YR y RR. ....	40
<i>Tabla 6.</i> Concentraciones del multipatrón de MCs, blanco y control para la elaboración de las curvas de calibración.....	41
<i>Tabla 7.</i> Valores promedio de los datos de acompañamiento en campo por muestreo. ....	43
<i>Tabla 8.</i> Valores promedio de los datos de acompañamiento en campo por sitio de muestreo.....	44
<i>Tabla 9.</i> Valores promedio de las variables físicoquímicas (FQ II) por número de muestreo. ....	45
<i>Tabla 10.</i> Valores promedio de las variables físicoquímicas (FQ II) por sitio de muestreo.....	46
<i>Tabla 11.</i> Presencia (1) y ausencia (0) de los géneros más frecuentes de microalgas observados en las muestras del Lago de Chapala en las inmediaciones del área de estudio.....	49
<i>Tabla 12.</i> Frecuencias de los principales géneros de microalgas observados en las muestras del Lago de Chapala.....	50
<i>Tabla 13.</i> Resultados cualitativos de las variantes de microcistinas LR, YR y RR, del total de muestras colectadas.....	52
<i>Tabla 14.</i> Porcentajes obtenidos con base en la determinación cualitativa de MCs.....	52
<i>Tabla 15.</i> Resultados cuantitativos de las muestras que presentaron valores positivos para las variantes de microcistinas LR y RR en µg/L. ....	52
<i>Tabla 16.</i> Parámetros físicoquímicos y variables ambientales capaces de influenciar en la proliferación de cianobacterias y producción de cianotoxinas.....	53
<i>Tabla 17.</i> Valores de Sulfatos, Dureza cálcica y Turbiedad, de las muestras con concentraciones elevadas de MC-LR y MC-RR. ....	57
<i>Tabla 18.</i> Valores de Fluoruros y Oxígeno Disuelto de las muestras positivas para MC-LR y MC-RR...	58
<i>Tabla 19.</i> Valores guía de la OMS para la probabilidad Relativa de Efectos Agudos para la Salud, durante la exposición a cianobacterias y MC-LR en aguas destinadas para el consumo humano y recreación. .....	62
<i>Tabla 20.</i> Valores límite sugeridos por la EPA para MCs en aguas recreativas.....	63
<i>Tabla 21.</i> Resultados cuantitativos de MCs en µg/L de las muestras positivas no cuantificables de acuerdo a la seguridad del método utilizado.....	69

## INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso renovable, aunque limitado y se encuentra libremente en la naturaleza, representando un bien común por su papel indispensable para la vida; sin embargo, no siempre se presenta pura y de una calidad aceptable para el consumo.

En la segunda mitad del siglo XX, la demanda de agua potable se incrementó enormemente debido sobre todo al crecimiento de la población; por otro lado, el desarrollo tecnológico e industrial, así como el uso indiscriminado de sustancias químicas han provocado un desequilibrio en el medio, modificando al recurso hídrico y causando que el 90% de las muertes por agua a nivel mundial se deban a la contaminación y no a la escasez. Por ello, en el siglo XXI la calidad del agua y su gestión se han vuelto una preocupación de primera magnitud, motivando el esfuerzo de numerosas instituciones para desarrollar nuevas técnicas e investigaciones en temas de tratamiento y desinfección del agua (Vergara, et al., 2013).

A finales del siglo pasado, comenzaron a ser muy estudiados los procesos de eutrofización y los crecimientos masivos de cianobacterias en el fitoplancton, sin embargo, las investigaciones sobre identificación y cuantificación de las toxinas producidas por las cianobacterias son posteriores, por lo que sólo recientemente se ha reconocido a estos organismos como un problema de salud pública (Cirés y Quesada, 2011).

Una de las cianotoxinas que ha causado el interés de muchos investigadores por su abundancia, resistencia y toxicidad son las microcistinas (MCs), clasificadas como hepatotoxinas de bajo peso molecular, producidas fundamentalmente por los géneros de cianobacterias: *Microcystis sp.*, *Aphanizomenon sp.*, *Anabaena sp.*, *Oscillatoria sp.*, y *Nodularia sp.* (Martínez, 2006; Ardanaz, 2010 y Ruiz, et al., 2010) los cuales tienden a tener crecimientos anormales llamados floraciones o blooms, principalmente debidos a elevadas concentraciones de nutrientes como nitrógeno y fosforo, así como de altas temperaturas, abundante exposición a la luz y poco viento. Cabe señalar que estas cianobacterias, se distribuyen ampliamente en las aguas continentales y su presencia se ha reportado en la mayoría de los países del mundo (Sivonen, 1996; Fastner, et al., 1999). Por lo tanto, tras la aparición y determinación de una floración de éstas en la superficie acuática, se debe asumir de antemano la posible toxicidad de la misma (Moreno, 2002).

Las microcistinas son causantes de intoxicaciones tanto en animales como en humanos y son consideradas como un problema ambiental, ecotoxicológico y principalmente sanitario. Además, el riesgo que implican no es exclusivo del recurso hídrico, puesto que las cianobacterias que las producen se encuentran presentes en prácticamente todos los ecosistemas acuáticos y terrestres de la tierra, formando parte fundamental de la red trófica, permitiendo que se bioacumulen en vertebrados e invertebrados acuáticos comunes, como peces, moluscos y zooplancton, provocando que los efectos tóxicos se magnifiquen en la cadena alimenticia y pongan en riesgo la salud de la población (Chorus y Bartram, 1999).

Este proyecto de investigación consideró evaluar una problemática de calidad del agua presente en el Lago de Chapala, el cual es uno de los cuerpos hídricos más importantes de la República Mexicana (CEA, 2017). Actualmente presenta niveles de eutrofia capaces de favorecer el crecimiento de cianobacterias potencialmente tóxicas, que sugieren un posible riesgo de contaminación por MCs (De Anda y Maniak, 2017). Tal proyecto se desarrolló en las inmediaciones del poblado de Agua Caliente, donde predomina una población infantil con daño renal (Lozano-Kasten, et al., 2017 y Luna, et al., 2017), dicha patología predispone a que la población sea considerada como de alta vulnerabilidad a las MCs (Falconer, 1999 y OMS 1999).

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 La Contaminación del Agua

El agua es uno de los recursos más importantes para la vida en el planeta. Los seres humanos dependemos de su disponibilidad no sólo para el consumo y uso doméstico, sino también para el funcionamiento y la continuidad de las actividades agrícolas e industriales; sin embargo, es un recurso limitado. Se ha estimado que existen alrededor de 1,400 millones de  $\text{Km}^3$  de agua en el planeta, de los cuales sólo el 2.5% corresponden al agua dulce. Este pequeño porcentaje se localiza principalmente en los ríos, lagos, glaciares, mantos de hielo y acuíferos del mundo (PNUMA-GEMS, 2007). Si consideramos al agua dulce no congelada (31.2%), la subterránea representa el 96%, la cual abastece arroyos, manantiales y humedales, además de satisfacer las demandas de agua de muchas sociedades en el mundo; asimismo, las aguas superficiales (lagos, embalses, ríos, arroyos y humedales) retienen únicamente el 1% del agua dulce no congelada, siendo ésta la porción del líquido de mayor explotación por el hombre (SEMARNAT, 2018).

En las últimas décadas, con la finalidad de producir más alimentos y energía, así como de dotar del servicio de agua potable a poblaciones cada vez más numerosas, la demanda por el líquido ha crecido significativamente y la contaminación, se ha convertido en el principal agravante del problema de la escasez afectando a grandes sectores de la población. Cada año se vierten a los cuerpos hídricos millones de metros cúbicos de aguas residuales, descargas municipales, industriales y agrícolas tratadas de forma inadecuada o sin tratamiento alguno; provocando como consecuencia un severo impacto en los ecosistemas y en la salud (FCEA, 2018).

En México, las descargas de aguas residuales se clasifican en municipales (abastecimiento público urbano y rural) y no municipales (otros usos como industria autoabastecida); actualmente se estima que el país genera cerca de  $431.7 \text{ m}^3/\text{s}$  de aguas residuales totales, de las cuales se colectan  $207 \text{ m}^3/\text{s}$  (85%) y solamente el 40.5% son tratadas (CONAGUA, 2018). No obstante, existe un volumen indeterminado de aguas contaminadas que no son colectadas, las cuales se pierden en las redes de desagüe o son descargadas de forma ilegal directamente al medio. Muchos de los cuerpos de agua superficiales del país reciben de manera continua, descargas residuales sin tratamiento que ocasionan su contaminación y, en consecuencia, afectaciones a la salud de la

población (SEMARNAT, 2018); por ejemplo, para el año 2015, en México se reportaron 3,754 muertes a causa de enfermedades infecciosas intestinales, atribuidas principalmente al agua y productos agrícolas contaminados (FCEA, 2018).

Aun cuando el tema del agua se ha centrado principalmente en las necesidades humanas, es indispensable destacar su importancia como elemento clave para el funcionamiento y mantenimiento de los ecosistemas naturales. Sin el agua, los ecosistemas naturales se degradan, pierden su biodiversidad y con ello, dejan de proveer o reducen la calidad de los bienes y servicios ambientales que sostienen a las sociedades (SEMARNAT, 2018).

Estadísticas revelan que las principales fuentes de contaminación del agua en México tienen su origen en la basura arrojada a los sistemas de alcantarillado, ríos y lagos; seguidos por las descargas de los centros urbanos, industrias y áreas agrícolas, las cuales son las principales responsables de la contaminación difusa en el país. Sin embargo, a nivel mundial el desafío más frecuente al que se enfrenta la calidad del agua es a la carga de nutrientes y productos químicos que, según la región, se asocian a menudo con la carga de patógenos. Por otro lado, se espera que la calidad del agua se deteriore aún más en las próximas décadas, lo que aumentará las amenazas para la salud humana, el medio ambiente y el desarrollo sostenible; de igual manera, se estima que el mayor aumento en la exposición a contaminantes tenga lugar en los países de ingresos bajos y medio bajos, debido principalmente a un mayor crecimiento demográfico y económico y a la falta de sistemas de gestión de aguas residuales (UNESCO, 2018).

### **1.1.1 La eutrofización de los cuerpos de agua**

La eutrofización representa un problema ambiental reconocido desde la mitad del siglo XX (Rodhe, 1969), puede provocar el deterioro del medio acuático agotando el oxígeno disuelto, causando mortandad de peces y otros organismos, facilitando la liberación de sustancias tóxicas previamente fijadas en los sedimentos y, contaminando el agua para uso y consumo humano. Este proceso puede producirse de forma natural e irreversible, pero lo más frecuente es que su origen sea antrópico, bien por descargas de aguas residuales o por el lixiviado de fertilizantes procedentes de explotaciones agrícolas; en este caso, la tasa de eutrofización es incomparablemente más rápida

y el proceso puede llegar a ser irreversible aún si se eliminan las condiciones que lo propiciaron (Forján-Lozano, et al., 2008).

En los países en vía de desarrollo, existe un crecimiento sin control ni planeación tanto de industrias como de asentamientos humanos, originando entre otros el problema de la contaminación de los ecosistemas acuáticos, ya que éstos se utilizan como un sistema de eliminación de desechos muy cómodo (Quiroz-Castelán, et al., 2004). Por ello, los impactos a los que están sometidos los lagos han generado cambios en la estructura y composición de las comunidades biológicas, baja transparencia del agua, crecimiento masivo de microalgas, disminución de las concentraciones de oxígeno disuelto e incremento en la concentración de iones disueltos (Almanza, et al., 2016).

La crisis ambiental generada por el modelo urbano-industrial, demandante de agua (directa o indirectamente) para sus servicios, es de suma preocupación e interés para los usuarios y las autoridades correspondientes. El caso de la cuenca Lerma-Chapala-Santiago, en el estado de Jalisco, México, es un claro ejemplo de un eje urbano-industrial, donde los recursos hidrológicos han sido, tanto fuente primaria de abastecimiento como lugar de desecho (Duran y Torres, 2003; De Anda y Shear, 2001 y De Anda, et al., 2000). Por otro lado, en la sección de la cuenca Chapala-Santiago, se reconocen los riesgos de una crisis ambiental que puede alterar de manera irreversible las condiciones de sustentabilidad por la pérdida y contaminación del recurso hídrico, lo cual puede minar las bases mismas del crecimiento económico y la calidad de vida de los habitantes del estado de Jalisco (Solís y Cortés 1999).

A través del tiempo, el Lago de Chapala ha estado expuesto a diversas fuentes y niveles de contaminación indiscriminada como: descargas municipales de diferentes comunidades, aguas de retorno agrícola y aguas residuales provenientes del río Lerma vertidas por industrias (Quiroz-Castelán, et al., 2004); a pesar de ello, el lago muestra valores continuos de calidad del agua con fluctuaciones en algunos registros, manteniendo la fase de eutrofia como resultado del aporte indiscriminado de contaminantes y a la pérdida de volumen a causa de la extracción (De Anda y Maniak, 2007).

Entre muchas otras consecuencias, las condiciones del lago favorecen el crecimiento del fitoplancton (Quiroz-Castelán, et al., 2004), manifestándose un reemplazamiento de especies algales de *Chlorophytas* por *Cyanophytas*, como uno de los principales síntomas del avance de la eutrofización (Kalff y Knoechel, 1978) provocando condiciones adversas para la vida de los organismos acuáticos y terrestres, presentando un escenario a futuro de mayor deterioro ambiental con tendencia a aumentar, sin olvidar que este lago es la principal fuente de abastecimiento de agua para la Zona Metropolitana de Guadalajara con las implicaciones sanitarias correspondientes.

### **1.1.2 Cianobacterias y cianotoxinas**

En aguas eutrofizadas, ricas en nutrientes y expuestas a altas cantidades de luz solar, se reúnen las condiciones adecuadas para el crecimiento anormal del fitoplancton, originando desarrollos explosivos llamados floraciones o blooms (figura 1), generalmente dominados por una o dos especies (Forján-Lozano, et al., 2008).

Entre los organismos más representativos de las floraciones se encuentran las cianobacterias; éstas representan uno de los grupos biológicos más antiguos del planeta, su origen se conoce desde la época precámbrica y se consideran como los primeros organismos fotosintéticos en colonizar nuestro planeta, además son las originadoras de la atmósfera oxidante que hoy prevalece (Bekker, et al., 2004).

Estos organismos unicelulares cuentan con la capacidad de formar colonias micro y macroscópicas, así como de generar filamentos rectos o ramificados. Su reproducción es asexual, ya sea por división celular, fragmentación del talo o por producción de diversas formas de esporas resistentes. Tienen características comunes con las bacterias, por ser organismos procariontes que carecen de un núcleo verdadero y con las microalgas, debido a su capacidad de realizar fotosíntesis oxigénica; ambas cualidades las convierte en un grupo único en cuanto a su fisiología y tolerancia a condiciones extremas, otorgándoles flexibilidad adaptativa y plasticidad morfológica y ecológica (Lee, 2008 y Komárek, 2008).

Antiguamente se les conocía con la denominación de “algas verde-azules” debido a su contenido en pigmentos de clorofila-a (verde), ficocianina (azul) y ficoeritrina (rojo). Actualmente,

han sido incluidas dentro del Código Internacional de Nomenclatura de Bacterias (ICNB) y en el Código Internacional de Nomenclatura para Algas, Hongos y Plantas, en donde se reconoció y aceptó la denominación común para estos organismos a nivel de división de *Cyanobacteria*, *Cyanophyta* o *Cyanoprokaryota* (León-Tejera y Montejano, 2000).

Las cianobacterias tienen una amplia distribución en hábitats de aguas continentales, marinos y terrestres, incluyendo ambientes extremos como aguas termales (mayores a 80°C), desiertos cálidos y fríos, lagos hipersalinos, biotopos en regiones volcánicas, entre otros. Tienen la habilidad de sobrevivir a largos períodos de desecación y algunas especies producen una vaina externa que les permite sobrevivir en ambientes de alta radiación UV. La mayoría de las cianobacterias planctónicas poseen vesículas de gas intracelulares, vacuolas gaseosas o aerotopos, con los que pueden regular su posición dentro de la columna de agua. Algunas especies presentan estados de latencia que sedimentan ante condiciones desfavorables, poseen células de almacenamiento de sustancias de reserva; y en ausencia de nitrógeno, tienen la capacidad de fijarlo desde la atmósfera por medio de células especializadas denominadas heterocistos, los cuales también tienen capacidad reproductiva (Cirés, et al., 2017).

Por otro lado, la importancia de las cianobacterias va desde su uso en la biotecnología y farmacéutica, hasta la industria alimenticia; no obstante, el interés actual de las mismas radica en su capacidad tóxica; y puesto que no son capaces de proliferar dentro del cuerpo humano, su importancia en el sector salud se enfoca en la producción y liberación de toxinas (cianotoxinas) durante la senescencia, muerte y lisis de la célula, causando efectos importantes sobre la salud (Falch, et al., 1995; Moreno, 2002; Mora-Navarro, 2001; Mora-Navarro, et al., 2004; Cotler, et al., 2006 y Ardanaz, 2010).

Por ello, la identificación de cianobacterias es uno de los parámetros a tener en cuenta en el control de la calidad de las aguas de recreo y bebida, además de representar uno de los indicadores más importantes en diferentes países europeos (Cirés y Quesada, 2011), debido a su corto ciclo de vida y su rápida respuesta a los cambios del medio. De igual manera, Sommer (1993), Chorus and Schlag (1993), Díaz-Pardo, et al. (1998), Gomes (2000) y Neselli-Flores and Barone (2000) justifican la necesidad de considerar las variaciones espacio-temporales y riqueza de especies de las poblaciones fitoplanctónicas, como una herramienta para la evaluación de la calidad del agua,

debido a la abundancia, composición y distribución, sujetas y en estrecha relación con las condiciones tróficas.

En aguas dulces, las especies de cianobacterias *Microcystis aeruginosa* y *Anabaena circinalis*, constituyen un importante indicador del riesgo de intoxicación por el uso de agua contaminada, ya que las cianotoxinas que producen repercuten sobre la salud de la vida acuática con potencial impacto en la salud humana (Ruiz, et al., 2010).

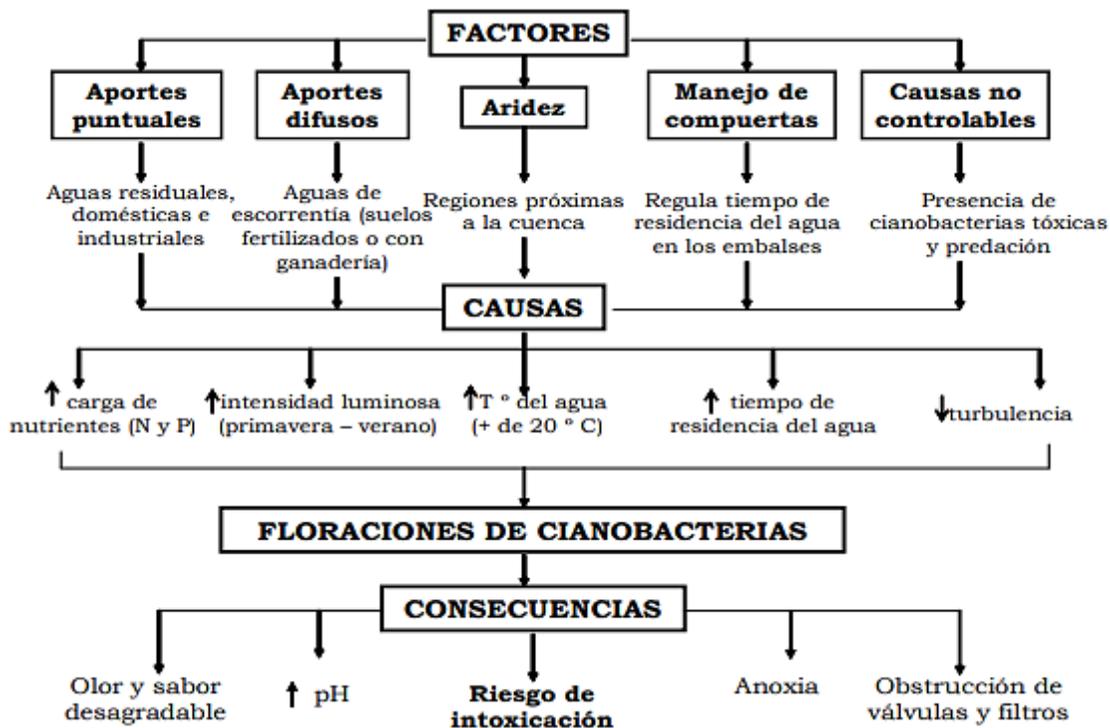


Figura 1. Diagrama simplificado de los factores que determinan las causas de las floraciones cianobacterianas y los efectos de éstas sobre los sistemas acuáticos y su biota. Recuperada de Pérez, et al., (2008).

Las cianotoxinas son consideradas como uno de los compuestos más tóxicos y preocupantes en las masas de agua, tanto por su elevada distribución como por su alta toxicidad (Pérez, et al., 2008). Éstas, son un conjunto de compuestos de diferente naturaleza química, producidas por las cianobacterias como metabolitos secundarios, que tienen efectos muy dañinos en ciertos tejidos, células y órganos; y de los cuales se desconoce el motivo de su producción, aunque algunos científicos sostienen que su función principal es la protección frente a organismo superiores y las han asociado como una respuesta competitiva por los recursos (Komárek, 2013).

Según su naturaleza química se clasifican en péptidos cíclicos (heptapéptidos y pentapéptidos), alcaloides (guanidino cíclico, carbamatos no sulfatados, monosulfatados o disulfatados) y organofosforados naturales, aunque normalmente se clasifican en función de su efecto sobre los organismos: toxinas irritantes, citotoxinas, neurotoxinas, dermatotoxinas y hepatotoxinas (Chorus y Bartram, 1999).

La presencia de cianobacterias tóxicas ha sido reportada al menos en 44 países (Pérez, et al., 2008) y la legislación de algunos de ellos considera a las cianotoxinas como uno de los principales compuestos contaminantes de las aguas dulces, superando en importancia a los metales pesados o a los plaguicidas, principalmente debido a que las películas de cianobacterias al secarse en la orilla de los cuerpos de agua, permiten la acumulación de altas concentraciones de éstas, perdurando por varios meses y liberándose nuevamente al agua (Cirés y Quesada, 2001).

#### *1.1.2.1 Intoxicaciones masivas por cianotoxinas*

Los primeros registros de alteraciones gastrointestinales resultantes del contacto de la población con cianotoxinas, se reportaron en 1931 en varias ciudades a orillas del río Ohio en los Estados Unidos, donde se informaron numerosos casos de gastroenteritis que se asociaron a un intenso florecimiento de cianobacterias (Tisdale, 1931). Del mismo modo, en el año 1988 se produjo una severa epidemia de gastroenteritis en Brasil, luego de la instalación de la represa de Itaparica, en este caso fueron informados cerca de 2000 casos en un período de 42 días, 88 de los cuales resultaron fatales, siendo los niños el grupo principalmente afectado; asimismo las investigaciones revelaron que todo se relacionó con un florecimiento de cianobacterias de los géneros *Anabaena sp.* y *Microcystis sp.* (Teixera, et al., 1993). No obstante, algunos autores aseguran que la intoxicación humana más grave reportada por agua contaminada con toxinas de los géneros *Microcystis sp.* y *Cylindrospermopsis sp.*, se presentó en 1996 en la ciudad de Caruaru, Brasil, con la intoxicación de 131 personas y 52 muertes (Jochimsen, et al., 1998; Pouria, et al., 1998; Carmichael, 2001; Azevedo, et al., 2002).

Con el fin de tomar medidas preventivas y aminorar el riesgo potencial para las poblaciones expuestas, en muchas partes del mundo se han efectuado estudios en las fuentes de abastecimiento, donde se monitorea el grado de eutrofización y la presencia de cianobacterias tóxicas. Tal es el caso de los trabajos realizados en el Embalse San Roque ubicado en Córdoba, Argentina; en el cual se demostró que la población se encontraba en contacto permanente con las cianobacterias,

debido al alto contenido de éstas en el lago, por lo que el gobierno argentino dispuso de medidas preventivas alertando a la población y evitando el uso recreacional de las aguas (Ruiz, et al., 2010).

En otros países de América del Sur existen registros de la presencia de floraciones de cianobacterias y cianotoxinas, como es el caso de Uruguay (UNESCO, 2009; Fabre, et al., 2010; Ferrari, et al., 2011; O'Farrell, et al., 2012), Argentina, (Amé, et al., 2003; Amé y Wunderlin, 2005; Ehrenhaus y Vigna, 2006; Giannuzzi, et al., 2011a y 2011b), y Chile (Parra, et al., 1980; Peñaloza, et al., 1990; Campos, et al., 2005; 2007); sin embargo, en ninguno de ellos existen reportes de intoxicaciones humanas por consumo de agua contaminada; probablemente debido a que muchos casos de enfermedades por cianotoxinas no son o no están bien documentados, debido a que los pacientes y/o los médicos no asocian los síntomas con estas sustancias, generalmente por desconocimiento o por la variabilidad de los síntomas (Falconer, 2007).

Cabe señalar, que no en todas las partes del mundo se cuenta con los equipos, materiales y el personal capacitado para realizar una evaluación constante de las concentraciones de cianotoxinas, por ello, se llevan a cabo monitoreos de la composición del fitoplancton y determinaciones de la clorofila- $\alpha$  como modelo preventivo (OMS, 1999; Moreno, et al., 2003 y Howard, et al., 2017). Sin embargo, a pesar de los numerosos casos que demuestran la incidencia de cianobacterias y el riesgo a la salud que implica su exposición, en algunas regiones los eventos de floraciones tóxicas siguen siendo poco estudiados y subestimados (Dörr, et al., 2010).

En lo que respecta a México, se han reportado eventos de floraciones algales nocivas en varios estados de la República, como es el caso de Jalisco, Michoacán, Veracruz, San Luis Potosí, Querétaro, Guanajuato, Puebla, Oaxaca, Hidalgo y el Estado de México, donde se observó que las especies más representativas fueron *Aphanizomenon gracile*, seguida de *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis pulvera* y *Anabaena affinis* (Tomasino-Ortíz, et al., 2012). Por otro lado, también existen estudios sobre la determinación de cianotoxinas en diferentes cuerpos de agua en el centro del país, tales como Valle de Bravo en el Estado de México (Ramírez-García, et al., 2004), en el Lago de Chapultepec, los canales de Xochimilco y Cuemanco en la Ciudad de México, donde la toxina analizada fue la microcistina LR y las concentraciones encontradas oscilaron de 4.9 a 78  $\mu\text{g/L}$  (Arzate-Cárdenas, et al., 2010, Vasconcelos, et al., 2010, Oliva-Martínez, et al., 2008).

Aun así, se considera que en México la información de los cuerpos de agua con floraciones algales nocivas, bioacumulación de cianotoxinas y efectos sobre la salud pública, es carente en extremo (Nandini y Sarma, 2012).

### 1.1.3 Las microcistinas

La capacidad de sintetizar MCs apareció muy temprano en la evolución de las cianobacterias, pero se ha perdido en ciertas ramas filogenéticas con el tiempo. Las primeras MCs fueron identificadas por Bishop y sus colaboradores en el año de 1959 (Rantala, et al., 2004). Éstas representan una familia de más de 90 heptapéptidos cíclicos y son producidas principalmente por los géneros *Microcystis sp.*, *Anabaena sp.*, *Oscillatoria sp.* y *Nostoc sp.* (Carmichael, 2001) lo que las convierte en las hepatotoxinas más comunes y frecuentes en las aguas eutrofizadas (Paerl, 1996). Dada su naturaleza, sus células diana son fundamentalmente los hepatocitos y macrófagos, provocando el colapso de la organización tisular, necrosis y hemorragia intra-hepática. Son potentes inhibidoras de la fosfatasa proteica tipo 1 y 2A (PP1 y PP2A) tanto de animales como de plantas superiores; su ingesta en altas concentraciones ocasiona la muerte y/o efectos acumulativos crónicos, como la inducción a la formación de tumores hepáticos (Almanza, et al., 2016).

Cabe señalar que una vez sintetizada y liberada es muy difícil de eliminar; los métodos vigentes están desarrollados fundamentalmente a nivel laboratorio y algunos de ellos utilizan floculación o filtración, seguido de cloración en altas concentraciones; no obstante, estos procedimientos apenas afectan a las toxinas. En la perspectiva de Vergara, et al., (2013), los filtros de carbón activo son el método con mejores resultados, aunque también se consideran poco viables por su elevado costo. Sin embargo, algunos autores como Lahti, et al. (1997) sostienen que en el medio acuático puede suscitarse un método de desinfección, el cual ocurre cuando las MCs hidrofílicas son adsorbidas por los sedimentos, provocando una desoxidación natural que las vuelve susceptibles a la acción bacteriana; no obstante, la resistencia de la toxina permite un bajo porcentaje de desinfección.

Por otro lado, los esfuerzos de detección de MCs, se han enfocado en cuerpos de agua dulce, principalmente de carácter léntico (lagos, lagunas, embalses y estanques) de las latitudes templadas, debido al desarrollo frecuente de proliferaciones masivas de cianobacterias; por ello el

agua corriente, agua salada, altas montañas, tuberías y los hábitats aeróbicos (a excepción de los líquenes) han sido muy raramente muestreados (Rantala, et al., 2004). Pese a esto, diversos autores han demostrado que cianobacterias con potencial tóxico están ampliamente distribuidas en el planeta y son capaces de prosperar en algunos de los ambientes más extremos, tales como los valles secos y fríos de la Antártida, hasta el desierto hiper-árido y caliente de Atacama, insinuando que las MCs muy posiblemente sean las toxinas más frecuentes en ambos polos del planeta (Tonk, et al., 2007; Wood, et al., 2008; McCall, et al., 2010; Metcalf, et al., 2012 y Kleinteich, et al., 2013); y afirmando que estas toxinas, son un fenómeno global que no se limita a algunos nichos específicos (Cirés, et al., 2017).

#### *1.1.3.1 Estructura química*

Las MCs son sólidos amorfos, sin color y muy estables, resistentes a la hidrólisis u oxidación química, puesto que a elevados o bajos pH ocurre una lenta ruptura molecular, requiriéndose para una degradación del 90% una exposición constante por 10 semanas a un pH 1 y más de 12 semanas a un pH 9. Por otro lado, la destrucción térmica de la molécula ocurre a temperaturas superiores a los 120°C (Moreno, 2002), lo que impide la potabilización del agua contaminada por esta condición y resulta en una situación preocupante, ya que algunas comunidades de bajos recursos recurren a hervir el agua para poder disponer de ella y la temperatura alcanzada resulta insuficiente para la destrucción de la toxina.

Las MCs han sido uniformemente determinadas y se caracterizan por ser una estructura cíclica, formada por siete aminoácidos: D-alanina, D-eritro-  $\beta$ -Metil-Aspártico, 3-amino-9-metoxi-2, 6, 8-trimetil-10-fenildeca-4, 6-ácido dienoico, D-glutámico, N-metilhidro-Alanina; además, estas toxinas albergan una amplia gama de variantes dadas por sustituciones de aminoácidos en las posiciones X y Y, como se observa en la figura 2.

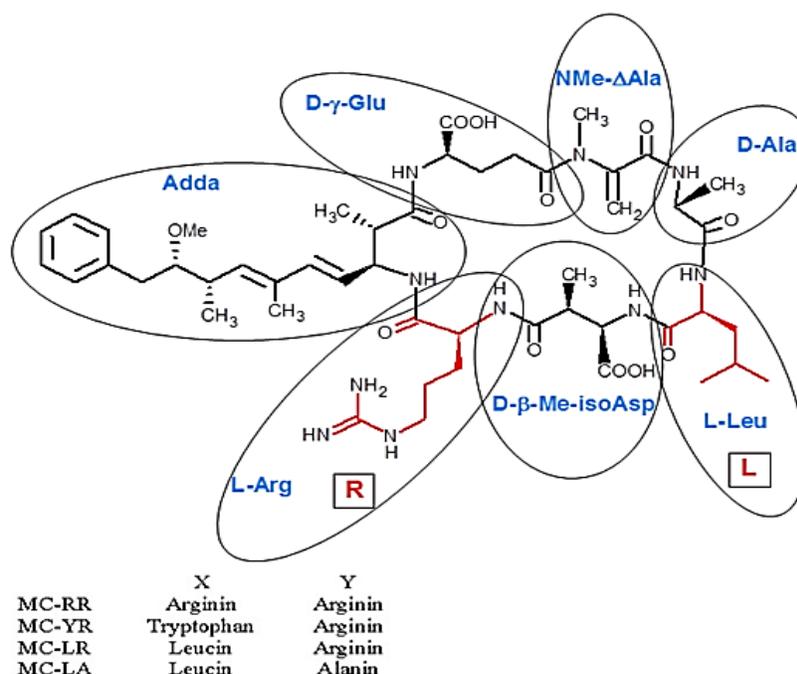


Figura 2. Estructura química de las microcistinas Cyclo (-D-Ala-L-X-D-eritro-β-Me-Asp-L-Y-ADDA-D-Glu-Mdha) Recuperada y modificada de De Luca, et al., (2010).

En la posición X los aminoácidos más comunes suelen ser: leucina (L), arginina (R) y tirosina (Y), aunque también se han encontrado con homotirosina (Hty), fenilalanina (F), alanina (A), homofenilalanina (Hph) y triptófano (W). En la posición Y el aminoácido más frecuente es arginina (R), aunque también se han encontrado variedades con alanina (A), leucina (L), ácido aminoisobutirico (Aba), tirosina (Y) y fenilalanina (F). Dichos aminoácidos en sus respectivas posiciones, se indican con un sufijo de dos letras, por ejemplo: MC-LR, MC-YR y MC-RR, siendo estos tres las variedades más estudiadas (Sivonen, 1996). Por otro lado, con base en la nomenclatura de la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC, 2018) las MCs se identifican con el nombre de: (5R, 8S, 11R, 12S, 15S, 18S, 19S, 22R)-15-[3-(diaminomethylideneamino) propyl]-18-[(1E, 3E, 5S, 6S)-6-Methoxy-3, 5-dimethyl-7-phenylhepta-1, 3-dienyl]-1, 5, 12, 19-tetramethyl-2-methylidene-8-(2-methylpropyl)-3, 6, 9, 13, 16, 20, 25-heptaoxo-1, 4, 7, 10, 14, 17, 21-heptazacyclopentacosane-11, 22-dicarboxylic acid; así como con los números CAS que se muestran en la tabla 1.

Tabla 1.  
*Variables más comunes de MCs y su número de identificación CAS (Chemical Abstracts Service).*

<b>Analito</b>	<b>Clave</b>	<b>Número CAS</b>
Microcistina-LR	(MC-LR)	101043-37-2
Microcistina-RR	(MC-RR)	111755-37-4
Microcistina-YR	(MC-YR)	101064-48-6
Microcistina-LA	(MC-LA)	96180-79-9
Microcistina-LF	(MC-LF)	154037-70-4
Microcistina-LY	(MC-LY)	23304-10-9

Fuente: Recuperado y modificado de COFEPRIS (2017).

Por otro lado, si se toma en consideración la estructura química y la ubicación de los aminoácidos en las posiciones X y Y, las MCs se pueden clasificar en tres niveles de toxicidad:

- Toxicidad elevada (LR, LA, YR),
- Toxicidad moderada (WR)
- Toxicidad baja (LY, RR)

Cabe señalar que LR es la variante de MC más resistente y difícil de descomponer (Moreno, 2002), además, de ser la más estudiada debido a su alta toxicidad. Sin embargo, trabajos como los de Stoner, et al., (1989) llevan a la conclusión de que un cambio de aminoácido en la molécula de MC cambia a su vez el potencial tóxico de la misma, pero no el efecto tóxico que ésta produce, demostrando que en ratones adultos MC-LR resulta más tóxica que en ratones recién nacidos; y de manera contraria MC-RR presenta una mayor toxicidad en ratones recién nacidos, que en adultos.

### *1.1.3.2 Toxicocinética*

#### *Exposición y absorción*

Las vías de exposición de los seres humanos a las MCs son principalmente por ingestión directa de agua con floraciones, por contacto a través del baño o por consumo de alimentos contaminados (Turner, et al., 2018). Es decir, que las rutas por las que la toxina ingresa al organismo son la oral

y la dérmica, lo que permite asumir que el uso recreacional de las aguas es la ruta de exposición más importante (Almanza, et al., 2016).

Seguido a la ingesta, la ruta de absorción principal es a través del intestino delgado, demostrado por los estudios de Ito, et al. (2000 y 2001), quienes encontraron grandes cantidades de MC-LR en ambas superficies de las vellosidades intestinales de ratones; asimismo, sus resultados revelan que a pesar de que los pulmones no son órganos diana de las MCs, éstos sirven como una entrada al cuerpo, poniendo en evidencia su rápida y fácil absorción a través de la vía respiratoria.

### *Distribución y eliminación*

La distribución de las MCs, al igual que muchos otros contaminantes, ocurre a través del torrente sanguíneo. Para ello, Ito, et al., (2000 y 2001) comprobaron en ratones que la MC-LR viaja por la sangre, llegando hasta el hígado, pulmones y corazón, para posteriormente distribuirse a todo el organismo, logrando afectar al intestino delgado, intestino grueso, ciego, riñones, estómago y cerebro. De igual manera, otros estudios en modelos murinos indican que tras la inyección intravenosa I.V. e intraperitoneal I.P. de dosis sub-letales de MCs, el 70% de la toxina rápidamente se localiza en el hígado por la captación de los hepatocitos y macrófagos (Falconer, et al., 1986).

De manera similar, Stotts, et al., (1997) demostraron que tras la administración I.V. de 25 µg/Kg de MCs en cerdos, el 64.6% de la dosis se concentraba en el hígado, el 1.2% en los riñones, el 1.75% en pulmón, el 0.22% en corazón, el 0.13% en íleon y el 0.04% en médula. Asimismo, encontraron que a dosis mayores de 75 µg/Kg ocurría una disminución de la toxina en el hígado (46.99%) y aumentaba la concentración de ésta en los riñones (2.19%). No obstante, a pesar de los trabajos que demuestran la acumulación de MCs en riñones, ésta es poco detectada en orina, puesto que se ha observado en ratones que después de los primeros 3 días posteriores a la ingesta, los niveles de la toxina disminuían tanto en el riñón como en el intestino delgado; la MC pasaba a formar parte del contenido de las heces y las moléculas acumuladas en el hígado se eliminaban después de 7 días por medio de las secreciones biliares (Ito, et al., 2000),

En lo que respecta a su excreción, la principal ruta de eliminación es a través de la vía biliar y, la cantidad eliminada depende de la cantidad de bilis producida (Bury, et al., 1998). No obstante, se ha observado en experimentos que la cantidad de MC eliminada, únicamente es una porción del

total de la toxina administrada, tal como lo revelan los trabajos de Robinson, et al., (1991), quienes afirman que tras la administración I.V., solamente el 9% de la dosis es excretando por vía urinaria y el 1% por vía fecal; de igual manera llegaron a la conclusión de que los tiempos de vida media plasmática de la MC-LR son muy variables y están en función del estado de salud del individuo y de la fuente de exposición.

### *1.1.3.3 Toxicodinamia*

#### *Efecto tóxico agudo*

El efecto tóxico intracelular de las MCs ocurre en el citoesqueleto, dañando los microfilamentos y haciendo que colapsen hacia el núcleo. La necrosis hepática aguda masiva producida por estas toxinas, ocurre con la disociación de los hepatocitos y de las células sinusoidales del endotelio, permitiendo que la sangre entre en el tejido, produciendo un cuadro hemorrágico y choque hipovolémico, dando lugar a la muerte, la cual se produce en unas pocas horas o días y viene precedida por un coma, temblor muscular, palidez y dificultad de la respiración (Vergara, et al., 2013).

A nivel sistémico, tras una única exposición de contacto con elevadas concentraciones de MCs (intoxicación aguda), los principales síntomas que presentan las personas son: irritación de la piel, ojos, oídos y boca, que suele involucrar descamación, erupciones y aparición de ampollas. Por otro lado, cuando se ha producido la ingesta accidental, algunos de los síntomas más comunes incluyen: daño en el hígado (hepatoenteritis con hepatomegalia, dolor abdominal y elevación de enzimas hepáticas séricas como  $\gamma$ -glutamyltransferasa), daño renal (acompañado de pérdida de electrolitos, glucosa, cetonas y sangre en la orina), afecciones en el tracto digestivo (gastroenteritis aguda, dolor abdominal, náuseas, vómitos y diarreas), en el tracto respiratorio (dolor de garganta, tos seca y neumonía atípica) y otras afecciones como episodios alérgicos, síntomas de asma, fiebre, cefaleas, fatiga y mareos (Chorus y Bartram, 1999; Falconer, 1999 y Carmichael, 2001, Moreno, 2002).

#### *Efecto tóxico crónico*

En cambio, si las concentraciones de MCs son bajas pero la exposición es constante y por un largo periodo de tiempo, se puede presentar una intoxicación crónica, donde la capacidad de las MCs para interferir en la estructura y mitosis celular, ocasionan efectos en el organismo de tipo

genotóxico, mutagénico y teratogénico, siendo el cáncer primario de hígado (PLC) la principal patología (Ueno, et al., 1996; OMS, 1998a y Ruiz, et al., 2010).

Su rol como promotoras de PLC se ha confirmado mediante extractos de la MC-LR, la cual muestra una fuerte mutagenicidad en el Ensayo de Ames, así como la inducción de daño en el ADN en cultivos primarios de hepatocitos y, un aumento de los eritrocitos policromáticos micronucleados en médula ósea de ratón (Andrinolo, 2006). Por otro lado, en modelos murinos y animales acuáticos se ha observado la capacidad de las MCs para atravesar la barrera placentaria, demostrando su toxicidad tanto materna como embrionaria y fetal, la cual va desde la disminución de peso corporal y daño hepático, hasta la muerte embrionaria, malformaciones y retardo en el crecimiento fetal (Bu, et al., 2006).

En humanos, se ha encontrado relación entre la exposición crónica por consumo de agua contaminada en el primer trimestre de embarazo y un aumento de defectos congénitos (Moreno, et al., 2003). A pesar de ello, siguen siendo muy escasos los estudios sobre los posibles efectos genotóxicos de las microcistinas (Pérez, et al., 2008).

#### *1.1.3.4 Ingesta diaria tolerable*

Dada la elevada toxicidad que representan y su capacidad para bioacumularse y biomagnificarse a través de la cadena alimenticia, la OMS (2003) recomienda no exceder la concentración de 2 a 4 µg/L de MC-LR en agua para uso recreativo y, sugiere un límite de seguridad provisional en agua potable de 1.0 µg/L; además señala que la ingesta diaria tolerable (IDT) debe ser de 0.04 µg/Kg/día de MC-LR (OMS, 1998a y 1998b). Sin embargo, estos límites excluyen a las demás variedades de MCs, por lo que no representan el potencial tóxico total o real que pudiese estar presente en una determinada muestra de agua.

## **1.2 Métodos de Análisis para las Microcistinas**

Los métodos de análisis de las cianotoxinas son variados, se utiliza un método u otro dependiendo del tipo de molécula y de lo que se pretenda conocer sobre la muestra. Las opciones van desde métodos simples y rápidos para realizar una apreciación global de la toxicidad y efectos biológicos de la muestra, hasta métodos complejos y sofisticados que permiten la identificación y cuantificación de componentes individuales y sus variantes. Estos métodos incluyen bioensayos con modelos murinos, ensayos de inhibición de proteína fosfatasa, inmunoensayos (kit ELISA),

cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), espectroscopía de masas (LC-MS) y técnicas moleculares como PCR (Almanza, et al., 2016). Cabe resaltar que, para la cuantificación y correcta identificación de las cianotoxinas, se requiere de estándares para cada una de las variantes a estudiar. En el caso de las MCs, los estándares se encuentran disponibles de manera comercial y de fácil acceso, pero con un elevado costo.

Uno de los métodos inicialmente utilizados para la determinación de cianotoxinas fue el de inmunoensayo ELISA (“Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay”, por inmuno-absorción ligado a enzimas. Con el tiempo se han desarrollado diversos kits para cianotoxinas, siendo el de MCs el más comercializado y utilizado; el único problema es que el método ELISA no es capaz de detectar las diferentes variables de la toxina, lo que puede provocar obtener resultados falsos positivos. Para lograr determinar correctamente los distintos congéneres en la muestra, se debe complementar el ELISA con métodos analíticos instrumentales que permitan obtener mayor detalle de la composición de la toxina en la muestra y/o en la floración (Tomasino-Ortíz, et al., 2012).

Los métodos instrumentales se basan en el peso molecular, reactividad, interacción con matrices cromatográficas y otras características fisicoquímicas de estos compuestos. Una de las técnicas más utilizadas es la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) con detección UV, en particular con arreglo de diodos. Ésta es una técnica acreditada por el United Kingdom Accreditation Service (UKAS), según la norma ISO 20179 (2005); con ella se pueden determinar variantes individuales de MCs, sin embargo, es un método muy costoso que implica no solamente equipamiento especializado, sino también de personal técnico, un tratamiento de la muestra y estar sujeto a la disponibilidad de estándares, puesto que el equipo HPLC debe ser calibrado para cada una de las especies de MCs y para ello, son necesarios estándares que deben tener una pureza mayor al 95 % y estar en una concentración stock de 10 µg/mL en metanol (UNESCO, 2009).

Las muestras positivas por cromatografía HPLC se pueden confirmar por una técnica de análisis cualitativo, como la espectroscopía de masas (LC-MS). Esta técnica se basa en la obtención de iones a partir de moléculas orgánicas en fase gaseosa; una vez obtenidos estos iones, se separan de acuerdo con su masa y su carga y finalmente, se detectan por medio de un equipo adecuado. La combinación de la cromatografía líquida con métodos de espectrometría de masas (MS) como LC/MS o LC/MS-MS permite la separación e identificación de MCs con la mayor confiabilidad,

puesto que permite la posibilidad de estimar la masa de los distintos componentes. La LC/MS es hoy en día fundamental ya que la mayoría de las cianotoxinas no tienen estándares comerciales disponibles por lo que es posible atribuir una masa a cada pico del cromatograma (Almanza, et al., 2016).

Otra técnica de determinación es por ionización suave, utilizada en espectrometría de masas y conocida como MALDI-TOF, la cual es también potente para la determinación de las cianotoxinas, con la ventaja de que requiere baja o ninguna preparación de la muestra, sin embargo, no es accesible para muchos laboratorios por su elevado costo. De igual forma, métodos moleculares con la técnica de PCR también están siendo utilizados para la detección de cianotoxinas (Vasconcelos, 2015); sin embargo, esta técnica tiene como desventaja que la detección de los genes puede no relacionarse con la real producción de toxinas y sus concentraciones (Ibelings et al., 2014).

Aunque se han desarrollado diferentes métodos que permiten determinar las cianotoxinas en aguas superficiales, aún no se ha aceptado ninguno como método estándar por las agencias oficiales de medio ambiente. Los métodos químicos como cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) y la Electroforesis Capilar con diferentes detectores, nos permiten conocer la identidad y la cuantificación de las toxinas individuales producidas por diferentes cepas de cianobacterias (Aguete, et al., 2001). A pesar de ello, la determinación de MCs por métodos cromatográficos no está exenta de limitaciones, con una enorme variabilidad de posibilidades en su determinación (Meriluoto, 1997); por otro lado, la introducción de la Cromatografía de Inmunoadfinidad (ICA) está dando buenos resultados en la determinación de MCs en agua, cultivos y peses (Lawrence y Menard, 2001).

### 1.3 Antecedentes Normativos para las Microcistinas en México

En México, el abordaje normativo que existe sobre las MCs es escaso y actualmente no cuenta con normas vigentes que monitoreen y controlen los niveles en agua para uso y consumo humano.

La última modificación a la Norma Oficial Mexicana de Salud Ambiental: “*Agua para uso y consumo humano, límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización*” (NOM-127-SSA1-1994) corresponde al año 2000 y dentro de sus lineamientos no incluye la determinación de cianotoxinas. De igual manera, el Acuerdo por el que se Establecen los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua CE-CCA-001/89, tampoco incluye un apartado que contemple a los florecimientos algales nocivos y las cianotoxinas.

Para el año 2010 se propuso una nueva actualización para la NOM-127-SSA1-1994, éste trabajo no fue aprobado y quedó como un proyecto de norma, el cual incluye por primera vez un límite máximo permisible para fitotoxinas en agua, donde se contempla a la MC-LR con un límite de 1.0 µg/L; además, en el apéndice normativo B de las especificaciones mínimas de los métodos de prueba, se sugieren las técnicas analíticas de inmunoanálisis (ELISA) y cromatografía de líquidos alta resolución (HPLC) con un límite de detección de 0.3 µg/L.

De igual forma, el proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-250-SSA1-2014: “*Agua para uso y consumo humano, límites máximos permisibles de la calidad del agua y requisitos sanitarios que deben cumplir los sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados, su control y vigilancia (procedimiento sanitario de muestreo)*”, tiene un apartado sobre las MCs, en el que señala la frecuencia de monitoreo con base en la concentración de habitantes; además, indica el procedimiento de muestreo y especifica que, cuando el suministro de agua total o parcial provenga de una obra de captación de río, lago o embalse, se debe cumplir con el límite máximo permisible de 1.0 µg/L para MC-LR.

Por otro lado, el Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-179-SSA1-2017: “*Agua para uso y consumo humano, control de la calidad del agua distribuida por los sistemas de abastecimiento de agua*” hace referencia al monitoreo mensual de la MC-LR en la entrada de los sistemas de tratamiento y se redirige al límite permisible establecido en la NOM-127-SSA1-2017, la cual actualmente se encuentra en proceso de revisión con el nombre completo de: Proyecto de

Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-127-SSA1-2017 “*Agua para uso y consumo humano, límites permisibles de la calidad del agua*”.

En conjunción con el proyecto de norma antes mencionado, la COFEPRIS (2017) publicó los *Métodos Revisados para la Determinación de Microcistinas; BTEX y Estireno; y Ácidos Haloacéticos*. Este documento despliega el *Apéndice Normativo A.2.1 Método para la Determinación de Microcistina en Agua para Uso y Consumo Humano*, el cual detalla tres métodos sugeridos para su análisis:

- A.2.1.1 Método para la determinación de microcistinas y nodularinas totales en agua de uso y consumo humano mediante el Ensayo Inmunoenzimático ADDA.
- A.2.1.2 Método para la determinación de microcistinas y nodularinas en agua de uso y consumo humano por Extracción de Fase Sólida y Cromatografía Líquida/Espectrometría de Masas en Tándem (LC/MS/MS).
- A.2.1.3 Método para la determinación de microcistina mediante Extracción en Fase Sólida (SPE) y la Cromatografía de Líquidos de Alto Rendimiento (HPLC) con detección ultravioleta (UV).

#### **1.4 Grupos Vulnerables y Problemática en el Área de Estudio**

Dentro de las poblaciones humanas existen individuos que son más susceptibles que otros a enfermedades, a contaminantes o a cambios bruscos en las condiciones ambientales, como suele ser el caso de niños y ancianos. Para Falconer (1999) los niños conforman el grupo más sensible a las MCs, principalmente por ser el sector de la población que bebe más agua por unidad de peso corporal, además de no tener capacidad de elección sobre la fuente de agua de bebida y recreación y, presentar mayor afinidad al desarrollo de patologías a largo plazo como la inducción de carcinomas; de igual manera, el grupo que le sigue a la población pediátrica en susceptibilidad, son las personas que padecen patologías como hepatitis, daño renal o alcoholismo. Asimismo, la OMS (1999) sostiene que los pacientes con diálisis renal son el grupo especialmente vulnerable a la presencia de MCs en el agua, destacando que una de las razones es que el tratamiento los expone por vía intravenosa a grandes volúmenes del líquido.

En el año 2016, a nivel mundial México ocupaba el primer lugar con la mayor tasa de años perdidos por muerte prematura (ApMP) a causa de la insuficiencia renal (IR); siendo Jalisco el estado con la mayor tasa de ApMP en jóvenes de 20 a 24 años con este padecimiento, seguido por Tlaxcala, Estado de México y Guanajuato (IHME, 2018). Del mismo modo, Gongora, et al. (2008) y Cárdenas-González, et al. (2016) afirman que los estados con mayor número de registros de IR infantil son Jalisco, Aguascalientes y San Luis Potosí.

Estudios como el de “Epidemiología de la Insuficiencia Renal en México”, dado a conocer por la Secretaría de Salud en 2010, destacan que cada año se suman 40,000 nuevos casos de IR en México, debido a una falta de cultura de prevención. De acuerdo con esto, en ningún país se registran niveles tan altos como sucede en la población mexicana, donde se reportan arriba de 500 enfermos por cada millón de habitantes (CEDHJ, 2018); y cabe mencionar que la dimensión del problema aumenta cuando se incluyen a todos los pacientes que no son derechohabientes de alguna institución de salud pública y que no tienen los recursos económicos para atenderse en instituciones privadas.

En lo que respecta al poblado de Agua Caliente, la situación de marginación y condiciones insalubres (donde se destaca un mal manejo de los residuos, desnutrición y escasas fuentes de agua potable), colocan a los habitantes en una posición de vulnerabilidad a diversas enfermedades.

Para el año 2010, en el informe anual de pobreza y rezago social de la SEDESOL y CONEVAL, se reportó que el poblado contaba con 282 habitantes sin derechohabiencia a servicios de salud, 50 viviendas sin agua entubada de la red pública, 33 sin drenaje, 35 sin excusado o sanitario, 18 con piso de tierra y 6 sin energía eléctrica; ubicando al poblado entre las 5 localidades con mayor rezago social en el municipio de Poncitlán.

Alrededor de los años 90, la insuficiencia renal crónica (IRC) fue detectada entre los pobladores de Agua Caliente, aumentando con los años, lo que ha llevado a la comunidad a manifestar quejas ante las autoridades correspondientes, sobre la violación a sus derechos humanos de acceso a los servicios de salud (inadecuada e ineficiente atención médica), así como de su derecho a un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, refiriéndose particularmente al tema del agua y su saneamiento (CEDHJ, 2018). Para atender a esta problemática, se han llevado a cabo trabajos de

investigación, que han guiado a los estudiosos a la conclusión de que la raíz del problema de insuficiencia renal es multifactorial.

A principios del 2016, personal académico de la Universidad de Guadalajara realizó un censo en el que se contabilizó un total de 950 pobladores, al mismo tiempo que se observó el padecimiento de insuficiencia renal en la población infantil. Por ello, la misma Universidad inició un proyecto de investigación autorizado por el Comité de Ética del Departamento de Salud Pública (DCSP/CEI/2016/10/176), donde el objetivo principal fue determinar la presencia de albúmina en la orina de niños menores de seis años en la comunidad de Agua Caliente, localizada a orillas del Lago de Chapala. Los resultados mostraron que, de 394 participantes un total de 180 niños fueron positivos, lo que confirmó una prevalencia de albuminuria de 3-5 veces más alta que la reportada en la literatura internacional. Por otro lado, los autores afirman que los problemas de salud de la comunidad han sido más notables en los últimos meses y que hasta la fecha, se desconocen datos o estudios que puedan demostrar las causas del aumento de la enfermedad en la población (Lozano-Kasten, et al., 2017).

## **2. JUSTIFICACIÓN**

El propósito de esta investigación, fue conocer la calidad cianotóxica y fisicoquímica del lago en la zona de influencia, así como realizar una revisión literaria de los posibles efectos a la salud para los grupos vulnerables expuestos en la población de Agua Caliente, Jal. México.

La pertinencia de este trabajo, se fundamenta en la presencia de floraciones de cianobacterias potencialmente tóxicas en el Lago de Chapala, provocadas principalmente por la eutrofización del mismo. Por lo que se espera encontrar en el agua la presencia de microcistinas, las cuales implican un riesgo potencial a corto y largo plazo para la salud de los usuarios del recurso. Asimismo, la elevada incidencia de daño renal en la población seleccionada justifica la necesidad de atender esta problemática. De igual manera, este trabajo representa la primera propuesta metodológica de estandarización de la técnica; y cuyo análisis puede fundamentar la necesidad de contar con actualizaciones en las Normas Oficiales Mexicanas y Proyectos de Norma.

### **3. HIPÓTESIS**

Si en el agua del Lago de Chapala, se presentan microcistinas en su forma química LR, YR o RR como producto de la eutrofización y contaminación, entonces la población usuaria directamente del recurso hídrico será afectada en órganos tales como hígado y riñones.

### **4. OBJETIVOS**

#### **Objetivo General**

Determinar la concentración de microcistinas en agua del Lago de Chapala y estimar posibles riesgos a la salud de los grupos vulnerables expuestos.

#### **Objetivos Específicos**

- Determinar las concentraciones de microcistinas LR, YR y RR en agua del Lago de Chapala, en las inmediaciones de la población de Agua Caliente.
- Conocer la calidad fisicoquímica del agua del lago correspondiente al área de influencia.
- Determinar la composición taxonómica del fitoplancton en el agua del Lago de Chapala, en las inmediaciones del área de estudio.
- Estimar los posibles factores de riesgo presentes en la población de Agua Caliente con base en la literatura consultada.

### **5. METODOLOGÍA**

#### **5.1 Diseño Metodológico**

Este proyecto consistió de 3 fases principales, donde la primera de ellas fue la selección de los puntos y toma de las muestras, seguida por la analítica del agua para los parámetros fisicoquímicos, fitoplancton y MCs en laboratorios especializados; finalmente la fase tres conllevó la interpretación de resultados y la estimación de posibles riesgos a la salud para la población en cuestión (figura 3).

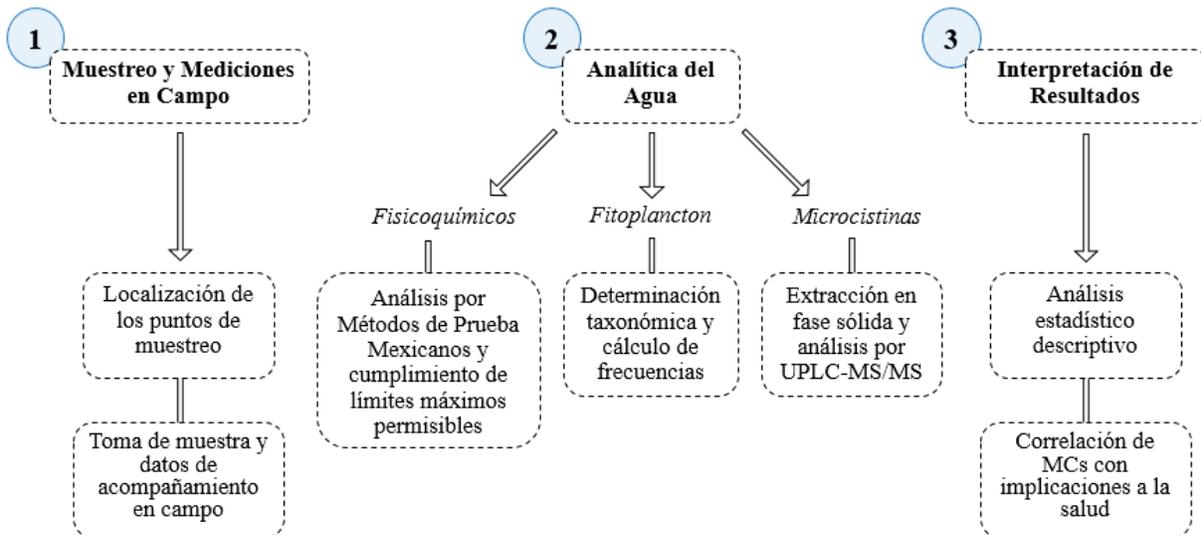


Figura 3. Diagrama de flujo con los procesos llevados a cabo durante la elaboración del presente proyecto.

A continuación, se despliegan en los siguientes apartados las fases expuestas y la metodología detallada del proyecto.

## 5.2 Descripción del Área de Estudio

El poblado de Agua Caliente, se localizada en la parte sur del municipio de Poncitlán en el estado de Jalisco, entre las coordenadas de Latitud Norte 20°18'46.00" y Longitud Oeste 102°55'43.00", con una extensión aproximada de 2 km a lo largo de la ribera del lago (Figura 4). A su vez, el Lago de Chapala forma parte de la cuenca Lerma-Chapala-Santiago y se ubica en la parte centro-oriente del estado de Jalisco en el occidente de México, entre los 20°7' y 20°21' N y los 102°40'45" y 103°25'30" W a una altitud de 1,524.0 msnm.

El lago cuenta con una superficie de 114,659 hectáreas (ha) de las cuales el 86% corresponde al estado de Jalisco y el 14% restante al estado de Michoacán; su capacidad total es de 7,897 millones de metros cúbicos (Mm<sup>3</sup>), lo que lo convierte en el lago más grande e importante de la República Mexicana y en la principal fuente de abastecimiento de agua para la zona conurbada de Guadalajara, aportando el 60% del agua que llega a la ciudad (CEA, 2017; Mora-Navarro, et al., 2006 y Lind y Dávalos-Lind, 2001).

Poncitlán pertenece a la región de la Ciénega y es uno de los 7 municipios que colindan con el perímetro del lago (Chapala, Poncitlán, Ocotlán, Jamay, Jocotepec, Tuxcueca y Tizapán el Alto), siendo Cojumatlán de Régules, Venustiano Carranza y Briseñas las localidades correspondientes al estado de Michoacán. Algunos de los pueblos de Poncitlán que se asientan en la ribera del lago destacan: San Juan Tecamatlán, Mezcala de la Asunción, San Pedro Itzican, La Zapotera, El Zapote y Agua Caliente (IIEG, 2018 y GOB, 2017).

### **5.3 Protocolo de Muestreo**

En esta sección se despliega la primera fase del proceso metodológico, la cual corresponde a la selección de los puntos, la toma de muestras y la medición de datos de acompañamiento en campo.

#### **5.3.1 Localización de los puntos**

Para el muestreo, se seleccionaron 5 puntos ubicados en la ribera del lago, de los cuales 3 se situaron en las inmediaciones del poblado y el resto en zonas alejadas y de menor afluencia por parte de los habitantes. Las colectas se llevaron a cabo de manera mensual, comenzando en febrero y concluyendo en mayo del año 2018; obteniendo un total de 25 muestras, que se mantuvieron en refrigeración y oscuridad hasta el momento de su análisis.

Para el trabajo en campo, se llevó a cabo una etapa de reconocimiento del área de estudio, tal como lo sugieren Miller, et al., (2010), Gible y Kudela, (2014), Preece, et al., (2015), Gible, et al., (2016), Tatters, et al., (2017) quienes proponen que antes de la elección definitiva de los puntos, se realice un periodo piloto en el que se obtenga la siguiente información:

- Determinación de los mejores puntos de muestreo.
- Estimación del tiempo necesario para la recogida de muestra.
- Establecimiento de las horas, fechas y/o periodos del año para la recolección.

Además, este tiempo permitió la familiarización con el sitio e interacción con los habitantes, así como establecer las variables más representativas para el estudio, para las cuales se consultaron los trabajos de diversos autores, quienes concuerdan que los criterio de selección a considerar son: la presencia evidente de floraciones algales, así como las actividades y usos del agua por parte de la población, de las que se destacan: consumo del agua como bebida, prácticas recreacionales, uso

agrícola, ganadero, pesca, cercanía a localidades vulnerables y a descargas de agua residual (OMS, 1999; Backer, et al., 2008; Leda, et al., 2011; Elbert, et al., 2012; Cirés, et al., 2017 y Howard, et al., 2017) siendo éstos, los mismos criterios contemplados en el presente trabajo y con los que se elaboró la tabla 2, donde se indica el nombre del punto, su ubicación geográfica (mediante el uso de GPS) y la justificación para su inclusión.

Tabla 2.  
*Estaciones de muestreo y los criterios para su selección.*

<b>Estación</b>	<b>Nombre</b>	<b>Coordenadas</b>	<b>Variable(s)</b>
1	Las Rocas	N 20° 18' 49" W 102° 56' 08"	Zona de difícil acceso vía terrestre, ubicada a las afueras del pueblo. Presencia de floraciones algales. Uso del agua para riego agrícola.
2	Agua Caliente	N 20° 18' 43" W 102° 55' 52"	Zona preferencial para recreación y actividades de higiene personal y doméstica. Uso del agua para riego agrícola. Anteriormente fuente de abastecimiento de agua potable.
3	Camino al Templo	N 20° 18' 39" W 102° 55' 37"	Uso del agua para riego agrícola. Presencia de ganado porcino, avícola y animales domésticos. Zona de baño, recreación e higiene personal y doméstica.
4	Zona de Pesca	N 20° 18' 36" W 102° 55' 21"	Uso del agua para riego agrícola. Zona de pesca. Presencia de ganado porcino y avícola. Poca presencia de floraciones algales.
5	Los Sauces	N 20° 18' 34" W 102° 55' 08"	Zona ubicada a las afueras del pueblo, con pocas viviendas. Presencia de floraciones algales. Frecuente cantidad de materia orgánica. Uso del agua para riego agrícola.

Fuente: Elaboración propia

Con esta información posteriormente se elaboró un mapa, en el que se delimita el área de estudio y se ubicaron los puntos de muestreo (figura 4).

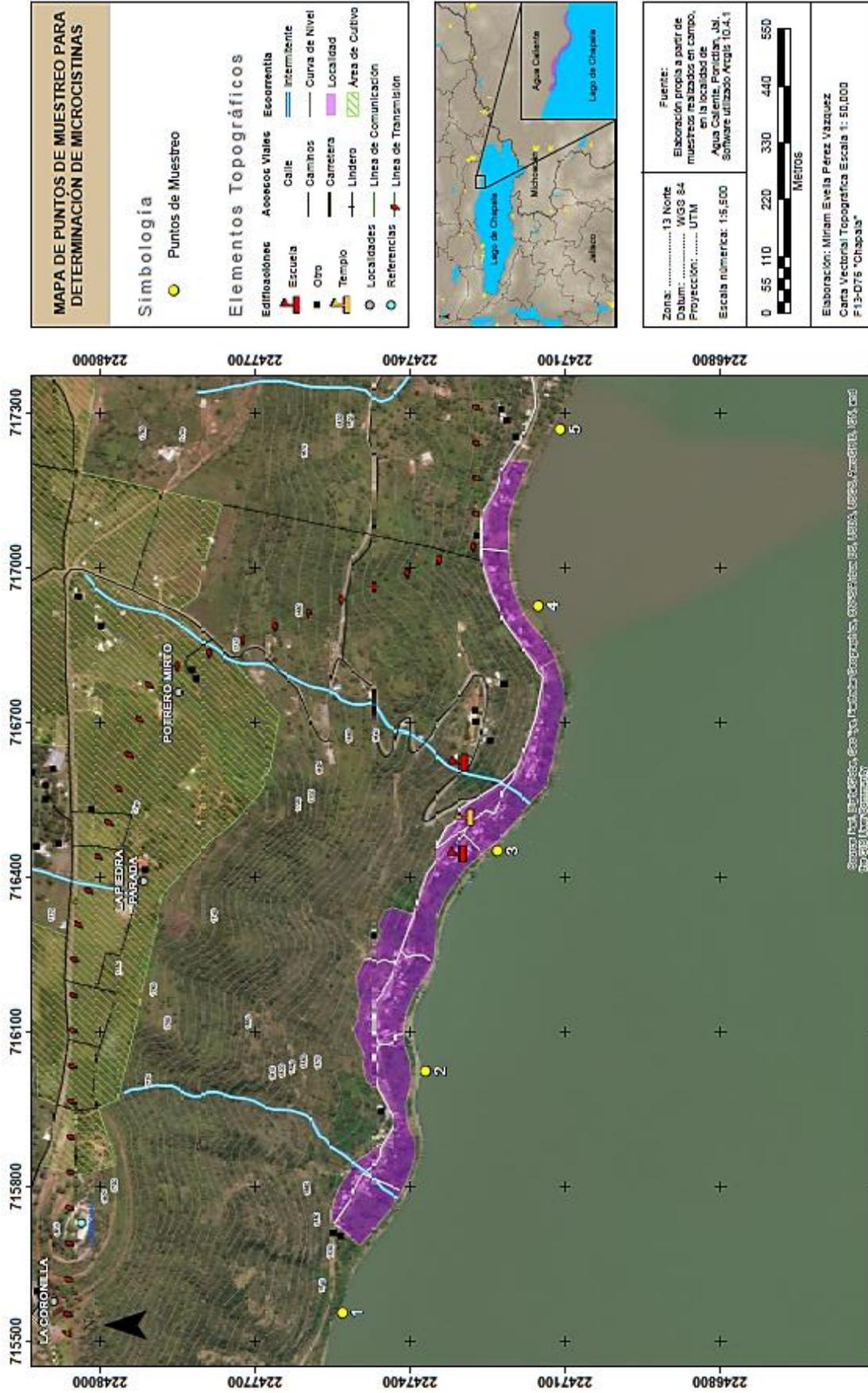


Figura 4. Mapa que muestra la ubicación de la comunidad de Agua Caliente del municipio de Poncitlán y los puntos de muestreo. Elaborado mediante el uso del sistema de información geográfica Quantum GIS®.

### 5.3.2 Toma de la muestra

El trabajo de campo comprendió la inspección del lugar, la colecta de muestras y la determinación in situ de algunas variables fisicoquímicas (FQ I) como: pH con tira reactiva marca Científica Vela Quin (CIVEQ®) con un rango de medida de 0 – 14; temperatura y oxígeno disuelto con un equipo HORIBA® modelo HB-OM-51-2 y transparencia con Disco Secchi. También se determinaron parámetros ambientales como temperatura, velocidad del viento, nubosidad, presión atmosférica, punto de evaporación, punto de rocío y humedad relativa, reunidos mediante el uso de una estación meteorológica portátil marca Kestrel K-4500® especialmente diseñada para el monitoreo medioambiental que funciona como anemómetro, termómetro, higrómetro, altímetro y barómetro. Todos los datos se registraron en el formato de hoja de campo del ANEXO I.

Para la toma de muestra se siguieron las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-230-SSA1-2002, *Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano, requisitos sanitarios que se deben cumplir de los sistemas de abastecimiento públicos y privados durante el manejo del agua. Procedimientos sanitarios para el muestreo*. Dichas muestras fueron de carácter puntual tomadas en la superficie del lago; por cada punto de muestreo se hicieron tres colectas, cada una en función de los requerimientos para su análisis:

- Determinación de microcistinas LR, YR, RR.
- Determinación de parámetros fisicoquímicos en laboratorio (FQ II).
- Identificación de la diversidad fitoplanctónica.

De igual manera se necesitaron materiales de carácter general, tales como: hojas de campo, etiquetas, marcadores indelebles, agua destilada, papel absorbente, hieleras, hielo y bolsas para desechos; además, se empleó el uso de equipos y materiales para prevenir la contaminación de las muestras, así como para disminuir el riesgo y proteger la integridad de los muestreadores, entre ellos: guantes de látex, cubre bocas, ropa apropiada, botas de campo, bata de laboratorio, botiquín de primeros auxilios, jabón y/o gel antibacterial. Cuando la colecta fue realizada en lancha se hizo uso de chalecos salvavidas.

Para la colecta y preservación de las muestras destinadas a la determinación de FQ II (nitritos, nitratos, sulfatos, color, fluoruros, turbiedad, pH, temperatura, conductividad, salinidad, sólidos disueltos totales, alcalinidad total, alcalinidad fenolftaleína, dureza total, dureza cálcica, dureza de magnesio y cloruros) se emplearon recipientes de plástico con capacidad de 4 litros (García-Velasco, 2001) y se llevaron a cabo los procedimientos señalados en el apéndice “A” de la Norma

Oficial Mexicana NOM-014-SSA1-1993 *Procedimientos sanitarios para el muestreo de agua para uso y consumo humano en sistemas de abastecimiento, públicos y privados* (Tabla 3).

Tabla 3.  
*Especificaciones para la colecta y almacenamiento de muestras destinadas a análisis fisicoquímicos.*

Parámetro	Envase	Volumen	Preservación	Almacenamiento
Alcalinidad (CaCO <sub>3</sub> )	P/V	200 ml	4 a 10 °C, En oscuridad	14 días
Cloruros (Cl <sup>-</sup> )	P/V	200 ml	4 a 10 °C, En oscuridad	48 horas
Color	P/V	100 ml	4 a 10 °C, En oscuridad	48 horas
Conductividad	NA	NA	NA	NA
Dureza (CaCO <sub>3</sub> )	P/V	100 ml	4 a 10 °C, En oscuridad	14 días
Fluoruros (F <sup>-</sup> )	P/V	300 ml	4 a 10 °C, En oscuridad	28 días
Nitratos (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	P/V	100 ml	4 a 10 °C, En oscuridad	48 horas
Nitritos (N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	P/V	100 ml	4 a 10 °C, En oscuridad	48 horas
OD	NA	NA	NA	NA
pH	NA	NA	NA	NA
Salinidad	NA	NA	NA	NA
SDT	NA	NA	NA	NA
Sulfatos (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	P/V	100 ml	4 a 10 °C, En oscuridad	28 días
Temperatura	NA	NA	NA	NA
Transparencia	NA	NA	NA	No aplica
Turbiedad	P/V	100 ml	4 a 10 °C, En oscuridad	48 horas

Donde: P/V = Plástico o Vidrio, NA = No Aplica, OD = Oxígeno Disuelto, SDT = Sólidos Disueltos Totales.  
Fuente: Recuperada y modificada del apéndice “A” de la NOM-014-SSA1-1993.

Para la toma de muestra destinada a la determinación del fitoplancton superficial (1 a 45 cm de profundidad aproximadamente) se utilizó una red de plancton con luz de malla de 45 µm, por la cual se filtró un volumen total de 100 L por punto y, el filtrado se vació en colectores de plástico de boca ancha con capacidad de 250 mL. Las muestras fueron preservadas mediante refrigeración de 4 a 10 °C en oscuridad (Mora-Navarro, et al., 2006).

Para la colecta de muestras sometidas al análisis de MCs, se siguieron las recomendaciones del Método 544 de la EPA (Shoemaker, et al., 2015); asimismo, las muestras fueron colectadas lo más cercano posible a la orilla del lago, puesto que es la zona de mayor exposición a las toxinas por

actividades recreativas. Los materiales empleados fueron botellas de cristal de boca ancha con capacidad de 1 L, preservándose en obscuridad y refrigeración de 4 a 10 °C hasta el momento de su análisis. Cabe resaltar que actualmente no hay ninguna metodología uniforme entre la literatura, referente al manejo de las muestras para la determinación de MCs (Altaner, et al., 2017).

## 5.4 Analítica del Agua

### 5.4.1 Determinación de parámetros fisicoquímicos

Los análisis fisicoquímicos del agua se llevaron a cabo en el Laboratorio de Salud Ambiental del Departamento de Ciencias Ambientales del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara, a cargo del Dr. Javier García Velasco.

Los parámetros a evaluar y los métodos analíticos utilizados para cada parámetro se presentan en la tabla 4.

Tabla 4.  
*Métodos analíticos aplicados para la determinación de los parámetros fisicoquímicos FQ II.*

<b>Parámetro</b>	<b>Unidad</b>	<b>Método de análisis</b>
Alcalinidades	mg/L CaCO <sub>3</sub>	NMX-AA-036-SCFI-2001
Cloruros	mg/L Cl <sup>-</sup>	NMX-AA-073-SCFI-2001
Color	PtCo	NMX-AA-045-SCFI-2001
Conductividad	μS/cm	NMX-AA-093-SCFI-2000
Durezas	mg/L CaCO <sub>3</sub>	NMX-AA-072-SCFI-2001
Fluoruros	mg/L F <sup>-</sup>	NMX-AA-077-SCFI-2001
Nitratos	mg/L N-NO <sub>3</sub>	NMX-AA-079-SCFI-2001
Nitritos	mg/L N-NO <sub>2</sub>	NMX-AA-099-SCFI-2006
pH	pH	NMX-AA-008-SCFI-2011
Sólidos Disueltos Totales	mg/L	NMX-AA-034-SCFI-2015
Sulfatos	mg/L SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	NMX-AA-074-SCFI-2014
Temperatura	°C	NMX-AA-007-SCFI-2013
Turbiedad	UTN	NMX-AA-038-SCFI-2001

Fuente: Elaboración propia.

Cabe señalar que en cada uno de los parámetros se determinó previamente el límite mínimo de detección (LMD), así como las pruebas correspondientes a la precisión y exactitud, de acuerdo a los lineamientos que existen para cada analito en la literatura (APHA-AWWA-WPCF, 1992).

Para la determinación de temperatura y pH se utilizó un electrodo de mesa HANNA® modelo HI2210-01; en el caso de la medición de sólidos disueltos totales, conductividad y sales se empleó un equipo LAGUA act®; para el análisis de la turbiedad del agua se usó un turbidímetro de mesa ESD® y para los análisis de nitritos, nitratos, sulfatos, fosfatos y color se trabajó con un equipo HACH DR2800®. Finalmente con los promedios de los resultados obtenidos se elaboró el ANEXO III de este documento.

#### **5.4.2 Determinación de la diversidad fitoplanctónica**

El análisis de las muestras se efectuó en el laboratorio de Salud Ambiental del CUCBA y la observación de las mismas fue inmediata, con un periodo no mayor de 24 horas posteriores a la colecta, para ello se empleó un microscopio OPTIKA®ITALY B-383PLi con objetivos 10x, 40x y 100x; los especímenes se prepararon colocando una gota de cada muestra en un portaobjeto por duplicado, de superficie y fondo del frasco.

Su observación permitió hacer estimaciones cualitativas sobre las especies más frecuentes; mediante técnicas tradicionales de descripción morfológica se examinaron las agrupaciones celulares, forma y tamaño, tipo de estructuras celulares, características de la pared celular y estructuras reproductoras (Mora-Navarro, 2001). Las determinaciones se apoyaron en claves taxonómicas y fueron comparadas con ilustraciones (fotografías o dibujos) en literatura especializada como guías, libros y bases de datos electrónicas (Prescott, 1978; Ortega, 1984; Komárek y Anagnostidis, 1986; Watanabe y Komárek, 1994; Ortega, et al., 1995; Komárkova-Legnerová y Tavera-Sierra, 1996; Lanza, et al., 2000; Mora-Navarro, et al., 2006; Cirés y Quesada, 2011; Komárek y Haver, 2013; Oliva y Garduño, 2017).

La identificación fue a nivel de género, por ser el más útil para una identificación dirigida al análisis de riesgos por toxicidad en masas de agua afectadas por cianobacterias (Cirés y Quesada, 2011); además se obtuvieron microfotografías de las muestras con una cámara OPTIKA®ITALY 4083WiFi acoplada al microscopio. Con los géneros más frecuentes se elaboró un listado y una

tabla de presencia/ausencia utilizando las denominaciones 1 y 0 respectivamente y se generó el ANEXO IV con las fotografías recabadas.

### 5.4.3 Determinación de microcistinas

Las muestras destinadas a la determinación de MCs y sus variantes LR, YR y RR se llevaron a cabo en el Laboratorio de Salud Pública, del Instituto de Salud Pública y Laboral de Navarra, en Pamplona, España, a cargo de la Dra. Inmaculada Saiz Martínez y el Dr. Javier Aldaz Berruezo.

La metodología empleada es la descrita en el Procedimiento Normalizado de Trabajo del propio laboratorio, basada en la ISO 5667-3:2012 y el método 544 de la Environmental Protection Agency (EPA) la cual señala dos procesos principales: la extracción en fase sólida (SPE) y el análisis mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS/MS).

#### *Materiales:*

- Material de uso general en el laboratorio
- Material volumétrico clase A
- Pipetas automáticas
- Cubeta para elución de Sep-Pak
- Dosificador Finntip stepper
- Membranas de filtración Millipore, para acetonitrilo y sus mezclas
- Filtros de jeringa de 13 mm con membrana PTFE 0,20 µm Tracer.
- Sep-Pak Oasis HLB 3cc
- Viales para inyector automático
- Jeringas de un solo uso de 2 mL

#### *Equipos:*

- Cromatógrafo de UPLC (ACQUITY UPLC H-Class PLUS) con bomba cuaternaria, acoplado a un detector de masas de triple cuadrupolo (MS/MS) Xevo™ TQD, marca WATERS®.
- Columna Waters ACQUITY UPLC®BEH C18 1,7 µm de diámetro de partícula, 2.1 de diámetro y 50 mm de longitud.
- Bomba de vacío
- Sistema de evaporación con corriente de nitrógeno a temperatura controlada.
- Agitador vortex multitubo.
- Campana de extracción de gases.
- Compresor de aire Atlas Copco.
- Generador de Nitrógeno Parker Domnick Hunter.

*Reactivos:*

- Agua destilada de uso general en el laboratorio
- Gas Argón
- Acetonitrilo SPS
- Ácido Fórmico PA.
- - Ácido Fórmico
- Metanol PA.
- Tiosulfato de sodio.
- - Multipatrón de Microcistinas RR-YR-LR de 50 ppm en metanol SIGMA ALDRICH 33578-1mL.

*Preparación de reactivos:*

- Ácido fórmico al 0,5% en acetonitrilo (A):

Tomar con una pipeta automática 1 mL de ácido fórmico y verter en un matraz de 200 mL. Aforar con acetonitrilo, homogeneizar y conservar a temperatura ambiente. Caducidad: es conveniente para el equipo prepararlo diariamente.

- Ácido fórmico al 0,5% en agua (B):

Tomar 1 mL de ácido fórmico con una pipeta automática y verter en un matraz aforado de 200 mL. Aforar con agua destilada, homogeneizar y conservar a temperatura ambiente. Caducidad: es conveniente para el equipo prepararlo diariamente.

- Acetonitrilo/Agua (25/75) sin aditivos (F):

Con una probeta medir 50 mL de acetonitrilo y añadirlo a un matraz aforado de 200 mL. Aforar con agua destilada, homogeneizar y conservar a temperatura ambiente. Caducidad: es conveniente para el equipo prepararlo diariamente.

- Fase móvil de redisolución (Acetonitrilo/Agua 25/75 con 0,1% Fórmico):

Añadir 25 mL de acetonitrilo a un matraz aforado de 100 mL. Posteriormente agregar 100 µL de ácido fórmico. Aforar con agua destilada, homogeneizar y conservar en refrigeración. Caducidad: 6 meses.

- Eluyentes cromatográficos:

Canal A: ACN con 0,5% HCOOH

Canal B: H2O con 0,5% HCOOH

Canal F: ACN: H2O (25/75)

*Condiciones cromatográficas:*

- Temperatura del horno de la columna:
  - 40 °C
- Temperatura del muestreador (sampler):
  - 10 °C
- Flujo: 0.5 mL/min
- Fase móvil:
  - Canal A: AcN 0.5% Fórmico
  - Canal B: Agua 0.5% Fórmico
- Gradiente:
  - Minuto 0: (30% A: 70% B)
  - Minuto 4: (60% A: 40% B)
  - Minuto 6: (30% A: 70% B)
- Tiempo de análisis: 6 minutos
- Volumen de inyección: 10 µL
- Orden de elución de los analitos: Microcistina RR, YR y LR.

*Condiciones del detector de masas*

- Fuente: ESI<sup>+</sup>
- Capilar: 2.4 Kv
- Cono: 31 V
- RF: 2.5 V
- Extractor: 3 V
- Temperatura fuente: 150 °C
- Temperatura desolvatación: 450 °C
- LM 1 resolución: 5.32
- HM 1 resolución: 15.18
- LM 2 resolución: 12.0
- - HM 2 resolución: 14.92
- Flujo de gas (N2) al cono: 80 l/h
- Flujo gas desolvatación (N2): 950 l/h
- Ion Energy 1: -0.30
- Ion Energy 2: 0.30
- MSMS Modo salida: 1
- MSMS Modo Energía Colisión: 20
- MSMS Modo entrada: 1
- Colisión cell pressure:  $4.38 \times 10^{-3}$  mBars
- Ganancia: 1
- - Collision Gas Flow (ml/min): ON

Tabla 5.

*Funciones de masas para el análisis de las microcistinas LR, YR y RR.*

	<b>Transición</b>	<b>Dwell</b>	<b>Voltaje cono</b>	<b>Energía Colisión</b>
<b><i>Función 1: ESI<sup>+</sup> monitorización MRM de 2 canales de 0.50 a 1.80 Microcistina RR</i></b>				
Tca	520.20 < 135.00	0.052	45	35
Tco	520.20 < 70.00	0.052	45	70
<b><i>Función 2: ESI<sup>+</sup> monitorización MRM de 2 canales de 1.40 a 2.50 Microcistina LR</i></b>				
Tca	996.50 < 135.20	0.052	85	90
Tco	996.50 < 86.00	0.052	85	100
<b><i>Función 3: ESI<sup>+</sup> monitorización MRM de 2 canales de 1.00 a 2.50 Microcistina YR</i></b>				
Tca	1046.50 < 135.0	0.052	95	80
Tco	1046.50 < 70.00	0.052	95	90

Dónde: Tca significa *Transición de cuantificación* y Tco indica *Transición de confirmación*.

Fuente: Recuperado del Procedimiento Normalizado de Trabajo del Laboratorio de Salud Pública de Navarra en Pamplona, España.

*Procedimiento:*

Para la elaboración de la curva de calibración se prepararon 5 diluciones a partir del multipatrón de MCs de 50 ppb con agua negativa previamente analizada; las concentraciones empleadas se presentan en la tabla 6.

Posteriormente, se llevó a cabo el proceso de extracción en fase sólida (figura 5) para el cual, las muestras estaban acondicionadas a temperatura ambiente. Ésta, es una técnica preparativa utilizada para purificar y concentrar el analito de interés en la muestra, previo a la cuantificación; el cual involucra pasar por el material de soporte del cartucho un líquido o un gas, los analitos son absorbidos en el soporte y luego eluidos de acuerdo a sus diferentes afinidades entre el material absorbente y la fase móvil utilizada (Waters, 2009 – 2010).

Tabla 6.

*Concentraciones del multipatrón de MCs, blanco y control para la elaboración de las curvas de calibración.*

	<b>Concentración del patrón (µg/L)    µl del multipatrón de 50 ppb</b>	
R0	0	0
R1	0.2	200
R2	0.4	400
R3	1.0	1000
R4	2.0	2000
R5	3.0	3000
Control	1.0	1000

Donde *R0* = blanco de reactivo (50ml de agua destilada previamente analizada), *R1 – R5* = diluciones a partir del multipatrón de MCs de 50ppb, *Control* = solución de concentración conocida con agua negativa previamente analizada.

Fuente: Instituto de Salud Pública y Laboral de Navarra.

Para el proceso de SPE, se realizó un previo acondicionamiento del cartucho Oasis HLB empleando primero 3 ml de metanol, seguido de 3 mL de agua destilada. Una vez listo el cartucho se procedió a cargar 50 ml de cada una de las muestras a flujo constante (en su cartucho correspondiente); seguido a esto, el cartucho fue lavado con 3 ml de agua (Ilustraciones 25 y 26 del ANEXO II).

Después se colocó un tubo de vidrio cónico por cada cartucho en la cubeta de elución, para enseguida eluir con 4 mL de metanol en dos fases de 2 mL cada una. Terminado este proceso, para concentrar las MCs en la solución obtenida, se llevó a sequedad en corriente de nitrógeno a 40 °C (Ilustración 27 del ANEXO II).

Una vez concluido este proceso, las muestras se reconstruyeron en 400 µL de AcN/Agua (25/75) al 0.1% en ácido fórmico y se agitaron en vortex durante 1 minuto; posteriormente se filtraron 300 µL de cada una en viales de 0.2 µm.

Finalmente se inyectó al sistema UPLC-MS/MS un volumen de 10 µL por cada muestra. Para la recuperación de los cromatogramas y tablas de resultados se empleó el programa MassLynx® (figura 6).

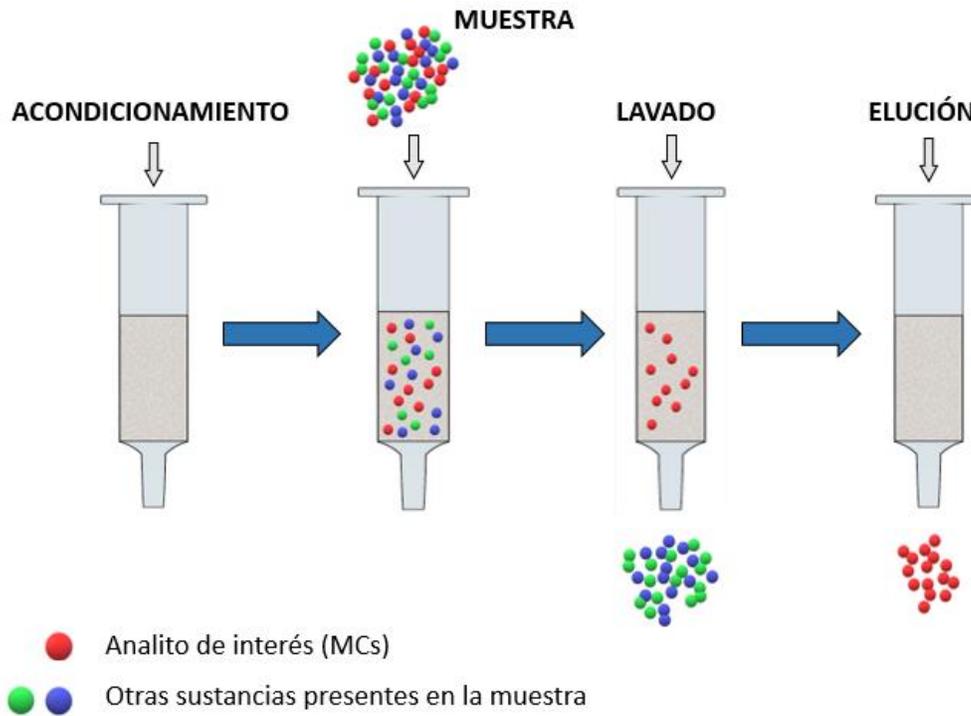


Figura 5. Diagrama que explica la Extracción en Fase Sólida.

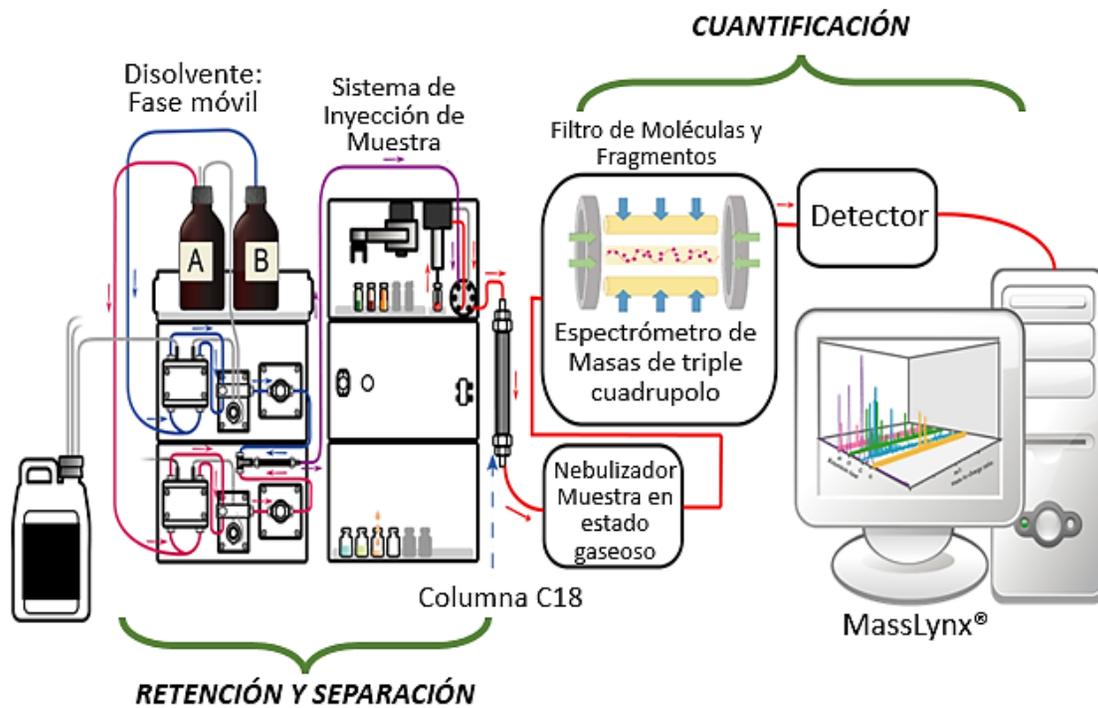


Figura 6. Diagrama que muestra el proceso simplificado y resumido de una Cromatografía de Líquidos Acoplada a Espectrometría de Masas en Tándem (UPLC-MS/MS).

## 6. RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados obtenidos mediante la aplicación de las técnicas y métodos descritos en la metodología, con la finalidad de acotar con los objetivos planteados en este trabajo.

### 6.1 Datos de Acompañamiento en Campo

Los datos recabados durante el muestreo, correspondientes a variables ambientales y parámetros fisicoquímicos del agua (FQ I) se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 7.

*Valores promedio de los datos de acompañamiento en campo por muestreo.*

Datos en Campo	Unidad	Código	Muestras				
			1	2	3	4	5
Humedad Relativa	%	UR	53.82	53.06	37.82	48.92	63.72
Nubosidad	%	NU	0	0	0	0	67
Oxígeno Disuelto	mg/L	OD	0.5	0.3	0.5	0.3	0.3
pH	pH	PH	6.9	7.0	7.5	7.8	7.9
Presión Atmosférica	mb	PA	855.34	1026.74	1024.76	1022.5	1027.18
Punto de Evaporación	°C	PE	18.14	15.38	16.06	15.64	18.96
Punto de Rocío	°C	PR	15.34	12.0	10.98	10.96	16.7
Temperatura del Agua	°C	TE	22.48	21.26	22.8	23.0	24.18
Temperatura Ambiente	°C	TA	26.26	21.14	25.0	22.86	24.08
Transparencia	cm	TS	31.0	30.0	37.0	36.0	35.0
Viento	Km/h	VI	3.0	3.02	3.66	3.8	1.5

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 7 se pueden observar los valores promedio de cada variable durante los muestreos, revelando el comportamiento temporal de los parámetros ambientales que acompañan a la toma

de muestra y los análisis en laboratorio. Asimismo se puede destacar que la temperatura del agua presentó un ligero incremento del primer al último muestreo (ANEXO III, Gráfico 35), periodo que corresponde a los meses de febrero a mayo y concuerda con el cambio de estación de invierno a primavera; sin embargo, la temperatura ambiente no tuvo este comportamiento, posiblemente debido a que en el muestreo 5 había probabilidades de lluvia, factor que también causó influencia en otros parámetros analizados.

Tabla 8.

*Valores promedio de los datos de acompañamiento en campo por sitio de muestreo.*

Datos en Campo	Unidad	Código	Puntos				
			1	2	3	4	5
Humedad Relativa	%	UR	51.30	50.36	53.18	50.66	51.84
Nubosidad	%	NU	14	17	12	14	10
Oxígeno Disuelto	mg/L	OD	0.2	0.4	0.2	0.5	0.6
pH	pH	PH	7.3	7.4	7.5	7.3	7.6
Presión Atmosférica	mb	PA	991.50	991.44	991.16	991.3	991.12
Punto de Evaporación	°C	PE	16.82	16.66	16.74	17.42	16.54
Punto de Rocío	°C	PR	13.28	13.34	12.90	13.48	12.98
Temperatura del Agua	°C	TE	21.94	23.78	22.40	23.06	22.54
Temperatura Ambiente	°C	TA	25.10	24.02	22.84	24.24	23.14
Transparencia	cm	TS	41.0	33.0	32.0	31.0	32.0
Viento	Km/h	VI	2.02	3.64	4.68	1.78	2.86

Fuente: Elaboración propia.

En esta tabla se aprecian los promedios de los datos de acompañamiento en campo obtenidos para cada punto de muestreo. Los resultados indican una constante entre cada punto, con poca variación en los parámetros de humedad relativa, pH, presión atmosférica, punto de evaporación, punto de rocío, temperatura del agua y temperatura ambiente.

## 6.2 Determinación de Variables Físicoquímicas

En esta sección, se presentan los resultados obtenidos en los análisis físicoquímicos del agua (tablas 9 y 10), las cuales contienen las variaciones temporal y espacial (muestreo/puntos) respectivamente.

Tabla 9.

*Valores promedio de las variables físicoquímicas (FQ II) por número de muestreo.*

Variable Físicoquímica	Unidad	Código	Muestras				
			1	2	3	4	5
Alcalinidad Fenolftaleína	mg/L CaCO <sub>3</sub>	AF	28.8	52.0	30.4	32.0	37.6
Alcalinidad Total	mg/L CaCO <sub>3</sub>	AT	319.2	324.8	320.0	349.6	350.4
Cloruros	mg/L Cl <sup>-</sup>	CL	55.6	60.7	61.5	69.1	67.9
Color	PtCo	COLOR	224.8	267.4	199.8	137.4	175.0
Conductividad	μS/cm	COND	836.8	831.6	451.2	887.0	878.4
Dureza Cálctica	mg/L CaCO <sub>3</sub>	DC	90.0	26.0	83.6	70.8	69.2
Dureza Magnesio	mg/L CaCO <sub>3</sub>	DM	10.4	82.0	22.0	50.4	42.0
Dureza Total	mg/L CaCO <sub>3</sub>	DT	100.4	108.0	105.6	121.2	111.2
Fluoruros	mg/L F <sup>-</sup>	FLUO	0.6	0.9	<0.05	0.8	0.7
Nitratos	mg/L N-NO <sub>3</sub>	NA	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Nitritos	mg/L N-NO <sub>2</sub>	NI	0.0142	0.0092	0.0152	0.0256	0.0002
pH	pH	PH	9.0	8.2	8.3	8.4	8.3
Salinidad	PPT	SAL	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Sólidos Disueltos Totales	mg/L	SDT	442.4	433.4	241.0	472.0	468.8
Sulfatos	mg/L SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SULF	77.6	77.0	77.0	78.4	74.0
Temperatura	°C	TEMP	19.8	20.0	21.5	22.8	22.8
Turbiedad	UTN	TURB	8.4	8.9	5.9	5.2	3.6

Fuente: Elaboración propia

La tabla 9 despliega los promedios obtenidos en cada muestreo, permitiendo un análisis del comportamiento temporal (estacional) de las variables FQ II. De igual manera, se aprecia que los valores de pH, alcalinidad de fenolftaleína, alcalinidad total, dureza, cálcica, dureza, de magnesio

y dureza total concuerdan con la naturaleza alcalina del Lago de Chapala. Asimismo los resultados para sólidos disueltos totales, color y turbiedad pueden estar relacionados al movimiento natural del agua, capaz de resuspender partículas y elevar los valores para estos parámetros; del mismo modo, la presencia de floraciones algales también juega un papel en las concentraciones obtenidas. En el ANEXO III se presentan gráficas de los valores promedio, donde se aprecian con mayor detalle variaciones con tendencias ascendentes y descendentes entre cada muestreo y sitio según la variante fisicoquímica.

Tabla 10.  
Valores promedio de las variables fisicoquímicas (FQ II) por sitio de muestreo.

Variable Fisicoquímica	Unidad	Código	Puntos				
			1	2	3	4	5
Alcalinidad Fenolftaleína	mg/L CaCO <sub>3</sub>	AF	33.6	34.4	32.8	38.4	41.6
Alcalinidad Total	mg/L CaCO <sub>3</sub>	AT	334.4	320.8	334.4	333.6	340.8
Cloruros	mg/L Cl <sup>-</sup>	CL	59.9	61.1	64.3	64.7	64.7
Color	PtCo	COLOR	182.0	214.0	204.4	190.4	213.6
Conductividad	μS/cm	COND	771.4	767.4	814.0	767.8	764.4
Dureza Cálcica	mg/L CaCO <sub>3</sub>	DC	75.2	58.4	66.4	70.0	69.6
Dureza Magnesio	mg/L CaCO <sub>3</sub>	DM	30.8	43.6	42.4	46.0	44.0
Dureza Total	mg/L CaCO <sub>3</sub>	DT	106.0	102.0	108.8	116.0	113.6
Fluoruros	mg/L F <sup>-</sup>	FLUO	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.224
Nitratos	mg/L N-NO <sub>3</sub>	NA	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Nitritos	mg/L N-NO <sub>2</sub>	NI	0.0114	0.0136	0.0224	0.0096	0.0074
pH	pH	PH	8.4	8.5	8.5	8.5	8.5
Salinidad	PPT	SAL	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Sólidos Disueltos Totales	mg/L	SDT	401.8	409.0	433.8	407.6	405.4
Sulfatos	mg/L SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SULF	77.2	75.2	77.2	78.0	76.4
Temperatura	°C	TEMP	20.5	20.4	20.3	20.3	20.5
Turbiedad	UTN	TURB	5.4	6.2	6.1	7.0	7.3

Fuente: Elaboración propia

La tabla 10 muestra los valores promedios de cada punto de muestreo, permitiendo un análisis del comportamiento espacial de las variables fisicoquímicas. De igual manera que en la tabla 9, en el ANEXO III de este documento, se presentan gráficas de los promedios para cada variante, las cuales muestran con mayor detalle las variaciones y tendencias de los datos.

Posteriormente, los resultados de las variables fisicoquímicas fueron comparados con los límites máximos permisibles de la Normativa Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 y de los Criterios Ecológicos de la Calidad del Agua (CE-CCA-001/89), para determinar si las muestras cumplían con las mismas y era apropiado su uso y consumo humano. Tras esta comparativa, se obtuvo que el 70% y 72% de los parámetros cumplieran con lo establecido en la NOM-127-SSA1-1994 y los CE-CCA-001/89 respectivamente; por lo que se procedió a graficar únicamente a aquellas variables que presentaron concentraciones cercanas a los límites permisibles, tal como se muestra a continuación.

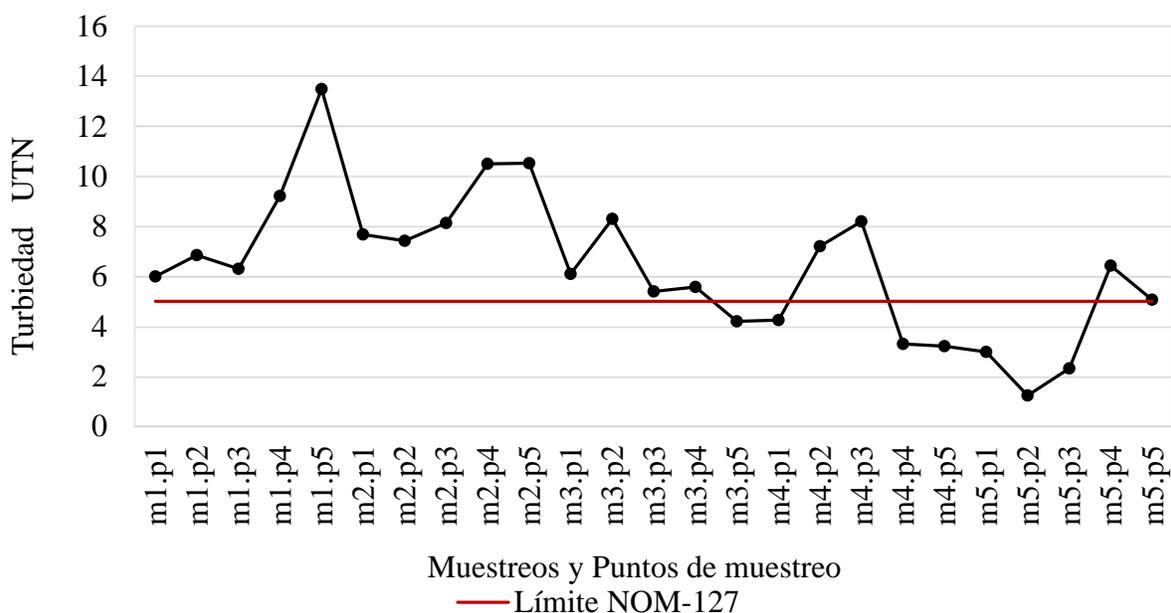


Figura 7. Resultados obtenidos para turbiedad en cada muestra y el Límite Máximo Permitido por la modificación a la NOM-127-SSA1-1994.

En la figura 7 se muestra el valor obtenido para turbiedad en UTN de cada punto de muestreo, destacándose que únicamente 28% de los puntos estuvieron por debajo del Límite Máximo Permisible de la modificación a la NOM-127-SSA1-1994.

Por otro lado, la figura siguiente muestra que, de los valores obtenidos para pH en cada punto de muestreo, el 20% rebasó el valor de 8.5 sugerido como el Límite Máximo Permissible de la modificación a la NOM-127-SSA1-1994. Del mismo modo, el 8% de los puntos superó el límite de 9.0 para pH propuesto por los CE-CCA-001/89.

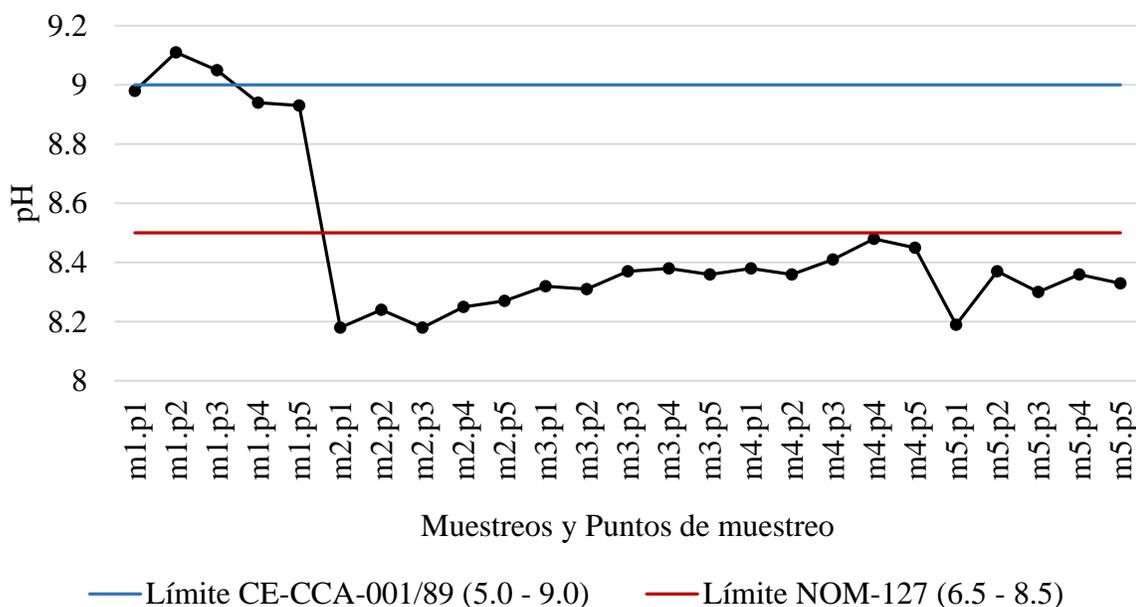


Figura 8. Resultados obtenidos en la determinación de potencial de hidrógeno (pH) en cada punto durante los 5 muestreo y los Límites Máximos Permitidos de la modificación a la NOM-127-SSA1-1994 y de los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua.

Cabe destacar, que los valores elevados para pH son una constante en el Lago de Chapala, principalmente atribuida a la naturaleza alcalina del mismo.

### 6.3 Determinación del Fitoplancton

Para la determinación del fitoplancton colectado, se realizó una observación de las muestras al microscopio; para posteriormente hacer un análisis cualitativo de presencia/ausencia empleando un sistema binario de 1 y 0 (tabla 11).

Tabla 11.

Presencia (1) y ausencia (0) de los géneros más frecuentes de microalgas observados en las muestras del Lago de Chapala en las inmediaciones del área de estudio.

Género	Número de estación				
	1	2	3	4	5
<b>Primer muestreo</b>					
<i>Microcystis</i>	1	1	1	1	1
<i>Pseudanabaena</i>	1	1	1	1	1
<i>Chlorella</i>	1	0	0	0	1
<i>Aphanizomenon</i>	1	1	1	1	1
<i>Anabaena</i>	1	0	1	1	1
<i>Staurastrum</i>	0	1	0	0	0
<i>Closterium</i>	0	1	0	0	0
<b>Segundo muestreo</b>					
<i>Microcystis</i>	1	1	1	1	1
<i>Pseudanabaena</i>	0	0	0	1	1
<i>Chlorella</i>	1	1	1	1	1
<i>Aphanizomenon</i>	1	1	0	1	1
<i>Anabaena</i>	0	1	0	1	1
<i>Staurastrum</i>	1	1	1	1	1
<i>Closterium</i>	0	1	1	1	0
<b>Tercer muestreo</b>					
<i>Microcystis</i>	1	1	1	1	1
<i>Pseudanabaena</i>	0	1	1	1	1
<i>Chlorella</i>	1	1	1	1	1
<i>Aphanizomenon</i>	1	1	1	0	1
<i>Anabaena</i>	1	0	1	0	0
<i>Staurastrum</i>	1	0	1	0	0
<i>Closterium</i>	1	1	1	1	0
<b>Cuarto muestreo</b>					
<i>Microcystis</i>	1	1	1	1	1
<i>Pseudanabaena</i>	1	1	1	1	1
<i>Chlorella</i>	1	0	0	0	0
<i>Aphanizomenon</i>	1	1	1	1	1
<i>Anabaena</i>	0	0	1	1	1
<i>Staurastrum</i>	0	1	0	1	0
<i>Closterium</i>	0	1	0	0	1
<b>Quinto muestreo</b>					
<i>Microcystis</i>	1	1	1	1	1
<i>Pseudanabaena</i>	1	1	1	1	1
<i>Chlorella</i>	0	1	0	1	1
<i>Aphanizomenon</i>	1	1	1	1	1
<i>Anabaena</i>	1	1	0	0	1
<i>Staurastrum</i>	0	1	0	1	0
<i>Closterium</i>	1	1	1	0	0

Fuente: Elaboración propia

Como se observa en la tabla anterior, el género dominante durante todos los muestreos fue *Microcystis sp.* Para corroborarlo, se elaboró una tabla de frecuencias (tabla 12), donde se destaca que *Microcystis sp.*, tuvo una presencia del 100% en los 25 muestreos; seguido de los géneros *Aphanizomenon sp.* y *Pseudanabaena sp.*

Tabla 12.  
Frecuencias de los principales géneros de microalgas observados en las muestras del Lago de Chapala.

<b>Géneros más frecuentes</b>	<b>Frecuencia Absoluta</b>	<b>Frecuencia relativa</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
<i>Microcystis sp.</i>	25	1	100
<i>Aphanizomenon sp.</i>	23	0.92	92
<i>Pseudanabaena sp.</i>	21	0.84	84
<i>Chlorella sp.</i>	17	0.68	68
<i>Anabaena sp.</i>	15	0.6	60
<i>Staurastrum sp.</i>	14	0.56	56
<i>Closterium sp.</i>	14	0.56	56

Fuente: Elaboración propia

Además, como un dato adicional, se observó que el género *Terpsinoe sp.*, perteneciente a las Baciliariophytas no se encontró previamente reportado para el Lago de Chapala en la literatura consultada.

#### **6.4 Determinación de Microcistinas LR, YR y RR**

Para la determinación de MCs fue necesaria una previa calibración del equipo mediante curvas elaboradas a partir de una solución patrón para las tres variantes (LR, YR y RR), preparada a distintas concentraciones, un blanco y un control.

Las curvas obtenidas se muestran a continuación:

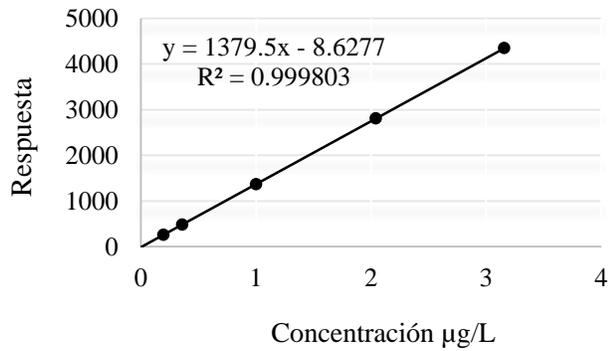


Figura 9. Curva de calibración para la cuantificación de MC-LR.

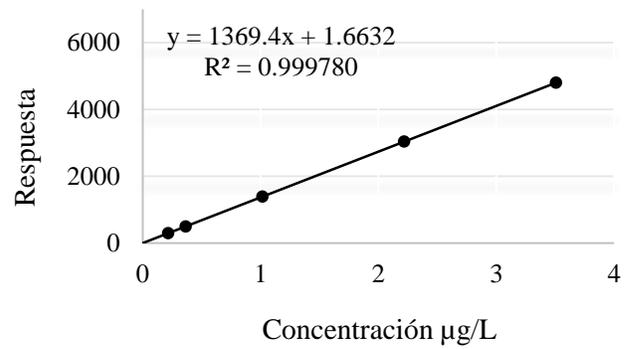


Figura 10. Curva de calibración para la cuantificación de MC-YR.

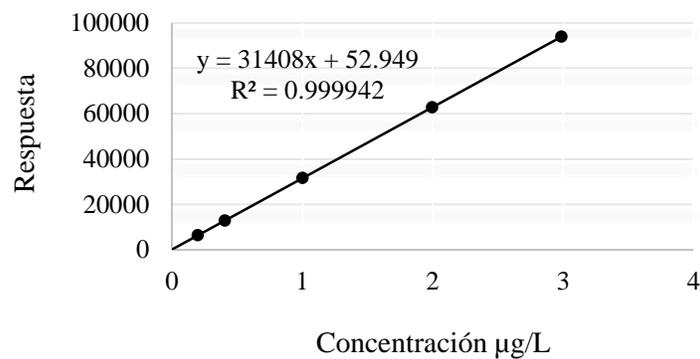


Figura 11. Curva de calibración para la cuantificación de MC-RR.

En las figuras 9, 10 y 11 se presentan las curvas de calibración elaboradas para el análisis de MCs, donde se aprecian los coeficientes de correlación obtenidos, con una cercanía significativa a 1.0, lo que garantiza la sensibilidad del equipo, precisión y exactitud de las concentraciones obtenidas para cada variante.

A continuación, se presenta la tabla 13 con los resultados cualitativos de las MCs, donde el código numérico de la fila superior representa al número de muestreo y el sitio separados por un punto, donde la primera cifra corresponde al muestreo y la segunda al sitio, por ejemplo: 3.1 (muestreo 3 punto 1).

Tabla 13.

Resultados cualitativos de las variantes de microcistinas LR, YR y RR, del total de muestras colectadas.

	Total de muestras analizadas																								
	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	4.1	4.2	4.3	4.4	4.5	5.1	5.2	5.3	5.4	5.5
MC-LR	Rojo	Naranja	Verde	Verde	Rojo	Rojo	Naranja	Naranja	Rojo	Rojo	Naranja	Rojo	Verde	Naranja	Rojo	Verde	Naranja	Rojo	Verde						
MC-RR	Rojo	Rojo	Rojo	Verde	Verde	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo
MC-YR	Rojo	Rojo	Rojo	Naranja	Naranja	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo

Donde el color *verde* representa a las muestras positivas, el color *naranja* a las muestras positivas no cuantificables ausencia y el color *rojo* a las muestras negativas de MCs.

Fuente: Elaboración propia.

Esta tabla revela que de un total de 25 muestras, el 32% de ellas fueron positivas para alguna variante de MCs (tabla 14), lo que comprueba la presencia de la toxina en el lago. Por otro lado, cabe mencionar que las muestras catalogadas como positivas no cuantificables, presentaron un pico en el cromatograma, sin embargo, no cumplieron con las especificaciones de ion ratio y tiempo de retención que el método analítico exige, por lo que no fueron consideradas como positivas en el análisis global del estudio.

Tabla 14.

Porcentajes obtenidos con base en la determinación cualitativa de MCs.

	Positivas	Positivas no Cuantificables	Negativas
MC-LR	24%	24%	52%
MC-RR	8%	0%	92%
MC-YR	0%	8%	92%

Fuente: Elaboración propia.

Posteriormente se elaboró una tabla con las concentraciones obtenidas en las muestras positivas.

Tabla 15.

Resultados cuantitativos de las muestras que presentaron valores positivos para las variantes de microcistinas LR y RR en  $\mu\text{g/L}$ .

	Puntos y número de muestreo						
	m1.p3	m1.p4	m1.p5	m4.p3	m5.p1	m5.p4	m5.p5
MC-LR	0.28	0.60	ND	0.019	0.24	0.184	0.107
MC-RR	ND	0.015	0.013	ND	ND	ND	ND

Donde  $m$  = número de muestreo,  $p$  = punto donde se tomó la muestra,  $ND$  = no detectado.

Fuente: Elaboración propia.

Esta tabla, indica que las concentraciones para MC-LR y MC-RR oscilaron en un rango de 0.60 a 0.013  $\mu\text{g/L}$ , destacando que la mayor concentración de la toxina correspondió a la variante MC-LR y se encontró en el punto 4 del primer muestreo (m1.p4). Cabe señalar que en este punto preferentemente se extraen los peces, implicando un riesgo por consumo de animales contaminados y por actividades de pesca.

### 6.5 Asociación entre Variables Físicoquímicas y MCs

Dado que la proliferación de cianobacterias en un cuerpo de agua y la producción y liberación de cianotoxinas dependen en gran medida de las condiciones ambientales y físicoquímicas del agua, se procedió a elaborar una tabla donde se recopilan los parámetros analizados con posible influencia en las concentraciones encontradas para MCs.

Tabla 16.

*Parámetros físicoquímicos y variables ambientales capaces de influenciar en la proliferación de cianobacterias y producción de cianotoxinas.*

<b>Variable</b>	<b>Unidad</b>	<b>m1.p3</b>	<b>m1.p4</b>	<b>m1.p5</b>	<b>m4.p3</b>	<b>m5.p1</b>	<b>m5.p4</b>	<b>m5.p5</b>
Nitritos	mg/L	0.016	0.017	0.008	0.07	0.002	0.000	<0.05
Nitratos	mg/L	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
pH	pH	9.05	8.94	8.93	8.41	8.19	8.36	8.33
Oxígeno Disuelto	mg/L	0.49	0.67	0.84	0.01	0.2	0.42	0.46
Temperatura	°C	24.8	25.5	26.6	20	25.8	23.4	22.2
Viento	Km/h	5	0	2.5	6.8	1.1	0	1.1
Nubosidad	%	0	0	0	0	70	70	50
MC-LR	$\mu\text{g/L}$	0.28	0.600	ND	0.019	0.24	0.184	0.107
MC-RR	$\mu\text{g/L}$	ND	0.015	0.013	ND	ND	ND	ND

Donde  $m$  = número de muestreo,  $p$  = punto donde se tomó la muestra,  $ND$  = no detectado.

Fuente: Elaboración propia.

La tabla 16, muestra las mediciones de los principales parámetros con posible influencia en la producción de florecimientos algales nocivos y MCs con base en la literatura citada (Backer, et al., 2008).

Subsiguientemente, para poder comparar las variables antes mencionadas y encontrar una asociación estadística entre ellas y las MCs, se realizaron dos pruebas: Análisis de Componentes Principales (PCA) y Cluster mediante el uso del programa PRIMER6®. En estas pruebas se trabajó únicamente con las muestras positivas para MCs y sus parámetros fisicoquímicos correspondientes: Alcalinidad total (AT), Alcalinidad de Fenolftaleína (AF), Cloruros (CL), Color, Conductividad (COND), Dureza total (DT), Dureza Cálctica (DC), Dureza de Magnesio (DM), Fluoruros (FLUO), Oxígeno Disuelto (OD), Solidos Disueltos Totales (SDT), Sulfatos (SULF), Temperatura del Agua (TEMP), Transparencia (TRANSP) y Turbiedad (TURB). Cabe resaltar que se descartó el uso de las variantes de Nitritos (NI), Nitratos (NA), pH, Viento, Nubosidad y Temperatura ambiente, por no manifestar una correlación significativa con la presencia o ausencia de MCs, lo que impedía al programa PRIMER6® incluir estas variables en los análisis.

Por otro lado, con base en los criterios del software estadístico, los datos recibieron un previo tratamiento, ya que muchas de las variables no contaban una distribución normal.

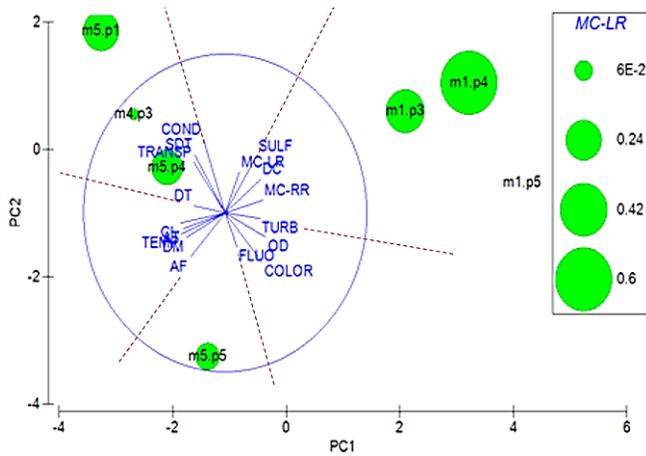


Figura 12. Análisis de Componentes Principales (PCA) de las muestras positivas a MC-LR y sus parámetros fisicoquímicos correspondiente.

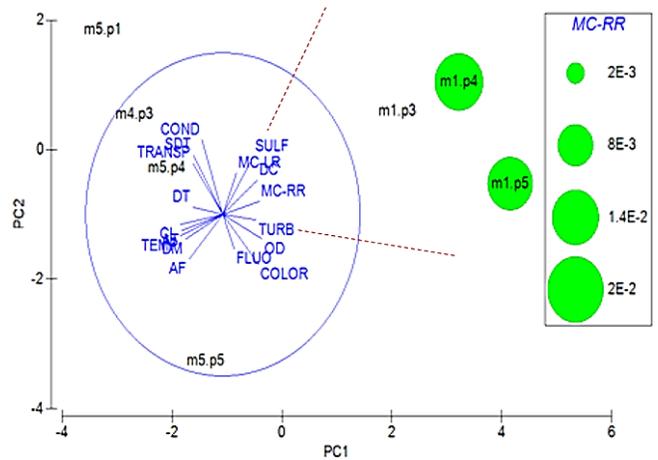


Figura 13. Análisis de Componentes Principales (PCA) de las muestras positivas a MC-RR y sus parámetros fisicoquímicos correspondientes.

Los PCA de las figuras 12 y 13 presentan un gráfico de burbujas que hace alusión a la cantidad de MCs de cada punto, es decir, que a mayor concentración de la toxina mayor es el tamaño de la burbuja. Asimismo, en estos gráficos se destaca una asociación entre las burbujas más grandes de MC-LR y MC-RR con las concentraciones de sulfatos, dureza cálcica y turbiedad.

Posteriormente, para la elaboración del Cluster, se realizó previamente una matriz de semejanza mediante distancia euclidiana (para parámetros ambientales) por recomendación del programa PRIMER6®.

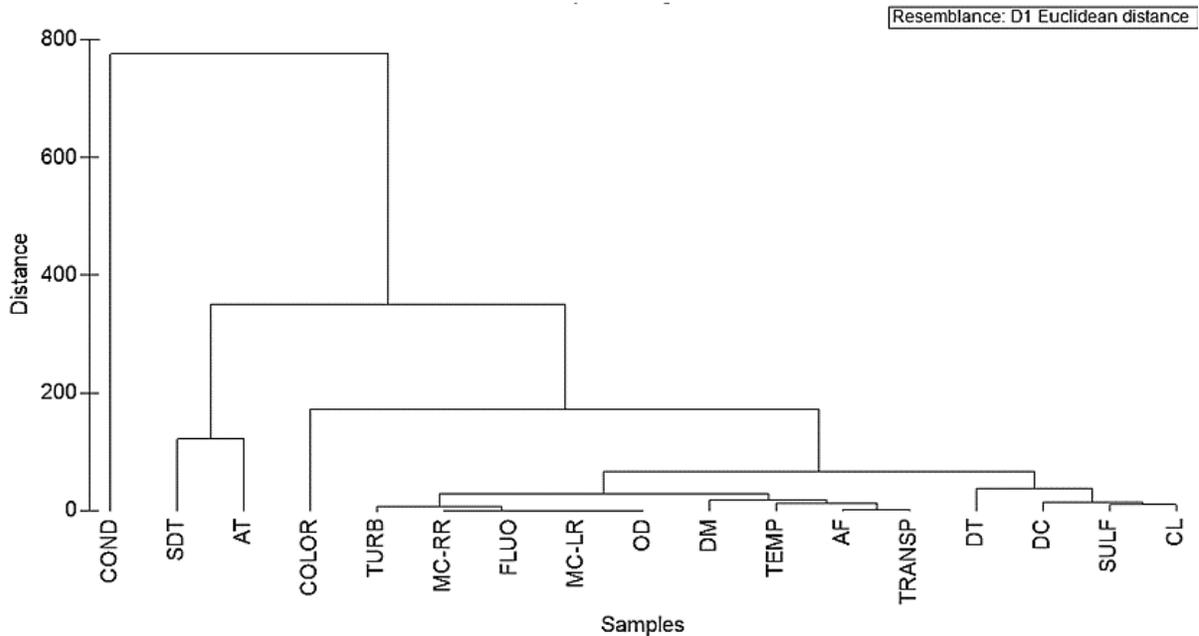


Figura 14. Cluster elaborado con los valores promedio de fisicoquímicos y las concentraciones de MCs LR y RR.

De acuerdo con la figura 14, de manera general las concentraciones de MC-LR y MC-RR mostraron una estrecha relación con las concentraciones de fluoruros y oxígeno disuelto, con los que se forma un primer conjunto; el cual a su vez, se asocia a los resultados de Turbiedad formando un segundo grupo.

## 7. DISCUSIÓN

### 7.1 Variables Fisicoquímicas y su asociación con las MCs

Durante el periodo de muestreo que comprendió este estudio (febrero a mayor del 2018), se puede afirmar que el 70% de los parámetros fisicoquímicos analizados estuvieron por debajo de los límites máximos permisibles que señala la modificación de la NOM-127-SSA1-1994; con excepción de los resultados para color (PtCo), turbiedad (UTN) y potencial de hidrógeno (pH), de los cuales se indica lo siguiente:

En los resultados obtenidos para color, el 100% de las muestras presentaron valores por encima del límite permitido de 20 PtCo, con valores que oscilaron de 82 a 286 PtCo. En lo que respecta a la turbiedad (figura 7), el 72% de las muestras estuvieron por encima del límite de 5 UTN; y en el caso de pH (figura 8), únicamente el 20% de las muestras rebasó el límite permisible de 8.5.

Respecto a los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua CE-CCA-001/89 cabe hacer mención, que ninguno de los parámetros fisicoquímicos analizados se encontraron actualmente normados para el uso recreativo de las aguas; no obstante, se compararon los resultados con los límites máximos permisibles que el documento enlista para el agua de consumo humano, de lo cual podemos resaltar que el 72% de las variables estuvieron por debajo de los límites, exceptuándose color, nitritos y pH. Para color, el 100% de las muestras rebasaron el límite de 75 PtCo, con el mismo rango de valores antes mencionado de 82 a 286 PtCo. Para nitritos, el límite máximo permisible de 0.05 mg/L fue superado por el 4% de las muestras con la concentración de 0.07 mg/L; y finalmente, el límite de 9.0 para pH fue excedido por el 8% de las muestras analizadas, tal como se muestra en la figura 8.

Sin embargo, dada la naturaleza volcánica del Lago de Chapala y las sierras de litología ígnea extrusiva básica que rodean al cuerpo hídrico, es posible explicar las concentraciones obtenidas para algunos de los parámetros fisicoquímicos como alcalinidad, dureza y pH, ya que aguas de elevada dureza (aguas duras) son por lo general alcalinas, es decir, de pH superior a 7 (Chávez-Alcántar, et al., 2011). Asimismo, el origen volcánico del lago y sus alrededores propician que la alcalinidad de éste, sea de carácter permanente, lo que favorece el crecimiento de fitoplancton tolerante a altos niveles de salinidad, tal y como ocurre con las cianobacterias (Mora-Navarro, et al., 2006). Los resultados de color, sólidos disueltos totales, turbiedad y transparencia, pueden estar ligados a la turbulencia del lago dada por su oleaje natural, el cual permite la agitación del fondo y la resuspensión de partículas, de igual manera la presencia de floraciones algales tienen influencia en estos parámetros.

Por otro lado, como se mencionó en un apartado anterior, Backer, et al. (2008) sostienen que existe una relación entre: los parámetros fisicoquímicos del agua, las condiciones ambientales y las concentraciones de MCs. En su trabajo, estos autores han vinculado la presencia de cianobacterias tóxicas con aguas cálidas y tranquilas que contienen altas concentraciones de nutrientes (ya sea nitrógeno y/o fosforo), así como de niveles relativamente altos de oxígeno

disuelto (OD), pH, temperatura ambiente (25 - 30 °C), baja acción del viento (0 - 4.8 Km/h) y cielos claros y soleados, con poca o nula nubosidad. Tales condiciones son capaces de estimular favorablemente la formación de un bloom algal con potencial tóxico.

Con base en esta información, es posible asumir que la presencia de blooms algales en la mayoría de los muestreos pudo estar limitada por las bajas concentraciones de nutrientes (nitritos y nitratos); sin embargo, las condiciones de pH, temperatura, viento y nubosidad se cumplieron, lo que demuestra que además de la naturaleza alcalina del lago, los parámetros ambientales también favorecen la producción de cianobacterias y permite advertir que, tras un aporte de nutrientes por remoción de sedimentos o lixiviado de fertilizantes, se reúnen las condiciones necesarias para la prevalencia de cianobacterias y por ende el incremento en la concentración de cianotoxinas.

Para demostrar si existe una asociación entre la presencia de MCs y los parámetros fisicoquímicos, se realizaron análisis de componentes principales (PCA), revelando que las concentraciones de MC-LR de los puntos 3 y 4 del muestreo 1, presentaron una correlación con los sulfatos, dureza cálcica y turbiedad; el punto 3 del muestreo 4 y los puntos 1 y 4 del muestreo 5, estuvieron más relacionadas con la conductividad, los sólidos disueltos totales, la transparencia y la dureza total; y finalmente las MCs del punto 5 del muestreo 5 se asociaron más con los fluoruros y la alcalinidad de fenolftaleína (figura 12). En el caso de las MC-RR, los puntos 4 y 5 del primer muestreo presentaron una correlación con las variables de turbiedad, sulfatos y dureza cálcica (figura 13). Cabe mencionar que las mayores concentraciones de MC-LR y MC-RR fueron las que tuvieron una cercanía significativa con las variables de: sulfatos, dureza cálcica y turbiedad (tabla 17); de lo que se puede discutir lo siguiente:

Tabla 17.

*Valores de Sulfatos, Dureza cálcica y Turbiedad, de las muestras con concentraciones elevadas de MC-LR y MC-RR.*

	<b>MC-LR</b> <b>µg/L</b>	<b>MC-RR</b> <b>µg/L</b>	<b>Sulfatos</b> <b>mg/L</b>	<b>Dureza Cálcica</b> <b>mg/L</b>	<b>Turbiedad</b> <b>UTN</b>
m1.p3	0.28	ND	80	82	6.3
m1.p4	0.6	0.015	80	86	9.22
m1.p5	ND	0.013	77	102	13.5

Donde *m* = número de muestreo, *p* = punto donde se tomó la muestra, *ND* = no detectado.

Fuente: Elaboración propia.

Mora-Navarro, et al., (2006) afirman que la variación en la estructura del fitoplancton y la dominancia de cianobacterias en el Lago de Chapala se encuentra en estrecha relación con las concentraciones de sulfatos y alcalinidad, debido a que suelen ser limitantes para el óptimo desarrollo del fitoplancton; es así que niveles altos de alcalinidad y niveles bajos de sulfatos permiten la proliferación de estos organismos. Por otro lado, las concentraciones de sulfatos en el lago podrían tener su origen en las descargas de aguas domésticas y agrícolas de la zona (García-Velasco 2001), poniendo en evidencia el papel de las localidades a orillas del lago como fuente excesiva de nutrientes.

De igual manera, se hizo un Análisis de Cluster mediante el uso del programa estadístico PRIMER6® (figura 14), el cual exhibe una correlación de ambas variantes de MCs con las concentraciones de fluoruros y oxígeno disuelto (tabla 18).

Tabla 18.

*Valores de Fluoruros y Oxígeno Disuelto de las muestras positivas para MC-LR y MC-RR.*

	Puntos y número de muestreo						
	m1.p3	m1.p4	m1.p5	m4.p3	m5.p1	m5.p4	m5.p5
MC-LR	0.28	0.60	ND	0.019	0.24	0.184	0.107
MC-RR	ND	0.015	0.013	ND	ND	ND	ND
Fluoruros mg/L	0.64	0.69	0.67	0.71	0.59	0.41	0.78
Oxígeno Disuelto mg/L	0.49	0.67	0.84	0.01	0.2	0.42	0.46

Donde  $m$  = número de muestreo,  $p$  = punto donde se tomó la muestra,  $ND$  = no detectado.

Fuente: Elaboración propia.

A pesar de que las concentraciones de fluoruros obtenidas en los muestreos estuvieron por debajo de los límites máximos permisibles, el consumo de éste en exceso es capaz de causar problemas de fluorosis dental y esquelética, desarrollando una mayor susceptibilidad a enfermedades renales y cáncer, así como afectación al desarrollo del cerebro humano, reduciendo, entre otros efectos, el coeficiente intelectual (IQ) de niños en edad escolar (OMS, 2004). Por otro lado se ha demostrado que las cianobacterias son más sensibles que otras microalgas a la acción del flúor, causando la muerte celular y la liberación de cianotoxinas (Bhatnagar y Bhatnagar, 2000). La presencia de fluoruros en el lago posiblemente sea de carácter natural, puesto que en yacimientos hidrotermales suele encontrarse fluorita ( $\text{CaF}_2$ ), que es el principal mineral del flúor (Wang et al., 2007) y el cual puede ser dispersado en el lago por el oleaje del mismo.

Por otro lado, para que en Chapala predominen los géneros *Aphanizomenon sp.*, y *Microcystis sp.* (Productores de MCs) son requeridos niveles bajos de oxígeno disuelto en el agua (Mora-Navarro (2001) concordando con lo encontrado en este trabajo.

## 7.2 Composición del Fitoplancton

Del total de géneros observados, el 50% correspondió a la división Cyanophyta, siendo el grupo taxonómico más abundante con los géneros: *Anabaena sp.*, *Aphanizomenon sp.*, *Coelosphaerium sp.*, *Microcystis sp.*, *Pseudanabaena sp.*, y *Woronichinia sp.*; seguido por las Chlorophytas con el 39% (*Botryococcus sp.*, *Chlorella sp.*, *Cladophora sp.*, *Closterium sp.*, *Gleocystis sp.*, *Oocystis sp.*, *Pediastrum sp.* y *Staurastrum sp.*); las Baciliarophytas con el 10% (*Rhoicosphenia sp.*, *Tabellaria sp.* y *Terpsinoe sp.*) y las Dinophytas con el 1% y el género *Ceratium sp.* Asimismo, cabe destacar que el género *Terpsinoe sp.*, de las Baciliarophytas no se encontró previamente reportado para el Lago de Chapala en la literatura consultada, lo que significa que probablemente sea la primera vez que se menciona a este género para el lago.

Esta tendencia de géneros observada durante el muestreo, también se ha presentado en distintas partes del mundo; tal es el caso de los lagos Arancio y Rosamaría en Italia, donde se registraron frecuencias para Cyanophytas y Chlorophytas del 56% y 46% respectivamente (Neselli-Flores y Barone, 2000) y donde las especies del género *Microcystis sp.*, fueron las más abundantes.

Según Oliva-Martínez, et al. (2008) la dominancia de las Cyanophytas en la composición del fitoplancton, denota las condiciones de eutrofia en las que se encuentra el lago. Aunado a esto, Mora-Navarro, et al. (2006) sugieren que la mayor actividad humana en el Este del Lago de Chapala, así como la desembocadura del río Lerma, son las principales limitantes de la diversidad de géneros en el fitoplancton, puesto que las condiciones que se generan permiten la sucesión de Chlorophytas por Cyanophytas (Kalfy y Knoechel, 1978).

Dentro de los componentes del fitoplancton colectado, se encontraron 4 géneros predominantes, los cuales fueron: *Microcystis sp.*, con una frecuencia del 100%, seguido por *Aphanizomenon sp.*, con 92%, *Pseudanabaena sp.*, con 84% y *Chlorella sp.*, con 68%. Seguidos por los géneros *Anabaena sp.*, con 60%, *Staurastrum sp.*, y *Closterium sp.*, con 56% cada uno (Tabla 12); coincidiendo con lo reportado por Magrann, et al., (2015) y Howard, et al., (2017) quienes tras la

evaluación de lagos, pantanos y lagunas costeras, encontraron que *Microcystis sp.*, fue dominante en el 96% de los sitios.

Es importante señalar que los géneros más frecuentes encontrados corresponden a las Cyanophytas reconocidas por su potencial tóxico; siendo *Microcystis sp.*, el principal productor de las MCs, seguido por los géneros *Aphanizomenon sp.*, *Pseudanabaena sp.*, *Anabaena sp.*, *Woronichinia sp.*, y *Coelosphaerium sp.*, los cuales también son potenciales productores de otras toxinas como las anatoxinas, cilindrospermopsinas y saxitoxinas (Cirés y Quesada, 2011 y Almanza, et al., 2016). Además, estas cianobacterias son las más comunes en cuerpos de agua eutrofizados (Martínez, 2006; Ardanaz, 2010 y Ruiz, et al., 2010) y han sido registradas en numerosos estudios de masas de agua en condiciones similares, como es el caso del lago hiper-eutrófico de Texcoco, donde distintas especies de *Microcystis sp.*, presentaron elevadas densidades que formaban natas conspicuas en los cuerpos de agua analizados (Oliva-Martínez, et al., 2008).

Para algunos autores como Stewart, et al. (2006a), Vergara, et al. (2013), Gkelis y Zaoutsos, (2014) y Sabart, et al. (2015) la presencia de cianobacterias de los géneros *Microcystis sp.*, y *Anabaena sp.*, representan el principal problema de salud pública en relación con la exposición a agua contaminada por MCs, provocando afecciones en hígado, riñón, pulmones y cerebro.

En México Tavera et al. (2000) y Komárek y Komárková-Legnerová (2002a) han reportado hallazgos de *Microcystis sp.*, en el Lago Cuitzeo en Michoacán y en los canales de Xochimilco. Las especies de este género, en particular *M. flos-aquae* y *M. aeruginosa* han sido registradas también por Komárek (1991) para el Lago Yogo en Japón y por Sant'Anna y Acevedo (2000), Komárek y Komárková-Legnerová (2002b) y Sant'Anna et al. (2004) para distintos lagos eutróficos en Sao Paulo, Brasil.

Por otro lado, la frecuencia de géneros dominantes en este estudio, también coincidió con la de los cuerpos de agua eutróficos analizados en los trabajos de Backer, et al. (2008); Saqrane y Oudra (2009); Giannuzzi, et al. (2011b); Schmidt, et al. (2013); Su, et al. (2015); Trainer y Hardy (2015); Jia, et al. (2016); Cantoral-Uriza, et al. (2017); Menezes, et al. (2017); Kleinteich, et al. (2018) y Turner, et al. (2018), en los cuales se demuestra que la composición de la comunidad estaba dominada por *Microcystis sp.*, *Aphanizomenon sp.* y *Anabaena sp.*, la cual se asocia con las concentraciones de MCs encontrada.

Cabe señalar que debido a la dominancia de *Microcystis sp.* en la mayoría de las aguas continentales del planeta, las MCs han sido el foco de atención para la mayoría de los estudios de cianobacterias tóxicas en floraciones algales (EPA, 2009; Fetscher, et al. 2015 y Magrann, et al. 2015); por ello, el predominio de cianobacterias y la detección de MCs en el agua del Lago de Chapala en el área de estudio, sugiere que la caracterización y detección de estos organismos y las toxinas que producen, deban ser incluidos en los programas de vigilancia de rutina y sistemática de este cuerpo de agua, dada su importancia para la población y el país.

### 7.3 Microcistinas LR, YR y RR

Siendo que los resultados obtenidos demuestran la ausencia de MC-YR, se procedió a trabajar únicamente con los valores para MC-LR y MC-RR, elaborándose una comparativa con las concentraciones de MCs reportadas en la literatura internacional (figura 15).

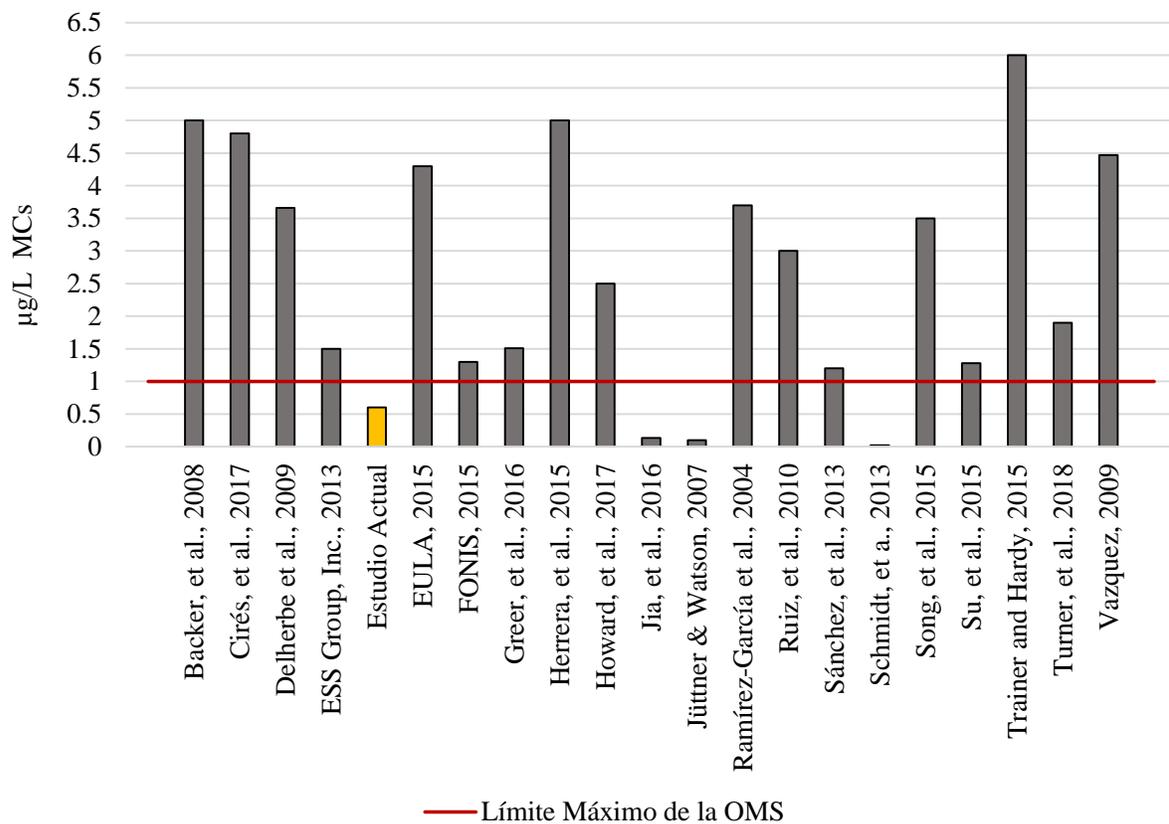


Figura 15. Concentraciones de MCs totales en la literatura internacional, durante el estudio de cuerpos de agua eutrofizados, mediante los análisis de HPLC y LC/MS-MS.

El gráfico anterior, muestra una comparación de los resultados de esta investigación contra algunos valores reportados en la literatura internacional, evidenciando que las concentraciones de MCs en el área de estudio son inferiores al valor guía provisional de 1.0 µg/L para MC-LR en agua potable propuesto por la OMS.

Según esta información, las concentraciones de MCs encontradas en Agua Caliente se consideran bajas, por ser inferiores al valor guía provisional de 1.0 µg/L MC-LR en agua propuestos por la OMS (1998a y 1998b), ya que los resultados oscilaron en un rango de 0.6 a 0.013 µg/L de MC-LR y MC-RR (tabla 15). Con base en esto y siguiendo la guía para medir la probabilidad relativa de efectos agudos para la salud de la OMS (tabla 19), podemos asumir que la población de la zona de estudio se encuentra aparentemente exenta de padecer una intoxicación aguda por el uso del agua del Lago de Chapala.

Tabla 19.

*Valores guía de la OMS para la probabilidad Relativa de Efectos Agudos para la Salud, durante la exposición a cianobacterias y MC-LR en aguas destinadas para el consumo humano y recreación.*

<b>Probabilidad Relativa de Efectos Agudos a la Salud</b>	<b>Cianobacterias (células/ml)</b>	<b>MC-LR (µg/L)</b>	<b>Clorofila <math>\alpha</math> (µg/L)</b>
Baja	<20,000	<10	<10
Moderada	20,000 – 100,000	10 – 20	10 – 50
Alta	100,000 – 10,000,000	20 – 2,000	50 – 5,000
Muy Alta	>10,000,000	>2,000	>5,000

Fuente: Chorus y Bartram, 1999.

No obstante, tal predicción del riesgo por la OMS (además de excluir otras variantes de MCs como MC-RR), sólo hace referencia a los efectos agudos sobre la salud, sin contemplar los efectos crónicos de carácter genotóxico, mutagénico y teratogénico, que pueden suscitarse mediante una exposición prolongada a bajas concentraciones de la toxina, durante largos periodos de tiempo.

Cabe resaltar, que los niveles crónicos y subcrónicos de MCs en agua de bebida y baño son poco contemplados en las normativas, además de ser muy escasos los estudios sobre los efectos genotóxicos; por ello, autores como Vergara, et al., (2013) consideran que la actividad promotora tumoral de la MCs debe ser de primera preocupación, ya que representa una problemática compleja que ha de ser incluida en los programas de monitoreo de la calidad del agua.

A causa del peligro que implica la presencia de MCs en el recurso hídrico, muchos países e instituciones han adoptado el límite máximo recomendado por la OMS (Brooks, et al., 2016 y 2017); sin embargo, autores como Wiegand, et al. (2000), Moreno, et al. (2003), Pérez, et al. (2008), Trevino-Garrison, et al. (2015) y Moy, et al. (2016) consideran que las cianotoxinas son el riesgo más importantes asociado al agua y afirman que un valor guía único no es apropiado, debido a que aún se desconoce mucho de la toxina; por ello proponen un valor de 0.01 µg/L, que contempla los riesgos por una exposición crónica. Del mismo modo, investigadores como Braga, (2018) y Stone, (2018) han optado por sugerir un valor límite de 0.5 µg/L para MC-LR o de 1.0 µg/L para MCs totales. Por lo que, sí se consideran estas propuestas, los resultados obtenidos en el agua del Lago de Chapala para MC-LR (0.60 µg/L) superan estos límites, alertando de una posible exposición crónica para toda la población usuaria del recurso. Sin embargo, son necesarios trabajos a largo plazo que lo demuestren.

Por otro lado, estos mismos autores recomiendan que se debe definir una serie de valores guía asociados con la severidad y problemática elevada de los efectos sobre la salud; puesto que la solución de éste requiere acciones integradas en tres aspectos fundamentales: investigación, soluciones técnicas y gestión adecuada del recurso hídrico Pérez, et al. (2008). Además, ha contemplarse que el riesgo aumenta cuando la persona expuesta padece lesiones renales (OMS, 1998a y 1998b), siendo este último el estado actual de la población infantil en el área de estudio.

Dada la problemática que representan las MCs, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos ha publicado su propuesta de los umbrales de aviso para cianotoxinas en el agua de uso recreativo (EPA, 2015a; 2015b; 2016); sin embargo, al igual que los límites de la OMS, estos umbrales previenen solamente del riesgo agudo (tabla 20).

Tabla 20.  
*Valores límite sugeridos por la EPA para MCs en aguas recreativas.*

<b>Grupo vulnerable</b>	<b>Concentración de MCs</b>
Niños en edad preescolar y de menor edad (menores de 6 años)	0.3 µg/L
Niños en edad escolar (más de 6 años)	1.6 µg/L

Fuente: Recuperado y modificado de (EPA, 2016).

Cabe destacar que en este estudio, la mayoría de los resultados correspondieron a la variante de MC-LR, lo cual puede deberse a que el género de cianobacteria más frecuente y abundante en todos los puntos y muestreos fue *Microcystis sp.* Este mismo patrón se encontró en los trabajos de Kuiper-Goodman, et al. (1999), Amé, et al. (2003), Amé, et al. (2010) y Giannuzzi, et al. (2011a), quienes reportaron que siempre que en una muestra se observaban las especies *M. wesenbergii* y *M. aeruginosa*, los resultados indicaban altos niveles de MC-LR. Aunado a esto, Howard, et al. (2017) explica que la presencia de distintas variantes de MCs en una misma masa de agua, puede deberse principalmente a la composición de múltiples especies de cianobacterias en el fitoplancton.

Por otro lado, en este estudio los muestreos 1 y 5 fueron los que albergaron una mayor cantidad de puntos con valores positivos para MCs, además de ser también las temporadas en las que se observaron blooms algales muy evidentes; a pesar de esta correlación, de manera contraria algunos autores reportan que las concentraciones de MCs en el agua no son directamente proporcionales a la floración algal, puesto que es más probable encontrar altas concentraciones de la toxina en el agua cuando el evento ha pasado. Igualmente, señalan que la capacidad de persistencia de las MCs en el medio, permite su determinación aún sin la presencia de una floración notoria de cianobacterias (Howard, et al., 2017). Asimismo, las temporadas o estaciones del año en las que existe una mayor probabilidad de encontrar altas concentraciones de MCs aún no están bien establecidas. Algunos investigadores han expresado que esta afinidad está en función de las latitudes del mundo donde se han realizado los análisis, involucrando condiciones climáticas y el aporte de nutrientes que favorecen la producción de cianobacterias tóxicas. Por ejemplo, Lehman, et al. (2008) y Moisander, et al. (2009), afirman que en sus estudios verano y otoño fueron las temporadas identificadas como las más propicias; por otro lado los trabajos de Pérez, et al. (2008) manifiestan que en primavera y verano se reúnen las condiciones favorables para la producción de MCs. En México, son limitados los trabajos capaces de definir las temporadas del año favorables para la productividad de cianotoxinas.

Otra de las cuestiones importantes a esclarecer, es que la contaminación por MCs no es aislada, puesto que trabajos como los de Chen, et al. (1993), Miller, et al. (2010), Preece, et al. (2015), Gible, et al. (2016), Tatters, et al. (2017), comprueban que las MCs producidas en cuerpos lénticos de agua dulce han mostrado causar efectos aguas abajo de su origen biológico, detectándose concentraciones peligrosas de MCs en aguas receptoras y marinas donde no se han

reportado florecimientos algales. Estos estudios ponen en evidencia el papel de los ríos como conductores de las MCs y que el transporte aguas abajo de éstas es un problema persistente y frecuente en las cuencas. Considerando esta información, es factible asumir que el riesgo de intoxicación crónica por MCs se extiende a otras partes de la República Mexicana; y dada la importancia del Lago de Chapala y su cuenca hidrológica, se vuelve necesario el desarrollo de investigaciones en temas de producción, transporte, persistencia y desinfección natural de estas toxinas en los cuerpos de agua del país.

#### **7.4 Estimación del Riesgo Potencial para la Población Expuesta**

Autores como Stotts, et al. (1997), Solter, et al. (1998), Chorus y Bartram (1999), Falconer (1999), Nobre, et al. (1999), Carmichael (2001), Ito, et al. (2000 y 2001) y Soares, et al. (2007), reportan que el principal riesgo de exposición a las microcistinas es el daño que éstas causan al hígado; sin embargo, también señalan que las MCs son capaces de afectar a otros órganos, tales como el riñón y los pulmones.

Estudios de caso como los de Giannuzzi, et al., (2011b), demuestran que, a partir de una sola exposición accidental por contacto, ingesta e inhalación de una intensa floración de cianobacterias, un joven sano es capaz de presentar daño renal. Por otro lado, los trabajos en laboratorio de Milutinovic, et al., (2013) han encontrado que después de tratar a ratas cada 2 días durante 8 meses con MC-LR y MC-YR en dosis relativamente bajas (10 mg/kg vía IP) y tras una revisión histopatológica, se reveló que los riñones expuestos a MC-LR fueron significativamente más afectados que el hígado; lo que indica una posible adaptación del hígado a la exposición crónica de las MCs; situación que pudiera presentarse en la zona de estudio.

Sin embargo, a pesar de las investigaciones que demuestran el daño renal que causan las MCs, aún son necesarios estudios que demuestren que éstas, son una de las causas que provocan la insuficiencia renal en el poblado de Agua Caliente, dada la previa disposición de la población y el grado de vulnerabilidad que la OMS (1999) atribuye a los pacientes con este padecimiento. Además, se debe de considerar que el daño renal y hepático no es unicausal y que en la zona de estudio se presentan diferentes mecanismo de exposición que pueden enmascarar, sinergizar o potenciar los efectos tóxicos por MCs, ya sean por los usos que los pobladores hacen del agua del lago, tales como domestico, recreacional y agrícola (ANEXO II), así como factores determinantes tales como desnutrición, exposición a plaguicidas y alcoholismo.

#### 7.4.1 Factor de riesgo presente por actividad agrícola

Autores como Chorus y Bartram, (1999) y Backer, et al., (2008) mencionan que debido a las condiciones de viento y oleaje que empujan el agua hacia tierra, se propicia una acumulación de floraciones algales en o cerca de la orilla de lagos y bahías. Este fenómeno de acumulación de floraciones algales nocivas, se correlaciona con los tres niveles de riesgo por exposición sugeridos por Ruiz, et al., (2010), donde el nivel de *riesgo moderado*: tiene lugar cuando la acumulación de células del fitoplancton, es en los primeros 4 metros de profundidad en el cuerpo de agua; el nivel de *riesgo alto*: es cuando la acumulación del fitoplancton ocurre en la superficie del cuerpo de agua, formando una película de 4 cm de profundidad; y el nivel de *riesgo muy alto*: ocurre cuando la acumulación del fitoplancton, forma en el agua una película menor a 4 cm de profundidad y ésta, es cargada hacia una orilla por acción del viento, permitiendo que las células se fijen a las rocas, liberando las toxinas por acción de la desecación y aumentando su concentración en el cuerpo hídrico.

Tal situación de oleaje y acumulación del fitoplancton pudo ser observado en la ribera del lago en las inmisiones de Agua Caliente, representando para la población un nivel de riesgo muy alto de exposición a las cianotoxinas. Por otro lado, cabe señalar que una de las actividades económicas de la comunidad es el cultivo y venta de Chayotes (*Sechium edule*), los cuales son regados con agua de la orilla del mismo.

A pesar de que en varios países se han llevado a cabo estudios sobre los riesgos sanitarios derivados del uso de aguas contaminadas con cianotoxinas, los análisis del agua destinada al riego, aún no han sido considerados dentro de ningún programa de control oficial de la calidad (Saqrane y Oudra, 2009); evitando que la contaminación de las plantas comestibles con MCs sea considerada como un riesgo para la salud humana (Codd, 2000). En consecuencia, estudios han sido destinados a demostrar que el riego agrícola con agua que contiene MCs, puede ser una amenaza para la calidad y rendimiento de las plantas; además, puesto que se ha confirmado la capacidad de bioacumulación de las cianotoxinas en los tejidos vegetales, autores como Peuthert, et al. (2007); Crush, et al. (2008) y Saqrane, et al. (2009) sugieren que las plantas constituyen una vía para la introducción de las MCs a la cadena alimentaria humana, representando un problema de salud pública.

Asimismo, Kurki-Helasma y Meriluoto (1998), Codd, et al. (1999), McElhiney, et al. (2001), Gehringer, et al. (2003), Chen, et al. (2004) y Pflugmacher, et al. (2006) han expuesto que las

plantas terrestres son capaces de acumular MCs en concentraciones suficientes como para inducir cambios morfológicos y fisiológicos en las plantas; y manifiestan que la captación de las toxinas liberadas en el agua podría ocurrir a través del riego cuando se usa agua superficial que contiene cianobacterias, principalmente del género *Microcystis sp.*; además, mencionan que se vuelve difícil la eliminación de las células de cianobacterias mediante el lavado con agua de los alimentos, provocando que las toxinas dentro de las células también sean ingeridas. Por otro lado, Chen, et al. (2004) y Järvenpää, et al. (2007) afirman que diferentes especies de plantas, acumulan las MCs en cantidades y velocidades distintas; lo que permite cuestionar sobre la cantidad de MCs albergada en los cultivos que la comunidad de Agua Caliente produce para venta y consumo, siendo necesarias investigaciones al respecto.

#### **7.4.2 Factor de riesgo presente por actividad pecuaria**

La capacidad de las MCs para moverse en la cadena alimenticia también genera un riesgo sanitario para los animales, tanto de compañía como de vida silvestre y producción, causando problemas para la pesca, acuicultura y ganadería, provocando enfermedad, mortandad y pérdidas económicas; además de implicar, que la comida destinada al consumo humano pueda llegar a albergar concentraciones de MCs capaces de superar los límites tolerables recomendados (Bouaïcha y Maatouk, 2004; Backer, et al. 2009; Saqrane y Oudra, 2009; Wood, et al. 2010; Jia, et al. 2016 y Howard, et al. 2017).

En el poblado de Agua Caliente es común observar la cría de cerdos y gallinas, los cuales se encuentran libres cerca de los cultivos de chayote y de la ribera del lago; estando en contacto frecuente con las cianobacterias y cianotoxinas, ya que el lago se identifica como su principal fuente de agua. De igual manera, la fauna acuática resulta directamente afectada por las MCs, provocando muertes masivas principalmente de peces; tal como se ha reportado en distintas partes del mundo como Inglaterra, Brasil y Sudáfrica (Fitzgeorge, et al. 1994; Ward, et al. 1997; Harding y Paxton, 2001; Metcalf, et al. 2001; Azevedo, et al. 2002 y Elbert, et al. 2012). Asimismo, trabajos como los de Wiegand y Pflugmacher (2005), Stewart, et al. (2006b), Nasri, et al. (2008), Ferrão-Filho y Kozlowsky-Suzuki (2011) y Sotton, et al. (2014), confirman que las MCs son capaces de acumularse en invertebrados y vertebrados acuáticos, ocasionando que el consumo de éstos tenga consecuencias importantes sobre la salud humana.

Cabe resaltar que la actividad pesquera de la comunidad, expone a los individuos que la practican a concentraciones crónicas de MCs por vía dérmica y respiratoria, como lo comprueban Ottem, et al. (2012) y Chen, et al. (2009), quienes reportan el hallazgo de MCs en el suero de la sangre de pescadores en China, además de daño hepático y renal tras una constante exposición a agua y a productos acuáticos contaminados. Por ello, desde el punto de vista de salud, Saqrane, et al. (2009) y Saqrane y Oudra, (2009) recomiendan que se debe prestar especial interés a temas como la acumulación de MCs en plantas y animales, así como llevar un seguimiento de la calidad del agua potable y de riego.

### **7.4.3 Factor de riesgo presente por actividades recreativas**

Diversos estudios sugieren que, las principales vías de exposición a las MCs ocurren mediante la ingesta de agua con floraciones, el contacto a través del baño o por consumo de alimentos contaminados (Howard, et al., 2017 y Turner, et al., 2018), siendo el uso recreacional de las aguas la ruta de exposición más importante y de principal preocupación para la salud pública, dado que el ingreso de las toxinas puede llevarse a cabo por vía digestiva, pulmonar y dérmica (Almanza, et al., 2016).

Con base en lo anterior, investigadores como Giannuzzi, et al., (2011b) han descrito las enfermedades asociadas a la exposición aguda por recreo, concluyendo que los síntomas más frecuentemente reportados son fiebre y enfermedades gastrointestinales, seguidos por dolores de cabeza, dolores musculares y neumonía. Estos mismos síntomas se han informado en EE.UU., Zimbabwe, Brasil, Australia, Canadá y Suiza, donde predominaron especies de *Microcystis sp.*, y *Anabaena sp.*, en los eventos de floraciones algales (Kuiper-Goodman, et al., 1999). Sin embargo, aún se desconoce con precisión la sintomatología que un paciente expuesto pueda presentar, ya que depende de muchos factores, tales como las condiciones de salud previas, así como la intensidad y composición de las floraciones (Chorus y Bartram, 1999). Lo que pone en evidencia la necesidad de contar con estudios que demuestren si los pobladores de Agua Caliente, han presentado alguna sintomatología atribuible a la intoxicación por MCs tras el uso recreacional de las aguas.

Por otro lado, si se consideran los resultados obtenidos en las muestras positivas no cuantificables (tabla 21), es factible asumir un riesgo latente por intoxicación en el área de estudio, principalmente atribuido a las actividades recreativas. Tal afirmación se sustenta con las

concentraciones obtenidas para el sitio de muestreo número 2 el cual presentó valores de MC-LR de 0.007, 0.019 y 0.23  $\mu\text{g/L}$  en tres de los cinco muestreos. Asimismo, cabe destacar que este lugar es de uso preferencial para el baño y recreación dada la presencia de aguas termales; aunado a esto, la temperatura del agua permite un incremento en la acción metabólica del fitoplancton, lo que favorece la reproducción y dominancia de cianofíceas, así como la ruptura celular y liberación de toxinas.

Tabla 21.

*Resultados cuantitativos de MCs en  $\mu\text{g/L}$  de las muestras positivas no cuantificables de acuerdo a la seguridad del método utilizado.*

	Puntos y número de muestreo							
	m1.p2	m1.p4	m1.p5	m2.p2	m2.p3	m3.p1	m4.p4	m5.p2
MC-LR	0.23	ND	ND	0.007	0.008	0.012	0.02	0.019
MC-YR	ND	0.027	0.03	ND	ND	ND	ND	ND

Donde  $m$  = número de muestreo,  $p$  = punto donde se tomó la muestra,  $ND$  = no detectado.

Fuente: Elaboración propia.

Por otro lado, debido a que numerosos casos fatales por cianotoxinas han sido atribuidos a la exposición de niveles peligrosos de éstas en el agua (Almanza, et al., 2016) se han realizado muchos estudios en modelos de laboratorio sobre los daños hepático y renal que producen; logrando evidenciar el peligro por la ingesta repetida de MCs, durante el uso recreacional de agua con altas densidades de cianobacterias. De igual manera, estos trabajos han demostrado que cuando los niveles de las toxinas son bajos, el daño hepático es subagudo y probablemente pase desapercibido, ya que los signos recién se hacen evidentes cuando el cuadro es severo; lo que podría justificar las escasas evidencias de daño hepático cuando la exposición es crónica, sin embargo, cuando la población no está informada, el riesgo por un daño acumulativo de MCs aumenta (Andrinolo, et al., 2008 y Lance, et al., 2010)

Con base en la literatura consultada, en la comunidad de Agua Caliente se reconoce a las actividades recreativas como el principal factor de riesgo de intoxicación por MCs, dado que la población infantil es la primera en realizar esta actividad con poco o nulo criterio de selección del agua; aunado a esto, la acumulación de florecimientos algales nocivos en la orilla del lago aumenta el peligro por exposición a las toxinas, lo que facilita el ingreso de éstas al organismo por vía oral, dérmica y respiratoria. A estas condiciones, se unen la problemática de insuficiencia renal infantil

y el desconocimiento de la toxicidad de las MCs; donde el primero de ellos, denota la importancia del estudio, puesto que los elevados índices de este padecimiento los predispone como un grupo altamente vulnerable a la toxina y convierte al poblado en una zona crítica para el estudio de la problemática y por consiguiente su remediación. De igual manera, el desconocimiento de las MCs ha impedido que éstas sean tomadas en cuenta al momento de elucidar posibles causas y factores de riesgo del padecimiento renal en la comunidad, por lo que se debe reconocer a los contaminantes emergentes en nuestro país, como factores a considerar en las posibles causas de daño hepático y renal.

## 8. CONCLUSIONES

A continuación, para acotar con los objetivos planteados se presentan los siguientes resultados y conclusiones:

El 70% de los parámetros fisicoquímicos analizados estuvieron por debajo de los límites máximos permisibles que señala la modificación a la NOM-127-SSA1-1994, con excepción de los resultados para color, turbiedad y pH; de igual manera, el 72 % de los parámetros fisicoquímicos normados cumplieron con los límites máximos permisibles de los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua CE-CCA-001/89, con excepción de color, nitritos y pH. Cabe mencionar que las concentraciones elevadas obtenidas para algunos parámetros como pH, concuerdan con la naturaleza volcánica del Lago de Chapala.

La composición del fitoplancton del lago en las inmediaciones de Agua Caliente, exhibe una dominancia de cianobacterias con potencial tóxico, poniendo en evidencia las condiciones de eutrofia del agua. Asimismo, los géneros observados con mayor frecuencia fueron *Microcystis sp.*, con una presencia del 100% seguido por *Aphanizomenon sp.* (92%) y *Pseudanabaena sp.* (84%), todos reconocidos por su capacidad productora de MCs, lo que permite asumir que tras la formación y senescencia de un bloom dominado por estos organismos, las concentraciones de MCs en el agua irán en aumento.

De las tres variantes de MCs analizadas (LR, YR y RR), únicamente se reportaron valores positivos para MC-LR y MC-RR, que oscilaron en concentraciones entre 0.60 y 0.013 µg/L. Los resultados obtenidos se sitúan por debajo del límite provisional de 1.0 µg/L sugerido por la OMS,

no obstante, estas concentraciones alertan de una posible exposición crónica a las toxinas por parte de la población en el área de estudio. Asimismo, en la comunidad de Agua Caliente se reconoce que el daño renal y hepático no son unicastales y que en la zona de estudio se presentan diferentes mecanismos de exposición que pueden enmascarar, sinergizar o potenciar los efectos tóxicos por MCs, ya sean por los usos que los pobladores hacen del agua del lago, tales como doméstico, recreacional, agrícola y pecuario, así como factores determinantes tales como desnutrición, exposición a plaguicidas y alcoholismo. Sin embargo, con base en los resultados, se asume que la presencia de MCs en el Lago de Chapala puede ser un factor causal asociado con el daño renal presente en Agua Caliente, dado que las concentraciones encontradas de 0.6 a 0.013  $\mu\text{g/L}$  de MC-LR y MC-RR exceden el límite de 0.01  $\mu\text{g/L}$  sugerido por autores como Wiegand, et al. (2000), Moreno, et al. (2003), Pérez, et al. (2008), Trevino-Garrison, et al. (2015) y Moy, et al. (2016), lo que expone a la población a padecer daño genotóxico, mutagénico y teratogénico.

## **9. PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES A FUTURO**

Dado el corto periodo de tiempo de los muestreos es difícil establecer una relación concreta entre los parámetros fisicoquímicos del agua, condiciones ambientales, los florecimientos algales nocivos y la producción de MCs, por lo que se sugiere para futuros estudios extender el periodo de muestreo, de igual manera, son necesarios trabajos capaces de elucidar si la comunidad de Agua Caliente se ha visto afectada de manera crónica y aguda por las MCs, así como establecer la existencia de una correlación directa entre las concentraciones de la toxina y el daño renal en los pobladores de la localidad.

Asimismo, los resultados obtenidos hacen evidente la necesidad de informar al público usuario del cuerpo de agua sobre los posibles riesgos a la salud, por lo que se recomienda que la población adopte medidas provisionales para la desinfección del agua, tales como la filtración de la misma, con la finalidad de retirar la mayor cantidad de cianobacterias tóxicas y minimizar así el riesgo de intoxicación por MCs.

Por otro lado, dada la importancia del Lago de Chapala y la cuenca hídrica a la que pertenece, se propone que el abordaje de la problemática de contaminación por MCs y el riesgo que representan sea de prioridad nacional; para ello, se sugiere la implementación de programas de vigilancia y monitoreo en el lago, que contemplen metodologías capaces de capturar la variabilidad

espacio-temporal de la toxina, mediante el uso de técnicas estandarizadas y equipos aptos para la cuantificación de distintos congéneres de la misma, tales como la Cromatografía de Líquidos Acoplada a Espectrometría de Masas en Tándem (UPLC-MS/MS) empleada en este trabajo. Cabe mencionar que esto, supone de una inversión significativa de 2 a 3 millones de pesos que involucra la adquisición de infraestructura, equipos especializados y personal altamente capacitado, de lo contrario se deberá recurrir a la contratación del servicio con un costo unitario aproximado de \$ 1,600.00 en laboratorios acreditados.

Finalmente, se destaca que la información generada en este proyecto de investigación aporta conocimientos relevantes para la comprensión de un ecosistema altamente contaminado, con implicaciones por definir a futuro en los usos del agua y en la salud de la población. Por ello, se recomienda a todas las universidades del país la aplicación de los métodos y medidas necesarias para la detección de MCs, dada su inclusión en las futuras actualizaciones de las Normas Oficiales Mexicanas.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

- Aguete, E. C., Gago-Martínez, A., Rodríguez-Vázquez, J. A., O'Connell, S., Moroney, C., & James, K. J. (2001). Application of HPLC and HPCE to the analysis of cyanobacterial toxins. *Chromatographia*, 53(1), 254.
- Almanza M., V., Parra B., O., De M. Bicudo, C. E., Leite Sant'Anna, C., Figueroa J., R., Urrutia P., R., . . . González S., P. (2016). Guía para el estudio de cianobacterias en el sistema lacustre del Gran Concepción: Aspectos ecológicos, toxicológicos, de control-vigilancia y taxonómicos. Concepción, Chile: Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción.
- Altaner, S., Puddick, J., Wood, S., & Dietrich, D. (2017). Adsorption of ten microcystin congeners to common laboratory-ware is solvent and surface dependent. *Toxins*, 9, 129.
- Amé, M. V., & Wunderlin, D. A. (2005). Effects of iron, ammonium and temperature on microcystin content by a natural concentrated *Microcystis aeruginosa* population. *Water, Air, and Soil Pollution*, 168(1-4), 235-248.
- Amé, M. V., Del Pilar Díaz, M., & Wunderlin, D. A. (2003). Occurrence of toxic cyanobacterial blooms in San Roque Reservoir (Córdoba, Argentina): A field and chemometric study. *Environmental toxicology*, 18(3), 192-201. DEJAR TODOS COMO AMÉ ET AL 2003
- Amé, M.V., Galanti, L., Menone, M., Gerpe, S., Moreno, V. & Wunderlin, D. (2010). Microcystin-LR, -RR, -YR and -LA in water samples and fishes from a shallow lake in Argentina. *Harmful Algae*, 9, 66–73.
- Andrinolo, D. (2006). Primeras evidencias de recuperación de hígado afectados por Hepatotoxinas producidas por cianobacterias presentes en el Río de la Plata. Uruguay: Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana.
- Andrinolo, D., Sedán, D., Telese, L., Aura, C., Masera, S., Giannuzzi, L., Marra, C.A. y Alaniz, M. (2008). Hepatic recovery after damage produced by sub-chronic intoxication with the cyanotoxin microcystin-LR. *Toxicon*, 51, 457–467.
- APHA-AWWA-WPCF. (1992). Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. España: Díaz de Santos.
- Ardanaz, S. M. (2010). Determinación de microcistinas en aguas de captación y tratadas. Buenos Aires, Argentina: Universidad de Belgrano.
- Arzate-Cárdenas, M. A., Olvera-Ramírez, R., y Martínez-Jerónimo, F. (2010) *Microcystis* toxigenic strains in urban lakes: a case of study in Mexico City. *Ecotoxicology* DOI 10.1007/s10646-01-0499-7.
- Azevedo, S. M., Carmichael, W. W., Jochimsen, E. M., Rinehart, K. L., Lau, S., Shaw, G. R., & Eaglesham, G. K. (2002). Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru, Brazil. *Toxicology*, 181, 441-446.
- Backer, L.C., Carmichael, W., Kirkpatrick, B., Williams, C., Irvin, M., Zhou, Y., Johnson, T.B., Nierenberg, K., Hill, V.R. y Kieszak, S.M. (2008). Recreational exposure to low concentrations of microcystins during an algal bloom in a small lake. *Marine Drugs*, 6, 389–406.
- Backer, L.C., McNeel, S.V., Barber, T., Kirkpatrick, B., Williams, C., Irvin, M., Zhou, Y., Johnson, T.B., Nierenberg, K. y Aubel, M. (2009). Recreational exposure to microcystins during algal blooms in two California lakes. *Toxicon*, 55, 909–921.
- Bekker, A., Holland, H. D., Wang, P. L., Rumble lii, D., Stein, H. J., Hannah, J. L., y Beukes, N. J. (2004). Dating the rise of atmospheric oxygen. *Nature*, 427(6970), 117.

- Bhatnagar, M., & Bhatnagar, A. (2000). Algal and cyanobacterial responses to fluoride. *Fluoride*, 33(2), 55-65.
- Bouaïcha, N. and Maatouk, I. (2004). Microcystin-LR and Nodularin Induce Intracellular Glutathione Alteration, Reactive Oxygen Species Production and Lipid Peroxidation in Primary Cultured Rat Hepatocytes. *Toxicology Letters*, 148, 53–63.
- Braga N.B. (2018). Tóxicos de origen cianobacteriano. Recuperado el 4 de julio de 2018, de: <http://www.zoetnocampo.com/Documentos/ciano/cianobacterias.htm>
- Brooks, B.W., Lazorchak, J., Howard, M.D.A., Johnson, M.V., Morton, S., Perkins, D., Reavie, E., Scott, G., Smith, S. y Steevens, J.A. (2016). Are harmful algal blooms becoming the greatest inland water quality threat to public health and aquatic ecosystems? *Environmental Toxicology Chemistry*, 35, 6–13.
- Brooks, B.W., Lazorchak, J., Howard, M.D.A., Johnson, M.V., Morton, S., Perkins, D., Reavie, E., Scott, G., Smith, S. y Steevens, J.A. (2017). In some places, in some cases, and at some times, harmful algal blooms are the greatest threat to inland water quality. *Environmental Toxicology Chemistry*, 36, 1125–1127.
- Bu, Y. Z., Li, X. Y., Zhang, B. J., Chung, I. K., & Lee, J. A. (2006). Microcystins cause embryonic toxicity in mice. *Toxicon*, 48(8), 966-972.
- Bury, N.R., Newlands, A.D., Eddy, F.B. y Codd, G.A. (1998). In vivo and in vitro intestinal transport of 3H-microcystin-LR, a cyanobacterial toxin, in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 42, 139–148.
- Campos, V., Lisperguer, S., Weckesser, J., Vera, A., & Muñoz, D. (2005). Cyanobacteria and potential risks of toxicity in continental waters of Chile. *Boletín Micológico*, 20, 73-81.
- Campos, V., Muñoz, D., Straube, M., Lisperguer, S., & Weckesser, J. (2007). Péptidos tóxicos y no tóxicos de cianobacterias en cuerpos de agua dulce de la V Región, Chile. *Boletín Micológico*, 22.
- Cantoral-Uriza, E., Asencio, A., & Aboal, M. (2017). Are we underestimating benthic cyanotoxins? Extensive sampling results from Spain. *Toxins*, 9, 385.
- Cárdenas-González, M., Osorio-Yáñez, C., Gaspar-Ramírez, O., Pavkovic, M., Ochoa-Martínez, A., López-Ventura, D. . . . Sabbiseti, V. S. (2016). Environmental exposure to arsenic and chromium in children is associated with kidney injury molecule-1. *Environmental Resources*, 150, 653-662.
- Carmichael, W. W. (2001). Health effects of toxin-producing cyanobacteria: “The CyanoHABs”. *Human and ecological risk assessment: An International Journal*, 7(5), 1393-1407.
- CEA. (2017). Comisión Estatal del Agua, Jalisco. Lago de Chapala. Recuperado el 9 de Enero de 2018, de <https://www.ceajalisco.gob.mx/contenido/chapala/>
- CEDHJ. (2018). Comisión Estatal de Derechos Humanos Jalisco. Recomendación dirigida al Dr. Alfonso Petersen Farah, Secretario de Salud Jalisco y Director General del OPD Servicios de Salud Jalisco. Obtenido de: <http://cedhj.org.mx/recomendaciones/emitidas/2018/Reco%2008-2018.pdf>
- Chávez-Alcántar, A.; Velázquez-Machuca, M.; Pimentel-Equihua, J. L.; Venegas-González, J.; Montañez-Soto, J. L.; Vázquez-Gálvez, G. (2011). Hidroquímica de las aguas superficiales de la ciénega de Chapala e índice de calidad de agua. *Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Terra Latinoamericana*, 29(1): 83-94.
- Chen, D.Z., Boland, M.P., Smillie, M.A., Klix, H., Ptak, C., Andersen, R.J. y Holmes, C.F. (1993). Identification of protein phosphatase inhibitors of the microcystin class in the marine environment. *Toxicon*, 31, 1407–1414.

- Chen, J., Song, L., Dai, J., Gan, N. and Liu, Z. (2004). Effects of Microcystins on the Growth and the Activity of Superoxide Dismutase and Peroxidase of Rape (*Brassica napus* L.) and Rice (*Oryza sativa* L.). *Toxicon*, 43, 393–400.
- Chen, X., Xie, P., Li, L. y Xu, J. (2009). First Identification of the hepatotoxic microcystins in the serum of a chronically exposed human population together with indication of hepatocellular damage. *Toxicology Sciences*, 108, 81–89.
- Chorus, I., & Bartram, J. (1999). Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. Great Britain: St Edmundsbury Press, Bury St Edmunds, Suffolk.
- Chorus, I., & Schlag, G. (1993). Importance of intermediate disturbances for the species composition and diversity of phytoplankton in two very different Berlin lakes. *Hydrobiologia*, 249(1-3), 67-92.
- Cirés G., S., & Quesada C., A. (2011). Catálogo de cianobacterias planctónicas. España: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- Cirés, S., Casero, C., & Quesada, A. (2017). Toxicity at the edge of life: a review on cyanobacterial toxins from extreme environments. *Marine Drugs*, 15, 233.
- Codd, G.A. (2000). Cyanobacterial Toxins, the Perception of Water Quality, and the Priorisation of Eutrophication Control. *Ecological Engineering*, 16, 51–60.
- Codd, G.A., Metcalf, J.S. and Beattie, K.A. (1999). Retention of *Microcystis aeruginosa* and Microcystin by Salad Lettuce (*Lactuca sativa*) After Spray Irrigation with Water Containing Cyanobacteria. *Toxicon*, 37, 1181–1185.
- COFEPRIS. (2017). NOM-127-SSA1-1994. Métodos Revisados Para La Determinación De Microcistina; Btex Y Estireno; Y Ácidos Haloacéticos. Agua para uso y consumo humano. Método para la determinación de microcistinas y nodularinas en agua de uso y consumo humano por extracción de fase sólida y cromatografía líquida/espectrometría de masas en tándem (lc/ms/ms). Recuperado el 11 de enero de 2018, de: <https://nom-127-ssa1.blogspot.mx/2017/04/metodos-revisados-para-la-determinacion.html>
- CONAGUA. (2018). El Agua en México. Causes y Encauses. Recuperado el 21 de Agosto de 2018, de <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Contenido/Documentos/elaguaenmexico-causesyencauces.pdf>
- Cotler, H., Mazari-Hiriart, M., & De Anda-Sánchez, J. (2006). Atlas de la cuenca Lerma-Chapala: construyendo una visión conjunta. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología/UNAM.
- Crush, J.R., Briggs, L.R., Sprosen, J.M. and Nichols, S.N. (2008). Effect of Irrigation With Lake Water Containing Microcystins on Microcystin Content and Growth of Ryegrass, Clover, Rape, and Lettuce. *Environmental Toxicology*, 23, 246–252.
- De Anda, J., & Maniak, U. (2007). Modificaciones en el régimen hidrológico y sus efectos en la acumulación de fósforo y fosfatos en el lago de Chapala, México. *Interciencia*, 32(2), 100-107.
- De Anda, J., & Shear, H. (2001). Nutrients and eutrophication in Lake Chapala. Boston: The Lerma-Chapala Watershed. Springer.
- De Anda, J., Shear, H., Maniak, U., & Riedel, G. (2000). Phosphorus balance in lake Chapala (Mexico). *Journal of Great Lakes Research*, 26(2), 129-140.
- De Luca, S. J., Pegorer, M. G., & De Luca, M. A. (2010). De Luca, S. J., Pegorer, M. G., & de Luca, M. A. (2010). Oxidação de microcistinas-LR em águas pelo íon ferrato (VI). *Eng Sanit Ambient*, 15(1), 5-10.

- Delherbe, N., K. Soto, I. Echenique & M. Vásquez. (2009). Presence of microcystins-producing cyanobacteria in the recently harmful algal blooms in the reservoir Rapel, Chile: toxicological and phylogenetic analysis. XXXI Congreso Chileno de Microbiología. Santa Cruz, Chile.
- Díaz-Pardo, E., Vazquez, G., & López-López, E. (1998). The phytoplankton community as a bioindicator of health conditions of Atezca Lake, Mexico. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, 1(3-4), 257-266.
- DOF. (1989). Diario Oficial de la Federación. ACUERDO por el que se establecen los Criterios Ecológicos de Calidad del Aguas CE-CCA-001/89. Recuperado el 16 de Mayo de 2018, de [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4837548&fecha=13/12/1989](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4837548&fecha=13/12/1989)
- DOF. (1993). Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana. NOM-014-SSA1-1993, Procedimientos sanitarios para el muestreo de agua para uso y consumo humano en sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados. Recuperado el 05 de Febrero de 2018, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/014ssa13.html>
- DOF. (2000). Diario Oficial de la Federación. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Recuperado el 8 de Enero de 2018, de [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=2063863&fecha=31/12/1969](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=2063863&fecha=31/12/1969)
- DOF. (2000). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-093-SCFI-2000 Análisis de agua - determinación de la conductividad electrolítica - método de prueba. Recuperado el 5 de Enero de 2018, de [http://lasa.ciga.unam.mx/monitoreo/images/biblioteca/46%20NMX-AA-093-SCFI-2000\\_Conductividad.pdf](http://lasa.ciga.unam.mx/monitoreo/images/biblioteca/46%20NMX-AA-093-SCFI-2000_Conductividad.pdf)
- DOF. (2001). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-036-SCFI-2001 Análisis de agua - determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba. Recuperado el 5 de Enero de 2018, de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166776/NMX-AA-036-SCFI-2001.pdf>
- DOF. (2001). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-038-SCFI-2001 Análisis de agua - determinación de turbiedad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba. Recuperado el 5 de enero de 2018, de <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/aa038-01.pdf>
- DOF. (2001). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-045-SCFI-2001 Análisis de agua - determinación de color platino cobalto en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba. Recuperado el 5 de Enero de 2018, de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166781/NMX-AA-045-SCFI-2001.pdf>
- DOF. (2001). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-072-SCFI-2001 Análisis de agua - determinación de dureza total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba. Recuperado el 5 de Enero de 2018, de [http://lasa.ciga.unam.mx/monitoreo/images/biblioteca/45%20NMX-AA-072-SCFI-2001\\_Dureza.pdf](http://lasa.ciga.unam.mx/monitoreo/images/biblioteca/45%20NMX-AA-072-SCFI-2001_Dureza.pdf)
- DOF. (2001). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-073-SCFI-2001 Análisis de agua - determinación de cloruros totales en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba. Recuperado el 5 de Enero de 2018, de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166789/NMX-AA-073-SCFI-2001.pdf>
- DOF. (2001). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-077-SCFI-2001 Análisis de aguas - determinación de fluoruros en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Recuperado el 5 de Enero de 2018, de <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/PPD1/DO86.pdf>
- DOF. (2001). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-079-SCFI-2001 Análisis de aguas - determinación de nitratos en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - método de prueba. Recuperado el 5 de Enero de 2018, de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166794/NMX-AA-079-SCFI-2001.pdf>
- DOF. (2002). Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana. NOM-230-SSA1-2002, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano requisitos sanitarios que se deben cumplir en los sistemas de abastecimiento

- públicos y privados durante el manejo del agua. Procedimientos sanitarios para el muestreo. Recuperado el 23 de Junio de 2018, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/230ssa102.html>
- DOF. (2006). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-099-SCFI-2006 Análisis de agua – determinación de nitrógeno de nitritos en aguas naturales y residuales – métodos de prueba. Recuperado el 5 de Enero de 2018, de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166802/NMX-AA-099-SCFI-2006.pdf>
- DOF. (2010). Diario Oficial de la Federación. Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-2010. Agua para uso y consumo humano. Límites máximos permisibles de la calidad del agua y requisitos sanitarios que deben cumplir los sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados, su control y vigilancia. Procedimiento sanitario de muestreo. Recuperado el 8 de Enero de 2018, de <http://www.cofepriis.gob.mx/Marco%20Juridico/nom000ssa12010.doc>
- DOF. (2011). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-008-SCFI-2011 Análisis de agua - determinación del pH - método de prueba. Recuperado el 5 de Enero de 2018, de [http://lasa.ciga.unam.mx/monitoreo/images/biblioteca/41%20NMX-AA-008-SCFI-2011\\_pH.pdf](http://lasa.ciga.unam.mx/monitoreo/images/biblioteca/41%20NMX-AA-008-SCFI-2011_pH.pdf)
- DOF. (2013). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-007-SCFI-2013 Análisis de agua – medición de la temperatura en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba. Recuperado el 5 de Enero de 2018, de [http://lasa.ciga.unam.mx/monitoreo/images/biblioteca/40%20NMX-AA-007-SCFI-2013\\_Temperatura.pdf](http://lasa.ciga.unam.mx/monitoreo/images/biblioteca/40%20NMX-AA-007-SCFI-2013_Temperatura.pdf)
- DOF. (2014). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-074-SCFI-2014 Análisis de agua – medición del ion sulfato en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – método de prueba. Recuperado el 5 de Enero de 2018, de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166149/nmx-aa-074-scfi-2014.pdf>
- DOF. (2014). Diario Oficial de la Federación. Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-250-SSA1-2014, Agua para uso y consumo humano. Límites máximos permisibles de la calidad del agua y requisitos sanitarios que deben cumplir los sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados, su control y vigilancia. Procedimiento sanitario de muestreo. Recuperado el 8 de Enero de 2018, de [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5356607&fecha=15/08/2014](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5356607&fecha=15/08/2014)
- DOF. (2015). Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-034-SCFI-2015 Análisis de agua - medición de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – método de prueba. Recuperado el 5 de Enero de 2018, de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166146/nmx-aa-034-scfi-2015.pdf>
- DOF. (2017). Diario Oficial de la Federación. Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-127-SSA1-2017, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua. Recuperado el 8 de Enero de 2018, de <http://www.cofemersimir.gob.mx/expedientes/20393>
- DOF. (2017). Diario Oficial de la Federación. Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-179-SSA1-2017, Agua para uso y consumo humano. Control de la calidad del agua distribuida por los sistemas de abastecimiento de agua. Recuperado el 8 de Enero de 2018, de <http://www.cofemersimir.gob.mx/expediente/20395/mir/42932/regulacion/3790751>
- Dörr, F. A., Pinto, E., & Soares, R. M. (2010). Microcystins in South American aquatic ecosystems: occurrence, toxicity and toxicological assays. *Toxicon*, 56(7), 1247-1256.
- Durán, J. M., & Torres, A. (2003). Crisis ambiental en el lago de Chapala y el abastecimiento para Guadalajara. *e-Gnosis*, 1.
- Ehrenhaus, C., & Vigna, M. S. (2006). Changes in the phytoplankton of Lake Planetario after restoration process. *Darwiniana*, 44(2), 319-328.

- Elbert, A., Titus, A., & Bhekie, B. (2012). Quantitative variations of intracellular Microcystin-LR, -RR and -YR in samples collected from four locations in Hartbeespoort Dam in North West Providence (South Africa) during the 2010/2011 summer season. *Environmental Research and Public Health*, 9, 3489-3505.
- EPA. (2009). National Lakes Assessment: A Collaborative Survey of the Nation's Lakes; United States Environmental Protection Agency: Washington, DC, USA.
- EPA. (2015a). Drinking Water Health Advisory for the Cyanobacterial Toxin Cylindrospermopsin; United States Environmental Protection Agency: Washington, DC, USA.
- EPA. (2015b). Drinking Water Health Advisory for the Cyanobacterial Microcystin Toxins; United States Environmental Protection Agency: Washington, DC, USA.
- EPA. (2016). Human Health Recreational Ambient Water Quality Criteria or Swimming Advisories for Microcystins and Cylindrospermopsin; United States Environmental Protection Agency, Office of Water: Washington, DC, USA.
- ESS Group. Inc. (2013). Cyanobacteria monitoring program 2012 report. Rhode Island Ridem Req. No. 1180565/1194117. USA: Rhode Island Department of Environmental Management Office of Water Resources.
- EULA. (2015). Diagnóstico y Caracterización del estado trófico del lago Vichuquen. Informe de avance. Centro EULA. Chile.
- Fabre, A. C., Carballo, E., Hernández, P., Piriz, L., Bergamino, L., Mello, S.,... Kruk, C. (2010). El nitrógeno y la relación zona eufótica/zona de mezcla explican la presencia de cianobacterias en pequeños lagos subtropicales artificiales de Uruguay. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 5(1), 112-125.
- Falch, B. S., König, G. M., Wright, A. D., Sticher, O., Angerhofer, C. K., Pezzuto, J. M., & Bachmann, H. (1995). Biological activities of cyanobacteria: evaluation of extracts and pure compounds. *Planta Medica*, 61(4), 321-328.
- Falconer, I. R. (1999). An overview of problems caused by toxic blue-green algae (cyanobacteria) in drinking and recreational water. *Environmental Toxicology*, 14(1), 5-12.
- Falconer, I. R. (2007). Cyanobacterial toxins present in *Microcystis aeruginosa* extracts—More than microcystins! *Toxicon*, 50(4), 585-588.
- Falconer, I. R., Buckley, T., & Runnegar, M. T. (1986). Biological half-life, organ distribution and excretion of <sup>125</sup>I-labelled toxic peptide from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Australian journal of biological sciences*, 39(1), 17-22.
- Fastner, J., Erhard, M., Carmichael, W. W., Sun, F., Rinehart, K. L., Ronicke, H., & Chorus, I. (1999). Characterization and diversity of microcystins in natural blooms and strains of the genera *Microcystis* and *Planktothrix* from German freshwaters. *Archiv für Hydrobiologie*, 1452.
- FCEA. (19 de febrero de 2018). Fondo para la Comunicación y la Educación Ambiental, A. C. Recuperado el 21 de agosto de 2018, de Agua.org.mx: <https://agua.org.mx/actualidad/aguas-residuales-contaminacion-en-mexico/>
- Ferrão-Filho, A.D.S. and Kozłowski-Suzuki, B. (2011). Cyanotoxins: Bioaccumulation and effects on aquatic animals. *Marine Drugs*, 9, 2729–2772.
- Ferrari, G., Pérez M., D. C., Dabezies, M., Míguez, D., & Saizar, C. (2011). Planktic cyanobacteria in the lower Uruguay River, South America. *Fottea*, 11(1), 225-234.

- Fetscher, A.E., Howard, M.D.A., Stancheva, R., Kudela, R.M., Stein, E.D., Sutula, M.A., Busse, L.B. y Sheath, R.C. (2015). Wadeable streams as widespread sources of benthic cyanotoxins in California, USA. *Harmful Algae*, 49, 105–116.
- Fitzgeorge, R.B., Clatk, S.A. and Keevil, C.W. (1994). Reference. In *Detection Methods for Cyanobacterial Toxins*; Codd, G.A., Jefferies, T.M., Keevil, C.W., Potter, E. Londres, UK: The Royal Society of Chemistry.
- FONIS. (2015). Identificación, monitoreo y evaluación del riesgo de la población del Gran Concepción ante la presencia de cianobacterias y cianotoxinas. Informe final proyecto FONIS CONICYT SA 13I20211.
- Forján-Lozano, E., Domínguez-Vargas, M. J., Vilchez-Lobato, C., Miguel, R., Costa, C., & Reis, M. P. (2008). Cianoalerta: estrategia para predecir el desarrollo de cianobacterias tóxicas en embalses. *Ecosistemas*, 17(1), 37-45.
- García-Velasco, J. (2001). Estudio de los contaminantes en el proceso de sedimentación en el lago de Chapala, México. Tesis de doctorado. Valencia: Universidad de Valencia.
- Gehringer, M.M., Kewada, V., Coates, N. and Downing, T.G. (2003). The Use of *Lepidium sativum* in a Plant Bioassay System for the Detection of Microcystin-LR. *Toxicon*, 41, 871–876.
- Giannuzzi, L., Amé, M. V., Andrinolo, D., Bauzá, L., Benítez, R., Titto, E., & Rosso, L. (2011a). Cianobacterias como determinantes ambientales de la salud. Buenos Aires, Argentina.
- Giannuzzi, L., Sedan, D., Echenique, R., & Andrinolo, D. (2011b). An acute case of intoxication with cyanobacteria and cyanotoxins in recreational water in Salto Grande Dam, Argentina. *Marine Drugs*, 9, 2164-2175.
- Gibble, C.M. y Kudela, R.M. (2014). Detection of persistent microcystin toxins at the land-sea interface in Monterey Bay, California. *Harmful Algae*, 39, 146–153.
- Gibble, C.M., Peacock, M.B. y Kudela, R.M. (2016). Evidence of freshwater algal toxins in marine shellfish: Implications for human and aquatic health. *Harmful Algae*, 59, 59–66.
- Gkelis, S. y Zaoutsos, N. (2014). Cyanotoxin occurrence and potentially toxin producing cyanobacteria in freshwaters of Greece: A multi-disciplinary approach. *Toxicon*, 78, 1–9.
- GOB. (2017). Gobierno del Estado de Jalisco. Poncitlán. Recuperado el 19 de Noviembre de 2017, de <https://www.jalisco.gob.mx/es/jalisco/municipios/poncitlan>
- Gomes N., M. (2000). Phytoplankton composition, dominance and abundance as indicators of environmental compartmentalization in Jurumirim Reservoir (Paranapanema River), São Paulo, Brazil. *Hydrobiologia*, 431(2-3), 115-128.
- Gongora, J., Serna, F., Gutierrez, M., Perez, C., Hernández, E., & Ron, O. (2008). Prevalencia de enfermedad renal crónica en niños de Aguascalientes, México. *Salud Pública México*, 50, 436-437.
- Greer, B., McNamee, S.E., Boots, B., Cimarelli, L., Guillebault, D., Helmi, K., Marcheggiani, S., Panaiotov, S., Breitenbach, U. and Akçalan, R. (2016). A validated UPLC–MS/MS method for the surveillance of ten aquatic biotoxins in european brackish and freshwater systems. *Harmful Algae*, 55, 31–40.
- Harding, W.R. and Paxton, B.R. (2001). Cyanobacteria in South Africa. A Review. WRC Report No. TT 153/01. South Africa: Water Research Commission Pretoria.
- Herrera, N., Flórez, M., & Echeverria, L. (2015). Evaluación preliminar de la reducción de microcistina-LR en muestras de florecimientos a través de sistemas sedimentarios. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 31(4), 405-414.

- Howard, M., Nogada, C., Kudela, R., Hayashi, K., Tatters, A., Caron, D.,... Stein, E. (2017). Microcystins prevalence throughout lentic waterbodies in Coastal Southern California. *Toxins*, 9, 231.
- Ibelings, B. W., Backer, L. C., Kardinaal W., E. A., & Chorus, I. (2014). Current approaches to cyanotoxin risk assessment and risk management around the globe. *Harmful Algae*, 40, 63-74.
- IHME. (2018). Institute for Health Metrics and Evaluation. GBD Data Visualizations. GBD Compare. Obtenido de <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/#>
- IIEG. (2018). Instituto de Información Estadística y Geográfica. Poncitlán: diagnóstico del municipio. Recuperado el 24 de Junio de 2018, de <http://iieg.gob.mx/contenido/Municipios/Poncitlan.pdf>
- ISO 20179. (2005). Water quality -- Determination of microcystins -- Method using solid phase extraction (SPE) and high performance liquid chromatography (HPLC) with ultraviolet (UV) detection. Recuperado el 11 de Enero de 2018, de <https://www.iso.org/standard/34098.html>
- Ito, E., Kondo, F., & Harada, K. I. (2000). First report on the distribution of orally administered microcystin-LR in mouse tissue using an immunostaining method. *Toxicon*, 38(1), 37-48.
- Ito, E., Kondo, F., & Harada, K. I. (2001). Intratracheal administration of microcystin-LR, and its distribution. *Toxicon*, 39(2-3), 265-271.
- IUPAC. (2018). International Union of Pure and Applied Chemistry. Recuperado el 11 de Enero de 2018, de <https://iupac.org>
- Järvenpää, S., Lundberg-Niinistö, C., Spoof, L., Sjövall, O., Tyystjärvi, E. and Meriluoto, J. (2007). Effects of Microcystins on Broccoli and Mustard, and Analysis of Accumulated Toxin by Liquid Chromatography-mass Spectrometry. *Toxicon*, 49, 865–874.
- Jia, J., Chen, Q., & Lauridsen, T. (2016). A systematic investigation into the environmental fate of microcystins and the potential risk: study in Lake Taihu. *Toxins*, 8, 170.
- Jochimsen, E.M., Carmichael, W.W., An, J.S., Cardo, D.M., Cookson, S.T., Holmes, C.E.M., Antunes, M.B., de Melo Filho, D.A., Lyra, T.M. y Barreto, B.S.T. (1998). Liver failure in death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *The New England Journal of Medicine*, 338, 873–878.
- Jüttner, F. & S. Watson, 2007. Biochemical and Ecological Control of Geosmin and 2-Methylisoborneol in Source Waters. *Appl. Environmental Microbiology*, 73(14): 4395-4406.
- Kalff, J., & Knoechel, R. (1978). Phytoplankton and their dynamics in oligotrophic and eutrophic lakes. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 9(1), 475-495.
- Kleinteich, J., Puddick, J., Wood, S., Hildebrand, F., Laughinghouse IV, H., Pearce, D.,... Wilmotte, A. (2018). Toxic cyanobacteria in svalbard: chemical diversity of microcystins detected using a liquid chromatography mass spectrometry precursor ion screening method. *Toxins*, 10, 147.
- Kleinteich, J., Wood, S.A., Puddick, J., Schleheck, D., Küpper, F.C., Dietrich, D. (2013). Potent toxins in Arctic environments—Presence of saxitoxins and an unusual microcystin variant in arctic freshwater ecosystems. *Chemico-Biological Interactions*, 206, 423–431.
- Komárek J. & Hauer T. (2013): CyanoDB.cz - On-line database of cyanobacterial genera. - Word-wide electronic publication, University of South Bohemia & Institute of Botany AS CR, <http://www.cyanodb.cz>
- Komárek, J. & J. Komárková-Legnerová. (2002a). Review of the European Microcystis-morphospecies (Cyanoprocarayotes) from nature. *Czech Phycology*, Olomouc, 2: 1-24.

- Komárek, J. & J. Komárková-Legnerová. (2002b). Contribution to the knowledge of planktic Cyanoprokaryotes from central Mexico. *Preslia*, 74: 207-233.
- Komárek, J. (1991). A review of water-bloom forming *Microcystis* species with regard to populations from Japan. *Algological Studies*, 64:115-127.
- Komárek, J. (2008). Cyanoprokaryota. Teil 1 / Part 1: Chroococcales. En *Süßwasserflora von Mitteleuropa* (pág. 548). Spektrum Akademischer Verlag. Springer.
- Komárek, J. (2013). Cyanoprokaryota. Teil 3 / Part 3: Heterocytous Genera. En *Süßwasserflora von Mitteleuropa* (pág. 1131). Spektrum Akademischer Verlag. Springer.
- Komárek, J. y K. Anagnostidis. (1986). Modern approach to the classification system of Cyanophytes 2: Crococcales. *Algological Studies* 43: 157-226.
- Komárková-Legnerová, J., & Tavera-Sierra, R. (1996). Cyanoprokaryota (Cyanobacteria) in the phytoplankton of lake Catemaco Veracruz, México. *Algological Studies*, 83, 403 - 422.
- Kuiper-Goodman, T., Falconer, I. & Fitzgerald, J. (1999). Human Health Aspects. In *Toxic Cyanobacteria in Water. A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*; Chorus, I., Bartram, J. London, UK: E & F Spon.
- Kurki-Helasma, K. and Meriluoto, J. (1998). Microcystin Uptake Inhibits Growth and Protein Phosphatase Activity in Mustard (*Sinapis alba* L.) Seedlings. *Toxicon*, 36, 1921–1926.
- Lahti, K., Rapala, J., Färdig, M., Niemelä, M., & Sivonen, K. (1997). Persistence of cyanobacterial hepatotoxin, microcystin-LR in particulate material and dissolved in lake water. *Water Research*, 31(5), 1005-1012.
- Lance, E., Josso, C., Dietrich, D., Ernst, B., Paty, P., Senger, F., Bormans, M. y Gérard, C. (2010). Histopathology and microcystin distribution in *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda) following toxic cyanobacterial or dissolved microcystin-LR exposure. *Aquatic Toxicology*, 98, 211–220.
- Lanza E., G., Hernández P., S., & Carbajar P., J. L. (2000). Organismos indicadores del agua y de la contaminación (Bioindicadores). México: Plaza y Valdés, S.A. de C.V.
- Lawrence, J. F., & Menard, C. (2001). Determination of microcystins in blue-green algae, fish and water using liquid chromatography with ultraviolet detection after sample clean-up employing immunoaffinity chromatography. *Journal of Chromatography A*, 922(1-2), 111-117.
- Leda, G., Sedan, D., Echenique, R., & Andriolo, D. (2011). An acute case of intoxication with cyanobacteria and cyanotoxins in recreational water in Salto Grande Dam, Argentina. *Marine Drugs*, 9, 2164 - 2175.
- Lee, R. (2008). *Phycology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Lehman, P.W. Boyer, G. Satchwell, M. y Waller, S. (2008). The influence of environmental conditions on the seasonal variation of *Microcystis* cell density and microcystins concentration in San Francisco Estuary. *Hydrobiologia*, 600, 187–204.
- Léon-Tejera, H. and Montejano, G. (2000). *Dermocarpella* (Cyanoprokaryota/Cyanophyceae/Cyanobacteria) from the Pacific coast of Mexico. *Cryptogamie, Algologie*, 21: 259-272.
- Lind, O. T., & Dávalos-Lind. (2001). An introduction to the limnology of Lake Chapala, Jalisco, Mexico. México: The Lerma-Chapala Watershed. Springer.

- Lozano-Kasten, F., Sierra-Díaz, E., Celis-De la Rosa, A. J., Soto G., M. M., & Peregrina L., A. A. (2017). Prevalence of albuminuria in children living in a rural agricultural and fishing subsistence community in Lake Chapala, México. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(12), 1577.
- Luna, H. G., Lozano, K. F. J. y Crocker, S. R. (2017). Vulnerabilidad en la infancia en Agua Caliente, Jalisco. Retos para la atención integral desde un enfoque de salud ambiental. *Sembrando Conciencia Universidad de Guadalajara*, 6(11), 12-13.
- Magrann, T., Howard, M.D.A., Dunbar, S.G., Sutula, M., Boskovic, S. y Hayes, W.K. (2015). Screening assessment of cyanobacteria and cyanotoxins in southern California lentic habitats. *Environmental Management and Sustainable Development*, 4, 2164–7682.
- Martínez S., M. (2006). Mecanismos fisicoquímicos de la degradación de la toxina Microcistina-LR. D.F. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- McCall, J. (2010). Lake Bogoria, Kenya: Hot and warm springs, geysers and holocene stromatolites. *Earth-Science Reviews*, 103, 71–79.
- McElhiney, J., Lawton, L.A. and Leifert, C. (2001). Investigations into the Inhibitory Effects of Microcystins on Plant Growth, and the Toxicity of Plant Tissues Following Exposure. *Toxicon*, 39, 1411–1420.
- Menezes, C., Churro, C., & Dias, E. (2017). Risk levels of toxic cyanocateria in Portuguese recreational freshwaters. *Toxins*, 9, 327.
- Meriluoto, J. (1997). Chromatography of microcystins. *Analytica Chimica Acta*, 352(1-3), 277-298.
- Metcalf, J., Richer, R., Cox, P., Codd, G. (2012). Cyanotoxins in desert environments may present a risk to human health. *Science of the Total Environment*, 421, 118–123.
- Metcalf, J.S., Bell, S.G. and Codd, G.A. (2001). Colorimetric immuno-protein phosphatase inhibition assay for specific detection of microcystins and nodularins of cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 904–909.
- Miller, M.A., Kudela, R.M., Mekebri, A., Crane, D., Oates, S.C., Tinker, M.T., Staedler, M., Miller, W.A., Toy-Choutka, S. y Dominik, C. (2010). Evidence for a novel marine harmful algal bloom: Cyanotoxin (microcystin) transfer from land to sea otters. *PLoS ONE*, 5, e12576.
- Milutinovic, A., Zorc-Pleskovic, R., Zivin, M., Vovk, A., Sersa, I., & Suput, D. (2013). Magnetic resonance imaging for repaid screening for the nephrotoxic and hepatotoxic effects of microcystins. *Marine Drugs*, 11, 2785-2798.
- Moisander, P.H., Ochiai, M. y Lincoff, A. (2009). Nutrient limitation of *Microcystis aeruginosa* in northern california klamath river reservoirs. *Harmful Algae*, 8, 889–897.
- Mora-Navarro, M. R. (2001). Fitoplancton del Lago de Chapala, Jalisco, México. México: Universidad de Guadalajara.
- Mora-Navarro, M. R., Vázquez-García, J. A., Vargas-Rodríguez, Y. L., & Hernández-Herrera, R. M. (2006). Algas del occidente de México: florística y ecología. Guadalajara, Jalisco. Universidad de Guadalajara (CUCBA), Fundación Gonzalo Río Arronte, I.A.P., Sociedad Ficológica de México, A.C.
- Mora-Navarro, M., Vázquez-García, J. A., & Vargas-Rodríguez, Y. L. (2004). Ordenación de comunidades de fitoplancton en el lago de Chapala, Jalisco-Michoacán, México. *Hidrobiológica*, 14(2), 91-103.
- Moreno, I. M. (2002). Microcistinas: presencia, determinación y estudios. España: Universidad de Sevilla.

- Moreno, I., Repetto, G., & Carmeán, A. (2003). Interés toxicológico de las microcistinas. *Revista de Toxicología*, 20(3), 159-165.
- Moy, N.J., Dodson, J., Tassone, S.J., Bukaveckas, P.A. y Bulluck, L.P. (2016). Biotransport of algal toxins to riparian food webs. *Environmental Science & Technology*, 50, 10007–10014.
- Nandini, S., & Sarma S., S. S. (2012). Cianobacterias y cianotoxinas dulceacuícolas en ambientes tropicales: una revisión de la problemática. En Y. Pica G., & P. Ramírez R., *Contribuciones al conocimiento de la ecotoxicología y química ambiental en México* (pág. 484). Morelos, México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- Nasri, H., El Herry, S. and Bouaïcha, N. (2008). First reported case of turtle deaths during a toxic microcystis spp. Bloom in Lake Oubeira, Algeria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71, 535–544.
- Neselli-Flores, L., & Barone, R. (2000). Phytoplankton dynamics and structure: a comparative analysis in natural and man-made water bodies of different trophic state. *Hydrobiologia*, 438(1-3), 65-74.
- Nobre, A.C.L., Jorge, M.C.M., Menezes, D.B., Fonteles, M.C. y Monteiro, H.S.A. (1999). Effects of microcystin-LR in isolated perfused rat kidney. *Brazilian Journal Medical and Biological Research*, 32, 985–988.
- O'Farrell, I., Bordet, F., & Chaparro, G. (2012). Bloom forming cyanobacterial complexes co-occurring in a subtropical large reservoir: validation of dominant eco-strategies. *Hydrobiologia*, 698(1), 175-190.
- Oliva M., M., & Garduño S., G. (2017). *Cianobacterias: Cyanobacterias, Cyanoprokaryota*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Oliva-Martínez, M. G., Rodríguez-Rocha, A., Lugo-Vázquez, A., y Sánchez-Rodríguez, M. R. (2008) Composición y dinámica del fitoplancton en un lago urbano hipertrófico. *Hidrobiológica* 18(1): 752-761.
- OMS. (1998a). Capítulo 7: Algas y cianobacterias en aguas recreativas. Volumen 1: Aguas costeras y aguas dulces. Ginebra: World Health Organisation.
- OMS. (1998b). Guidelines for drinking-water quality, addendum to Vol. 2. Geneva: World Health Organisation.
- OMS. (1999). Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring y management. Geneva: World Health Organisation.
- OMS. (2003). Guidelines for safe recreational water environments. Volumen 1: Coastal and fresh waters. Geneva: World Health Organization.
- OMS. (2004). Fluoride in drinking–water. Background document for development of WHO Guidelines for drinking–water quality: World Health Organization.
- Ortega, M. (1984). Catálogo de algas continentales recientes de México. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ortega, M., Godínez, L., Garduño, G., & Oliva, M. (1995). *Ficología de México. Algas continentales*. México: AGT.
- Otten, T.G., Xu, H., Qin, B., Zhu, G. y Paerl, H.W. (2012). Spatiotemporal patterns and ecophysiology of toxigenic *Microcystis* blooms in Lake Taihu, China: Implications for water quality management. *Environmental Science & Technology*, 46, 3480–3488.
- Paerl, H. W. (1996). A comparison of cyanobacterial bloom dynamics in freshwater, estuarine and marine environments. *Phycologia*, 35(6S), 25-35.
- Parra, O., Ugarte, E., Balabanoff, L., Mora, S., Liebermann, M., & Aron, A. (1980). Remarks on a bloom of *Microcystis aeruginosa* Kuetzing. *Nova Hedwigia*, 33, 971-1004.

- Peñaloza, R., Rojas, M., Vila, I., & Zambrano, F. (1990). Toxicity of a soluble peptide from *Microcystis* sp. to zooplankton and fish. *Freshwater Biology*, 24(2), 233-240.
- 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(1), 48-56.
- Peuthert, A., Chakrabarti, S. and Pflugmacher, S. (2007). Uptake of Microcystins-LR and -LF (Cyanobacterial Toxins) in Seedlings of Several Important Agricultural Plant Species and the Correlation With Cellular Damage (lipid peroxidation). *Environmental Toxicology*, 22, 436-442.
- Pflugmacher, S., Jung, K., Lundvall, L., Neumann, S. and Peuthert, A. (2006). Effects of Cyanobacterial Toxins and Cyanobacterial Cell-free Crude Extract on Germination of Alfalfa (*Medicago sativa*) and Induction of Oxidative Stress. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 2381-2387.
- PNUMA-GEMS. Programa del Agua Water Quality Outlook. PNUMA Sistema Mundial de Vigilancia del Medio Ambiente, Programa del Agua, Instituto Nacional de Investigación sobre el Agua. Burlington, Ontario. 2007.
- Pouria, S., De Andrade, A., Barbosa, J., Cavalcanti, R. L., Barreto V., T. S., Ward, C. J.,... Codd, G. A. (1998). Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *The Lancet*, 352(9121), 21-26.
- Preece, E.P., Moore, B.C. y Hardy, F.J. (2015). Transfer of microcystin from freshwater lakes to Puget Sound, WA and toxin accumulation in marine mussels (*mytilus trossulus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 98-105.
- Prescott, G. W. (1978). How to know the freshwater algae. United States of America: University of Montana.
- Quiroz-Castelán, H., Mora-Zúñiga, L. M., Molina-Astudillo, I., & García-Rodríguez, J. (2004). Variación de los organismos fitoplanctónicos y la calidad del agua en el lago de Chapala, Jalisco, México. *Acta Universitaria. Universidad de Guanajuato*, 14(1), 47-58.
- Ramírez-García, P., Martínez-Romero, E., Martínez-Salgado, M. D., y Eslava-Campos, C. A. (2004) Cianobacterias, microorganismos del fitoplancton y su relación con la salud humana. México, Instituto Nacional de Ecología.
- Rantala, A., Menos, D. P., Hisbergues, M., Rouhiainen, L., Vaitomaa, J. y Börner, T. (2004). Evidencia filogenético para la evolución temprana de la síntesis de microcistina. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, 568-573.
- Robinson, N. A., Pace, J. G., Matson, C. F., Miura, G. A., & Lawrence, W. B. (1991). Tissue distribution, excretion and hepatic biotransformation of microcystin-LR in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 256(1), 176-182.
- Rodhe, W. (1969). Crystallization of eutrophication concepts in North Europe in: eutrophication, causes, consequences, correctives. Washington D.C.: National Academy of Sciences.
- Ruiz, M., Rodríguez, M. I., Ruibal, A. L., Gonzalez, I., Pellicioni, P., Biagi, M., & Lerda, D. (2010). Efectos en la salud por exposición al agua con microcistinas. III Congreso Internacional sobre Gestión y Tratamiento Integral del Agua. Córdoba, Argentina: Instituto Nacional del Agua.
- Sabart, M., Crenn, K., Perrière, F., Abila, A., Lereboure, M., Colombet, J., Jousse, C. y Latour, D. (2015). Co-occurrence of microcystin and anatoxin-a in the freshwater Lake Aydat (France): Analytical and molecular approaches during a three-year survey. *Harmful Algae*, 48, 12-20.
- Sánchez Z., M., Áviles F., M., González E., L., Ramírez S., N., & Moeller C., G. (2013). Proyecto "Desarrollo de metodologías y su aplicación para la determinación de cianobacteras y de compuestos emergentes en cuerpos de

- agua residual y potable. TC1322.1 Informe Final. México.: IMTA. Coordinación de Tratamiento y Calidad del Agua y SEMARNAT.
- Sant' Anna, C. L. & M. T. P. Acevedo. (2000). Contribution to the knowledge of potenciallity toxic Cyanobacteria from Brazil. *Nova Edwigia*, 71 (3-4): 359-38.
- Sant' Anna, C. L., M. T. P. Acevedo, P. A. C. Senna, J. Komárek & J. Komárková. (2004). Planktic Cyanobacteria from São Paulo State, Brazil: Chroococcales. *Revista Brasileira de Botânica*, 27 (2): 1-19.
- Saqrane, S., & Oudra, B. (2009). CyanoHAB ocurrence and water irrigation cyanotoxin contamination: ecological impacts and potential health risks. *Toxins*, 1, 113-122.
- Saqrane, S., Ouahid Y., El Ghazali, I., Oudra, B., Bouarab, L. and del Campo, F.F. (2009). Physiological Changes in *Triticum durum*, *Zea mays*, *Pisum sativum* and *Lens esculenta* Cultivars, Caused by Irrigation with Water Contaminated with Microcystins: A Laboratory Experimental Approach. *Toxicon*, 53, 786–796.
- Schmidt, J., Shaskus, M., Estenik, J., Oesch, C., Khidekel, R., & Boyer, G. (2013). Variations in the microcystin content of different fish species collected from a eutrophic lake. *Toxins*, 5, 992-1009.
- SEDESOL, & CONEVAL. (2010). Poncitlan, Jalisco - gov.mx. Informe anual sobre la información de pobreza y resago social. Recuperado el 2018 de Junio de 27, de [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/43094/Jalisco\\_066.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/43094/Jalisco_066.pdf)
- SEMARNAT. (s.f.). AGUA. Recuperado el 21 de Agosto de 2018, de [http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe\\_12/pdf/Cap6\\_agua.pdf](http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_12/pdf/Cap6_agua.pdf)
- Shoemaker, J., Tettenhorst, D., & Delacruz, A. (2015). Method 544. Determination Of Microcystins And Nodularin In Drinking Water By Solid Phase Extraction And Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). Washington, DC.: U.S. Environmental Protection Agency. Recuperado el 26 de Junio de 2018, de [https://cfpub.epa.gov/si/si\\_public\\_record\\_report.cfm?dirEntryId=306953](https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?dirEntryId=306953)
- Sivonen, K. (1996). Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia*, 35(6S), 12-24.
- Soares, R.M., Cagido, V.R., Ferraro, R.B., Meyer-Fernandes, J.R., Rocco, P.R., Zin, W.A. y Acevedo, S.M. (2007). Effects of microcystin-LR on mouse lungs. *Toxicon*, 50, 330–338.
- Solís, H., & Cortés, M. A. (1999). Jalisco a futuro: construyendo el porvenir, 1999-2025. México: Universidad de Guadalajara.
- Solter, P., Wollenberg, G., Huang, X., Chu, F. y Runnegar, M. (1998). Prolonged sublethal exposure to the protein phosphatase inhibitor MC-LR Results in multiple dose-dependent hepatotoxic effects. *Toxicology Sciences*, 44, 87–96.
- Sommer, U. (1993). Disturbance-diversity relationships in two lakes of similar nutrient chemistry but contrasting disturbance regimes. *Hydrobiologia*, 249(1-3), 59-65.
- Song, H., Coggins, L. X., Reichwaldt, E. S. and Ghadouani A. (2015). The importance of lake sediments as a pathway for microcystin dynamics in shallow eutrophic lakes. *Toxins*, 7, 900-918.
- Sotton, B., Guillard, J., Anneville, O., Maréchal, M., Savichtcheva, O. and Domaizon, I. (2014). Trophic transfer of microcystins through the lake pelagic food web: Evidence for the role of zooplankton as a vector in fish contamination. *Science of the Total Environment*, 466–467, 152–163.

- Stewart, I., Webb, P.M., Schluter, P.J., Fleming, L.E., Burns, J.W., Gantar, M., Backer, L.C. and Shaw, G.R. (2006a). Epidemiology of recreational exposure to freshwater cyanobacteria—An international prospective cohort study. *BMC Public Health*, 6.
- Stewart, I.P., Webb, M., Schluter, P.J. & Shaw, G.R. (2006b). Recreational and occupational field exposure to freshwater cyanobacteria—a review of anecdotal and case reports, epidemiological studies and the challenges for epidemiologic assessment. *Environmental Health*, 5, 6.
- Stone D. (2018). Cyanobacteria and their toxins. Recuperado el 4 de julio de 2018, de: [www.oregon.gov/DHS/ph/envtox/docs/algaetoxins.pdf](http://www.oregon.gov/DHS/ph/envtox/docs/algaetoxins.pdf)
- Stoner, R.D., Adams, W.H., Slatkin, D.N. and Siegelman, H.W. (1989). The effects of single L-aminoacids substitutions on the lethal potencies of microcystins. *Toxicon*, 27:825-828.
- Stotts, R. R., Twardock, A. R., Haschek, W. M., Choi, B. W., Rinehart, K. L., & Beasley, V. R. (1997). Distribution of tritiated dihydromicrocystin in swine. *Toxicon*, 35(6), 937-953.
- Su, X., Xue, Q., Steinman, A., Zhao, Y., & Xie, L. (2015). Spatiotemporal dynamics of microcystin variants and relationships with enviromental parameters in lake Taihu, China. *Toxins*, 7, 3224-3244.
- Tatters, A.O., Howard, M.D., Nagoda, C., Busse, L., Gellene, A.G. y Caron, D.A. (2017). Multiple stressors at the land-sea interface: Cyanotoxins at the land-sea interface in the Southern California Bight. *Toxins*, 9, 95.
- Tavera, R., E. Novelo & A. Comas. (2000). Chlorococcalean algae (s.l.) from the ecological Park of Xochimilco, Mexico. *Algological Studies*, 100: 65-94.
- Teixera, M. G., Costa, M. C., Carvalho, V. L., Pereira, M. S., & Hage, E. (1993). Bulletin of the Pan American Health Organization. 27, 244-253.
- Tisdale, E. S. (1931). Epidemic of intestinal disorders in Charleston, W. Va., occurring simultaneously with unprecedented water supply conditions. *American Public Health Association*, 21, 198-200.
- Tomasino-Ortíz, A., Sánchez-Chávez, J., & Bravo-Inclán, L. (2012). Monitoreo de microcistina en el lago de Pátzcuaro, México, por un método de ELISA. En Y. Pica-Granados, & P. Ramírez-Romero, Contribuciones al conocimiento de la ecotoxicología y química ambiental en México. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- Tonk, L., Bosch, K., Visser, P.M., Huisman, J. (2007). Salt tolerance of the harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Aquatic Microbial Ecology*, 46, 117–123.
- Trainer, V., & Hardy, F. (2015). Integrative monitorind of marine and freshwater harmful algae in Washington State for public Health Protection. *Toxins*, 7, 1206-1234.
- Trevino-Garrison, I., DeMent, J., Ahmed, F.S., Haines-Lieber, P., Langer, T., Menager, H., Neff, J., Van der Merwe, D. y Carney, E. (2015). Human illnesses and animal deaths associated with freshwater harmful algal blooms-kansas. *Toxins* 2015, 7, 353–366.
- Turner, A., Dhanji-Rapkova, M., O'Neill, A., Coates, L., Lewis, A., & Lewis, K. (2018). Analisis of Microcystins in cyanobacterial blooms from freshwater bodies in England. *Toxins*, 10, 39.
- Ueno, Y., Nagata, S., Tsutsumi, T., Hasegawa, A., Watanabe, M. F., Park, H.,... Yu, S. (1996). Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis*, 17(6), 1317-1321.

- UNESCO. (2009). *Cianobacterias planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de gestión*. Montevideo, Uruguay: Administración de las Obras Sanitarias del Estado.
- UNESCO. (2018). *Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos*. Recuperado el 21 de Agosto de 2018, de *Soluciones Basadas en la Naturaleza para la gestión del Agua. Resumen ejecutivo*: <http://unesdoc.unesco.org/images/0026/002615/261594s.pdf>
- Vasconcelos, V. M. (2015). Global changes and the new challenges in the research on cyanotoxin risk evaluation. *Limnetica*, 34(1), 149-158.
- Vasconcelos, V., Martins, A., Vale, M., Antunes, A., Azevedo, J., Welker, M., López, O., y Montejano, G. (2010) First report on the occurrence of microcystins in planktonic cyanobacteria from Central Mexico. *Toxicon* 56(3):425-431.
- Vázquez, M. 2009. Florecimientos algales nocivos en el Lago Rapel. Pontificia Universidad Católica de Chile Facultad de Ciencias Biológicas. Laboratorio Microbiología y Toxicología Ambiental.
- Vergara, Y., Moya A., Peleato S. M. L., Sevilla E. y López S. (2013). Informe científico-técnico. Nuevos riesgos para el agua potable: Microcistina. Mejora de la calidad del agua de consumo por eliminación de toxinas. OX-CTA y Dpto. Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza.
- Wang, S.X., Wang, Z.H., Cheng, X.T., Li, J., Sang, Z.P., Zhang, X.D., Han, L.L., Qiao, S.Y., Wu, Z.M., Wang, Z.Q. (2007). Arsenic and fluoride exposure in drinking water: children's IQ and growth in Shanyin County, Shanxi province, China: *Environmental Health Perspectives* 115(4):643-7.
- Ward, C.J., Beattie, K.A., Lee, E.Y.C. and Codd, G.A. (1997). Colorimetric protein phosphatase inhibition assay of laboratory strains and natural blooms of cyanobacteria: Comparisons with highperformance liquid chromatographic analysis for microcystins. *FEMS Microbiology Letters*, 153, 465-473.
- Watanabe, M. y J. Komárek. (1994). *Several cyanoprocaryotes from Sagarmatha National Park, Nepal* Wetzel, R.G. 1981. *Limnología*. Omega, Barcelona.
- Waters (2009 – 2010). *Catalog of Water Chromatography Columns and Supplies*. Recuperado el 1 de octubre de: <http://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720002784en.pdf>
- Wiegand, C. and Pflugmacher, S. (2005). Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites a short review. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203, 201-218.
- Wiegand, C., Pflugmacher, S., Giese, M., Frank, H. y Steinberg, C. (2000). Uptake, toxicity, and effects on detoxication enzymes of atrazine and trifluoroacetate in embryos of zebrafish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 45, 122-131.
- Wood, S.A., Heath, M.W., Holland, P.T., Munday, R., McGregor, G.B. y Ryan, K.G. (2010). Identification of a benthic microcystin-producing filamentous cyanobacterium (Oscillatoriales) associated with a dog poisoning in New Zealand. *Toxicon*, 55, 897-903.
- Wood, S.A., Mountfort, D., Selwood, A.I., Holland, P.T., Puddick, J., Cary, S.C. (2008). Widespread distribution and identification of eight novel microcystins in Antarctic cyanobacterial mats. *Applied and Environmental Microbiology* 74, 7243-7251.

## 11. ANEXO I

REGISTRO DE MUESTREO DE CAMPO			
Nombre del Proyecto:			
Sitio de Muestreo			
Coordenadas	N:	W:	Altitud:
Fecha:	Hora Inicio:		Hora Final:
Muestreadores:			



DATOS METEOROLÓGICOS		PARÁMETROS DE CAMPO	
Temperatura Ambiente	°C	Temperatura	°C
Viento	Km/h	pH (Tira reactiva)	pH
Nubosidad	%	Oxígeno Disuelto	mg/L
Presión atmosférica	mb	Conductividad	µS/cm
Punto de evaporación (WB)	°C	Potencial Redox	mV
Punto de rocío (DP)	°C	Salinidad	%
		Sólidos Disueltos Totales (SDT)	mg/L
Humedad relativa	%	Olor	
		Materia flotante	
		Transparencia (Disco Secchi)	cm

MUESTRAS COLECTADAS			
Microcistinas		Fisicoquímicos	Microbiológico de agua
Fitoplancton		Fisicoquímicos de reserva	Microbiológico de aire
Macroinvertebrados		Metales pesados	Plaguicidas
Sedimentos			

CARACTERIZACIÓN VISUAL
OBSERVACIONES

## 12. ANEXO II



*Ilustración 1.* Punto 1 llamado “Las Rocas” ubicado a las afueras del pueblo y de difícil acceso por vía terrestre. Presentaba floraciones algales y el principal uso del agua era agrícola; debido a su profundidad no tenía uso recreacional.



*Ilustración 2.* Punto 2 llamado “Agua Caliente” debido a las aguas termales del lugar. Es la zona preferencial de baño y de uso recreacional, el agua se emplea para lavar la ropa y la agricultura. Los pobladores indican que antes era su fuente de abastecimiento de agua potable.



*Ilustración 3.* Punto de muestreo 3 llamado “Camino al Templo”, ubicado al costado del templo entre dos chayoterías, muy próximo a la zona habitacional. El agua se extrae con fines agrícolas, ganaderos e higiene doméstica. Es una zona de baño y recreación. Cabe señalar que en la zona hay quema de basura.



*Ilustración 4.* Punto 4 llamado “Zona de Pesca”, ubicado en el extremo Este del pueblo y donde preferentemente se extrae pescado. El agua presenta pocas floraciones algales y su uso principal es agrícola; además se observó la presencia de ganado porcino y gallinas.



*Ilustración 5.* Punto de muestreo 5 llamado “Los Sauces” ubicado a las afueras del pueblo. Es el punto con mayor presencia de floraciones algales y materia orgánica flotante. La extracción del agua para uso agrícola es limitada.



*Ilustración 6.* Esta fotografía muestra una floración de cianobacterias observada en el punto 1 de muestreo.



*Ilustración 7.* Bombas utilizadas para la extracción de agua del lago con el fin de emplearse en la agricultura, principalmente de Chayotes.



*Ilustración 8.* Pescadores trabajando en las cercanías del punto 4 de muestreo.



*Ilustración 9.* Esta ilustración muestra dos de los usos del agua del Lago de Chapala por la comunidad de Agua Calientes, las cuales son lavar ropa y el cultivo de chayotes.



*Ilustración 10.* Esta fotografía tomada en el camino que lleva al punto tres, muestra la interacción cotidiana que tienen los menores de edad con la orilla del lago donde suele efectuarse la quema de basura.



*Ilustración 11.* Medición del potencial de hidrogeno (pH) *in situ* mediante el uso de tiras reactivas marca Científica Vela Quin (CIVEQ®).



*Ilustración 12.* Medición *in situ* de la temperatura (°C) y la concentración de oxígeno disuelto (OD mg/L) mediante el uso de un oxímetro HORIBA® modelo HB-OM-51-2.



*Ilustración 13.* Medición de parámetros atmosféricos *in situ* mediante el uso de una estación meteorológica portátil marca Kestrel K-4500®



*Ilustración 14.* Medición de la transparencia de la orilla del lago mediante el uso de un Disco Secchi y una soga marcada cada 10 cm.



*Ilustración 15.* Toma de muestra destinada al análisis de Microcistinas del punto 3.



*Ilustración 16.* Toma de muestra destinada al análisis de Microcistinas del punto 4.



*Ilustración 17.* Toma de muestra destinada al análisis de parámetros Fisicoquímico del punto 3.



*Ilustración 18.* Toma de muestra destinada al análisis de parámetros Fisicoquímico del punto 4. Cabe señalar que se observa una ligera floración algal en la parte inferior izquierda de la fotografía.



*Ilustración 19.* Toma de muestra destinada a la determinación del Fitoplancton en el punto de muestreo 3, mediante la filtración de un volumen de 100 L por una malla de 45  $\mu\text{m}$ .



*Ilustración 20.* Muestra para la Determinación del Fitoplancton del punto 1, donde se observa la concentración del fitoplancton en la malla después del filtrado.



*Ilustración 21.* Análisis Físicoquímico de las muestras colectadas en el Laboratorio de Salud Ambiental del Departamento de Ciencias Ambientales del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara, a cargo del Dr. Javier García Velasco.



*Ilustración 22.* Determinación de Alcalinidad Total, Alcalinidad de Fenolftaleína, Dureza Total, Dureza Cálctica y Cloruros por métodos volumétricos. En esta ilustración se observan los colores que las muestras tomaron tras la determinación de los parámetros ya mencionados.



*Ilustración 23.* Análisis de variables físicoquímicas, por métodos volumétricos (Determinación de durezas).



*Ilustración 24.* Observación al microscopio y toma de fotografías del fitoplancton colectado para su posterior identificación taxonómica.



*Ilustración 25.* Acondicionamiento de los cartuchos cartucho Oasis HLB para la extracción en fase sólida y determinación de microcistinas en el Laboratorio de Salud Pública de Navarra, España.



*Ilustración 26.* Filtración de las muestras colectadas en los cartuchos Oasis HLB previamente acondicionados.



*Ilustración 27.* Inyector de Nitrógeno marca TurboVap® LV para llevar a sequedad las muestras a 40°C.



*Ilustración 28.* Cromatógrafo ACQUITY UPLC H-Class PLUS con bomba cuaternaria, acoplado a un detector de masas de triple cuadrupolo (MS/MS) Xevo™ TQD, marca WATERS®.

### 13. ANEXO III

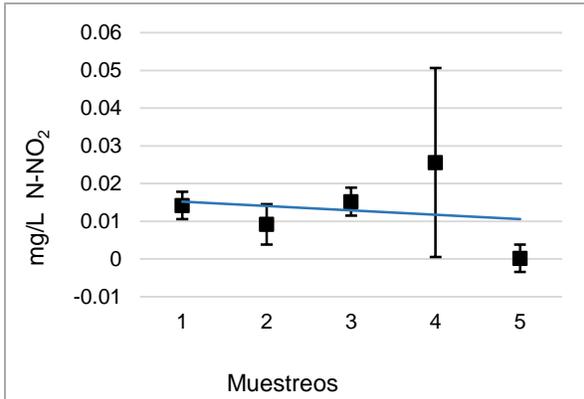


Gráfico 1. Promedio de Nitritos por muestreo, donde se observa una línea de tendencia descendente y la desviación estándar aumentada en el muestreo 4.

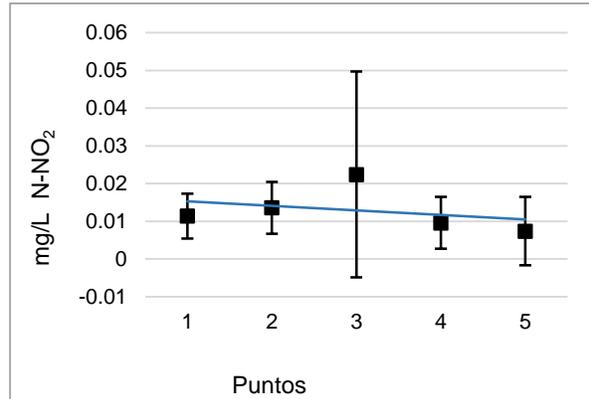


Gráfico 2. Valores promedio de Nitritos por punto, donde se observa una línea de tendencia descendente y desviación estándar aumentada en el punto 3.

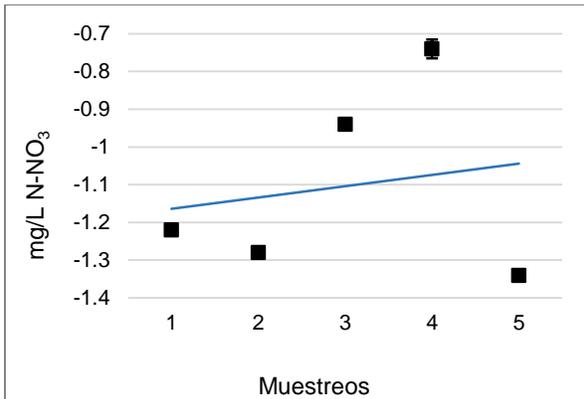


Gráfico 3. Valores promedio de Nitratos por número de muestreo, donde se observa una línea de tendencia ascendente y desviación estándar ajustada.

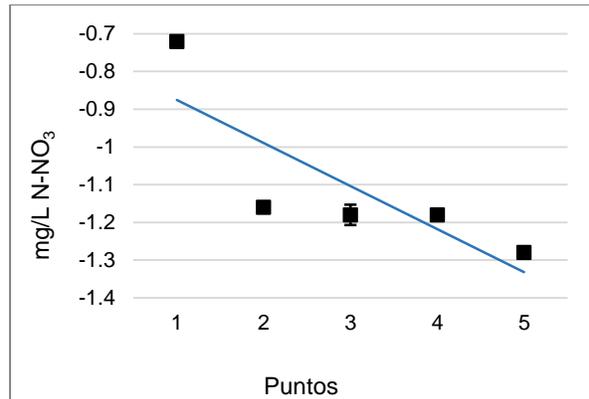


Gráfico 4. Valores promedio de Nitratos por punto de muestreo, donde se observa una línea de tendencia descendente y desviación estándar ajustada.

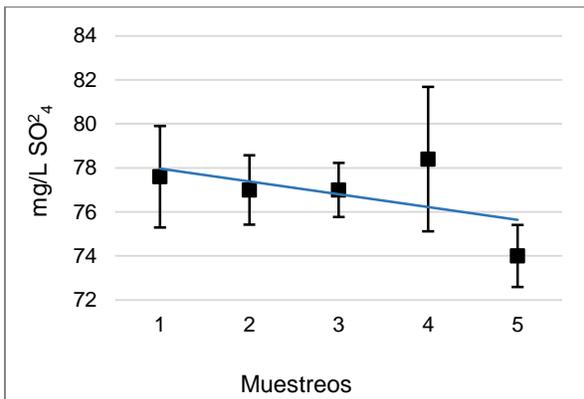


Gráfico 5. Valores promedio de Sulfatos por número de muestreo, donde se observa una línea de tendencia descendente y su desviación estándar correspondiente.

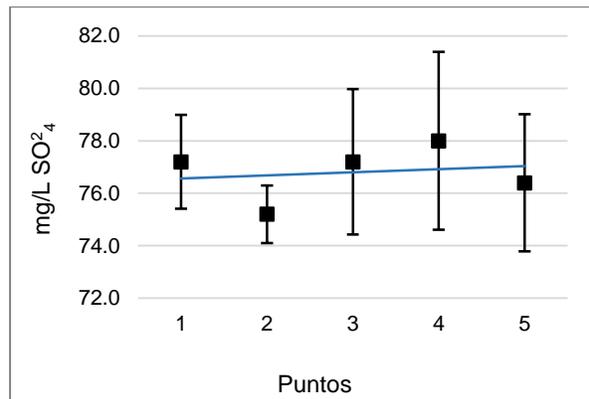


Gráfico 6. Valores promedio de Sulfatos por punto, donde se observa una línea de tendencia ascendente y su desviación estándar correspondiente.

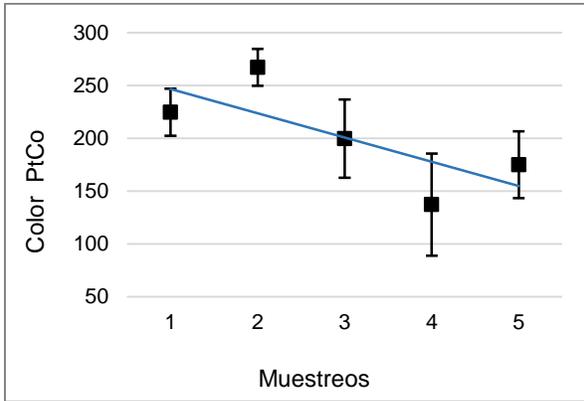


Gráfico 7. Valores promedio de Color por número de muestreo, donde se observa una línea de tendencia descendente y su desviación estándar correspondiente.

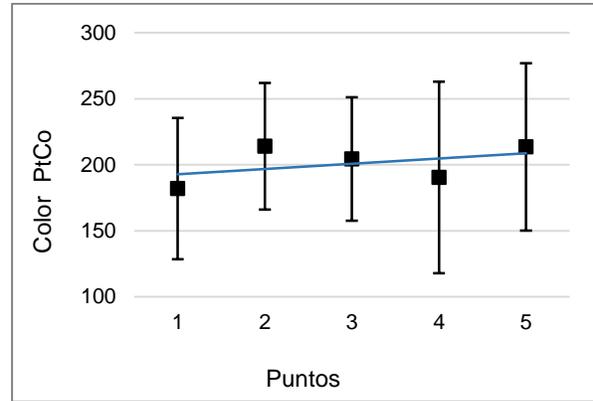


Gráfico 8. Valores promedio de Color por punto de muestreo, donde se observa una línea de tendencia ascendente y su desviación estándar correspondiente.

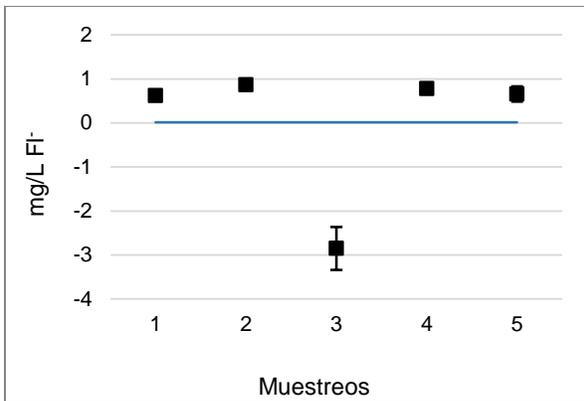


Gráfico 9. Valores promedio de Fluoruros por número de muestreo, donde no se observa una tendencia de cambio y una desviación estándar ajustada.

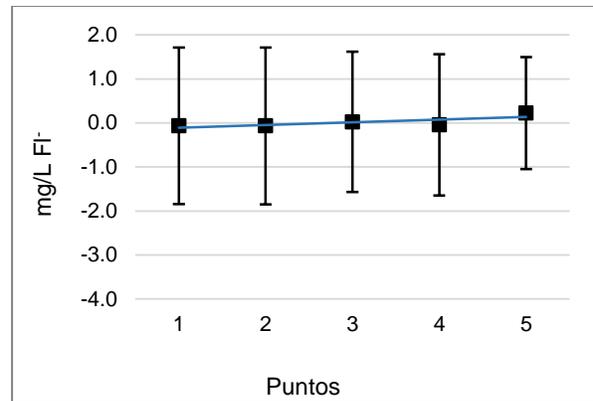


Gráfico 10. Valores promedio de Fluoruros por punto de muestreo con desviación estándar, donde se observa una ligera tendencia positiva.

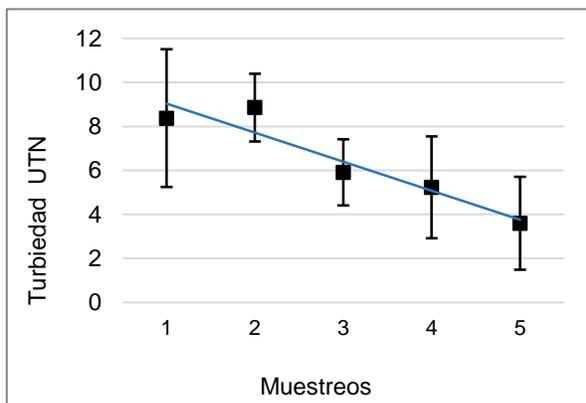


Gráfico 11. Valores promedio de Turbiedad por número de muestreo, donde se observa una línea de tendencia descendente y su desviación estándar correspondiente.

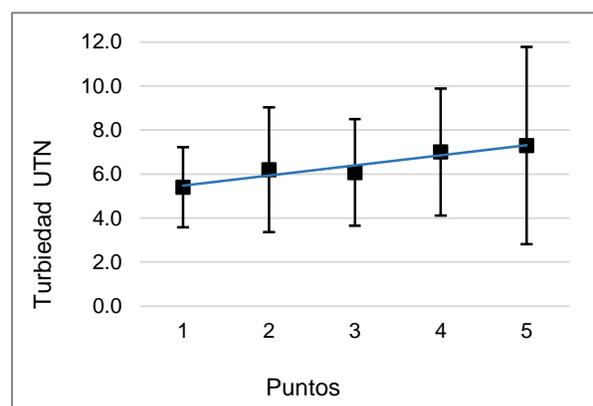


Gráfico 12. Valores promedio de Turbiedad por punto, que muestra una línea de tendencia ascendente y una mayor desviación en el punto 5.

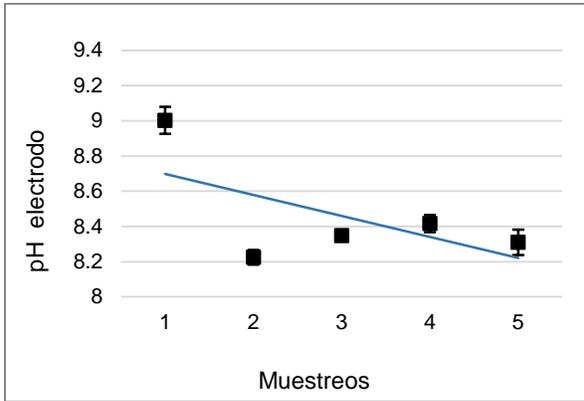


Gráfico 13. Valores promedio de pH con electrodo por muestreo, que muestran una tendencia descendente y la desviación estándar ajustada.

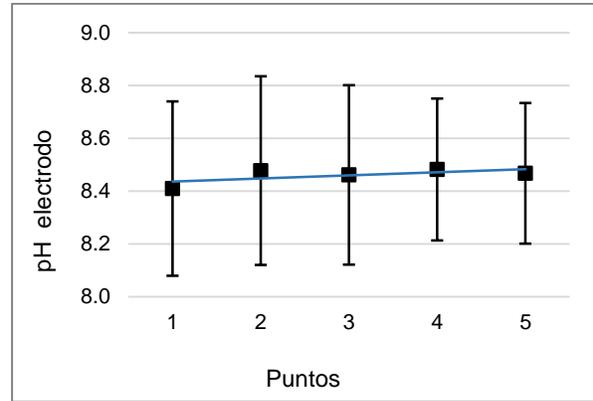


Gráfico 14. Valores promedio de pH con electrodo por punto, donde se observa una línea de tendencia ligeramente ascendente y su desviación estándar.

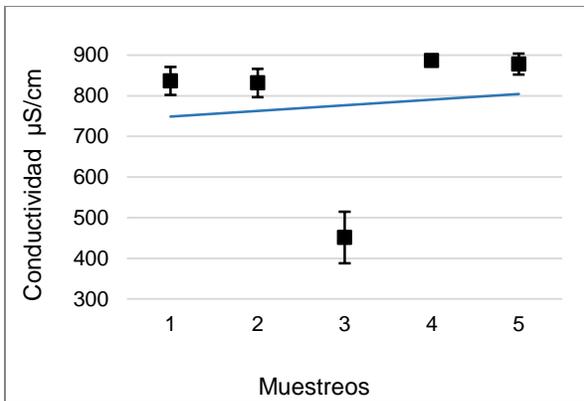


Gráfico 15. Valores promedio de Conductividad por muestreo, donde se destaca una tendencia ascendente y un desajuste en el muestreo 3.

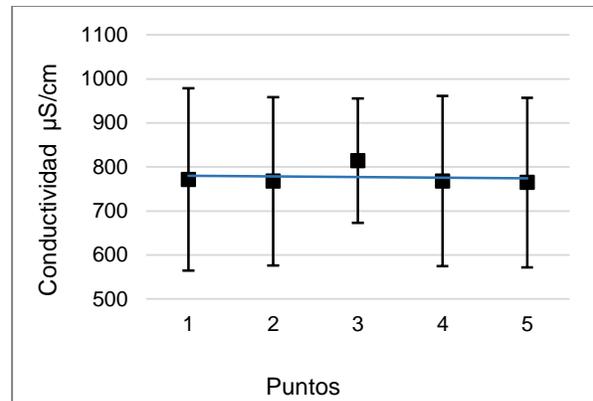


Gráfico 16. Valores promedio de Conductividad de cada sitio de muestreo, donde se observa una ligera tendencia descendente.

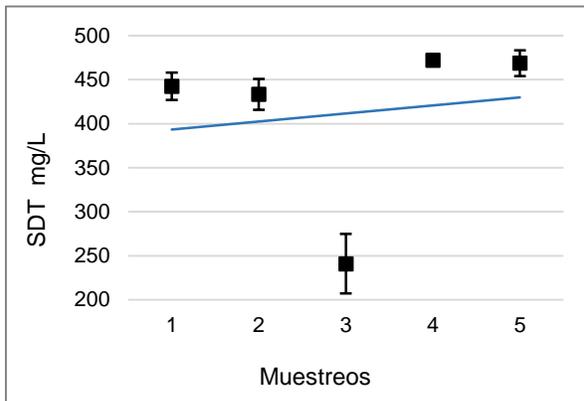


Gráfico 17. Valores promedio de Solidos Disueltos Totales, donde se destaca una tendencia a aumentar y una variación en el muestreo 3.

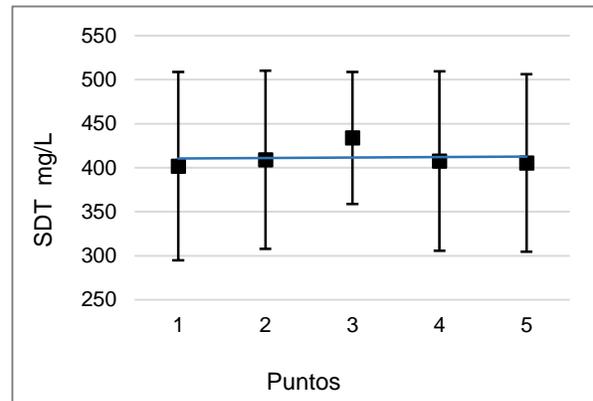


Gráfico 18. Valores promedio de Solidos Disueltos Totales, donde no se observa una tendencia de cambio entre puntos de muestreo.

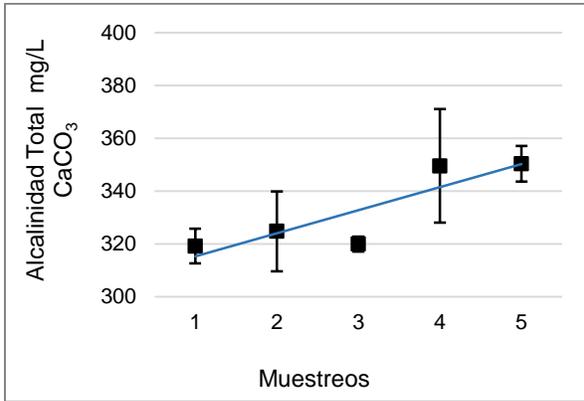


Gráfico 19. Valores promedio de Alcalinidad Total, manifestando una línea de tendencia ascendente y desviación estándar ajustada en el muestreo 3.

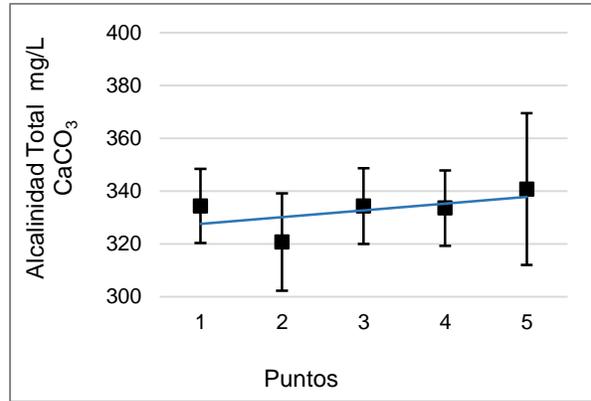


Gráfico 20. Valores promedio de Alcalinidad Total por sitio, donde se destaca una variación en el punto 2 y una línea de tendencia ascendente.

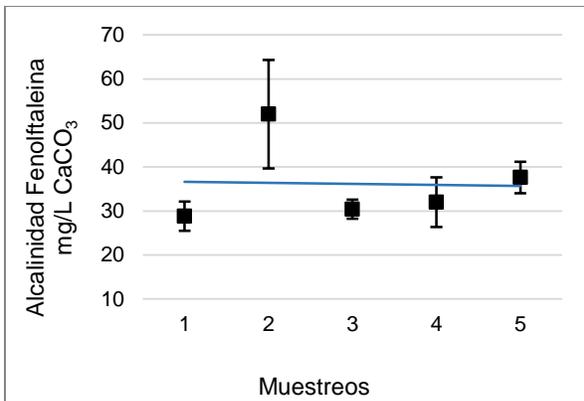


Gráfico 21. Valores promedio de Alcalinidad de Fenolftaleína, donde se destaca una variación en el muestreo 2 y una línea de tendencia descendente.

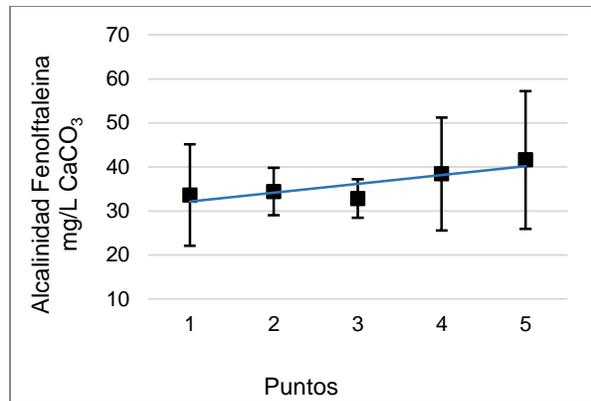


Gráfico 22. Valores promedio de Alcalinidad de Fenolftaleína por punto, con una línea de tendencia ascendente.

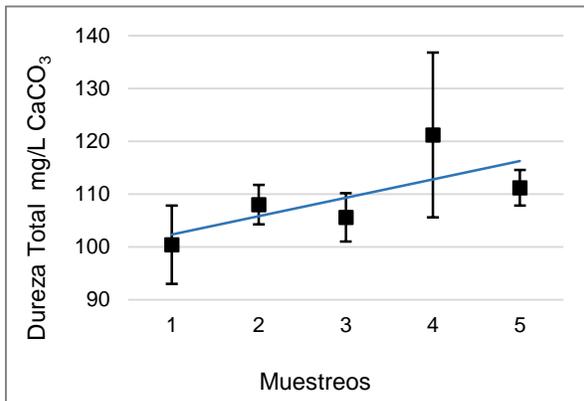


Gráfico 23. Valores promedio de Dureza Total, que muestran una desviación estándar incrementada en el muestreo 4 y una tendencia a aumentar.

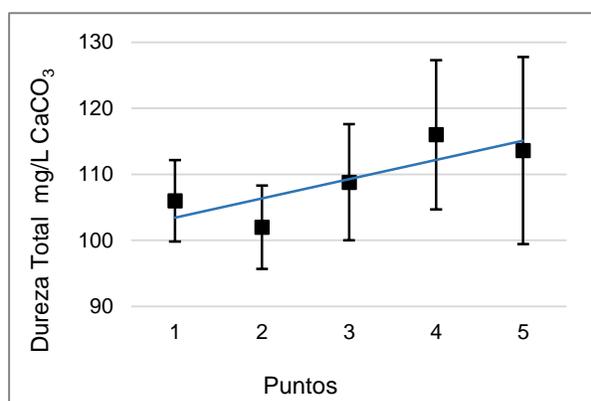


Gráfico 24. Valores promedio de Dureza Total, donde se observa una línea de tendencia ascendente y su desviación estándar correspondiente.

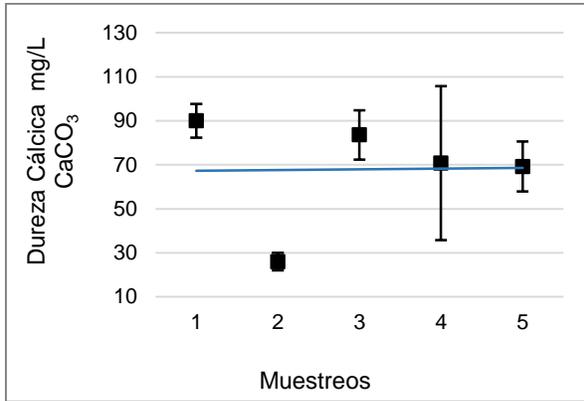


Gráfico 25. Valores promedio de Dureza Cálctica por muestreo, donde se destaca una ligera tendencia ascendente y variación en el muestreo 2.

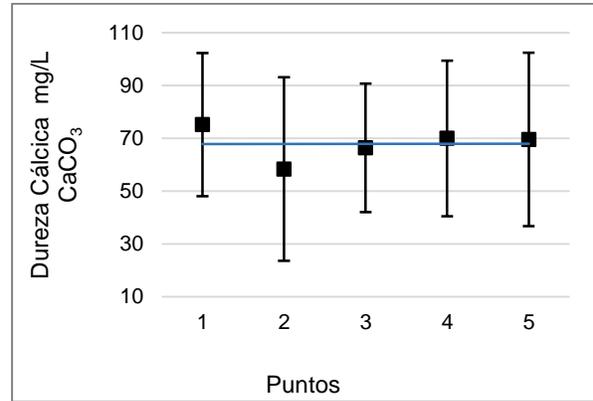


Gráfico 26. Valores promedio de Dureza Cálctica, sin tendencia de cambio entre puntos de muestreo y su desviación estándar correspondiente.

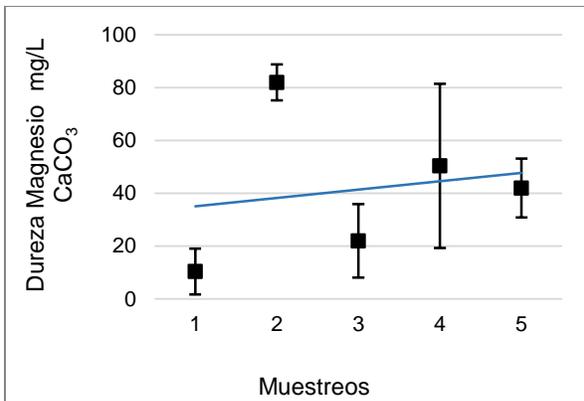


Gráfico 27. Valores promedio de Dureza de Magnesio, donde se destaca una variación en el muestreo 2 y una línea de tendencia ascendente.

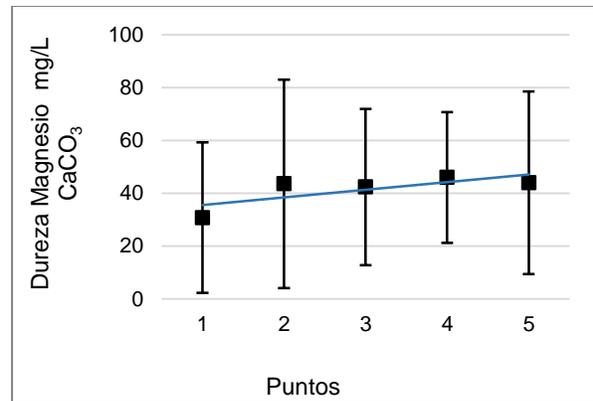


Gráfico 28. Valores promedio de Dureza de Magnesio, con una línea de tendencia ascendente y su desviación estándar correspondiente.

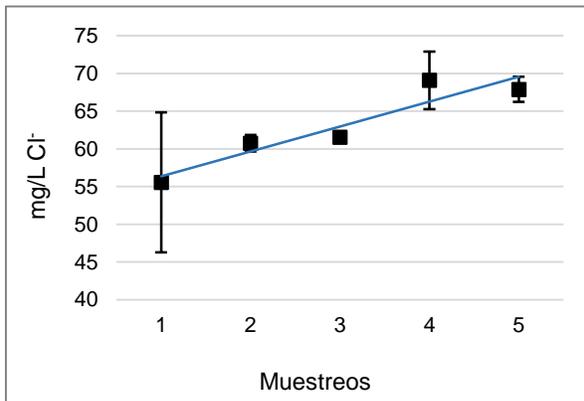


Gráfico 29. Valores promedio de Cloruros, donde se observa una mayor desviación estándar en el muestreo 1 y una línea de tendencia ascendente.

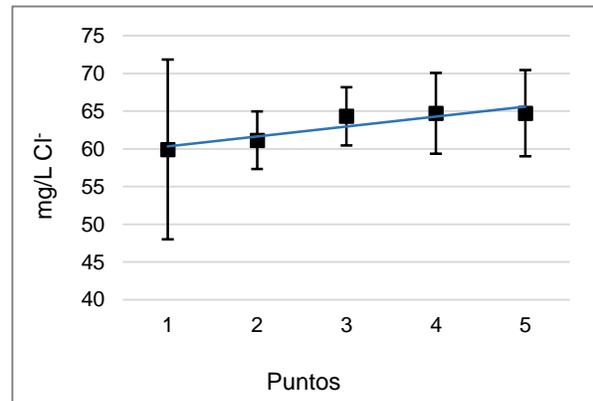


Gráfico 30. Valores promedio de Cloruro, con una desviación incrementada en el punto 1 y una línea de tendencia ascendente.

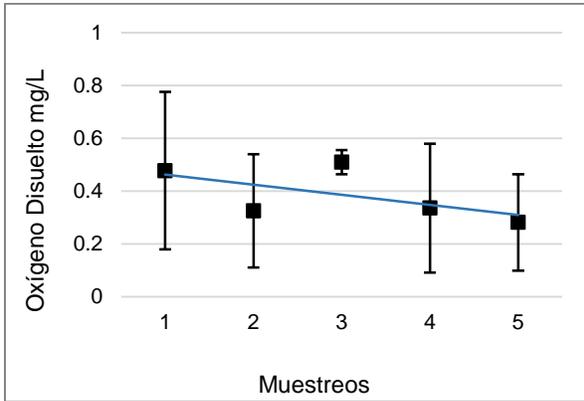


Gráfico 31. Valores promedio de Oxígeno Disuelto, con una línea de tendencia descendente y desviación estándar ajustada en el muestreo 3.

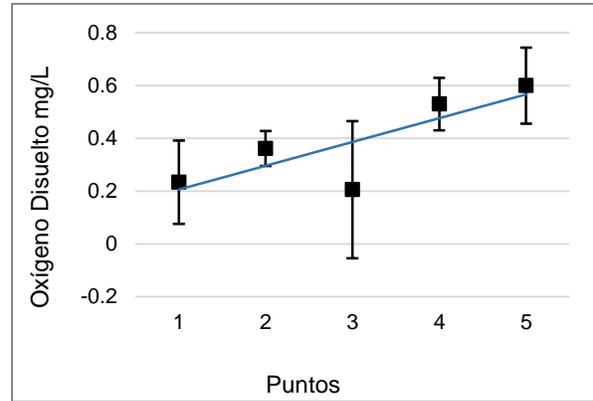


Gráfico 32. Valores promedio de Oxígeno Disuelto, donde se destaca una línea de tendencia descendente y una mayor desviación estándar en el punto 3.

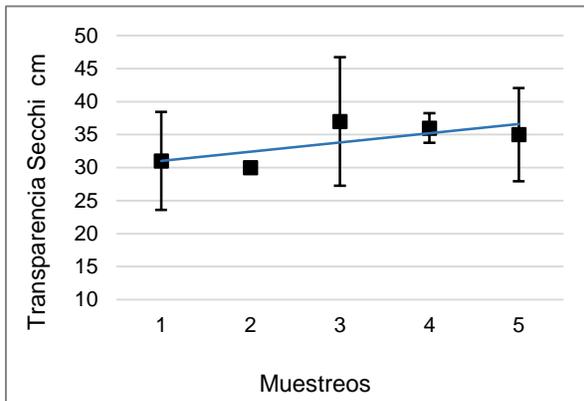


Gráfico 33. Valores promedio de Transparencia, con una línea de tendencia ascendente y desviación estándar ajustada en el muestreo 2.

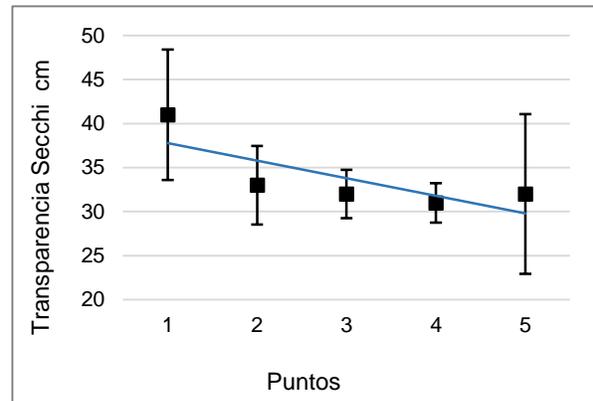


Gráfico 34. Valores promedio de Transparencia, con una línea de tendencia descendente y su desviación estándar correspondiente.

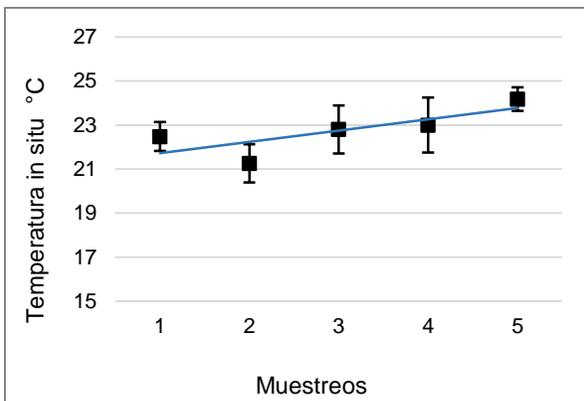


Gráfico 35. Valores promedio de Temperatura in situ, con una línea de tendencia ascendente y desviación estándar ligeramente ajustada.

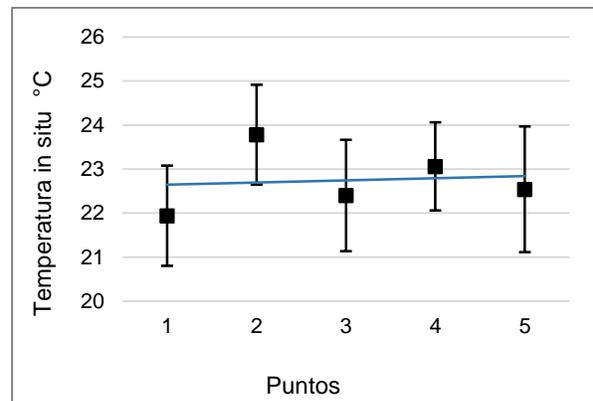
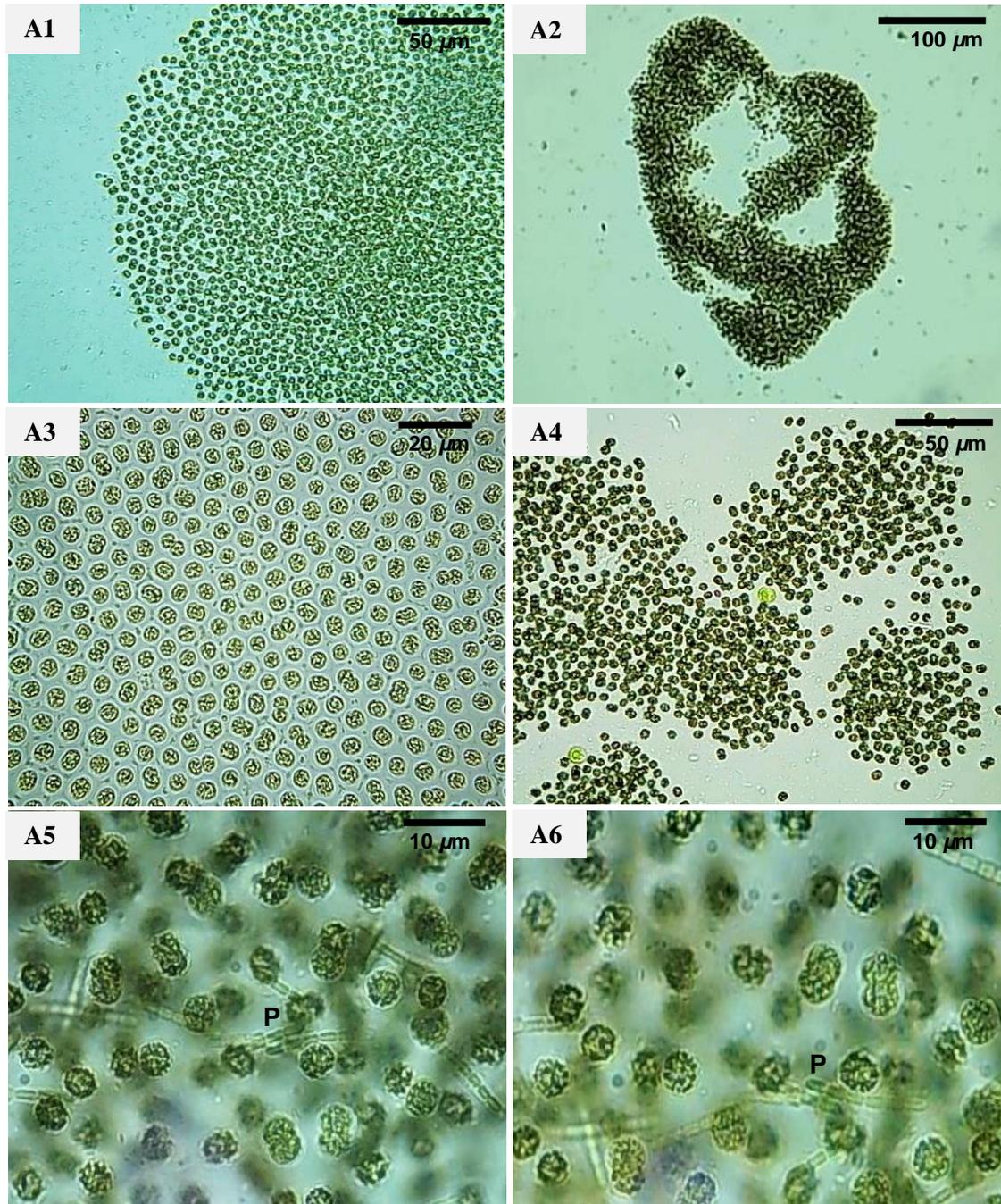
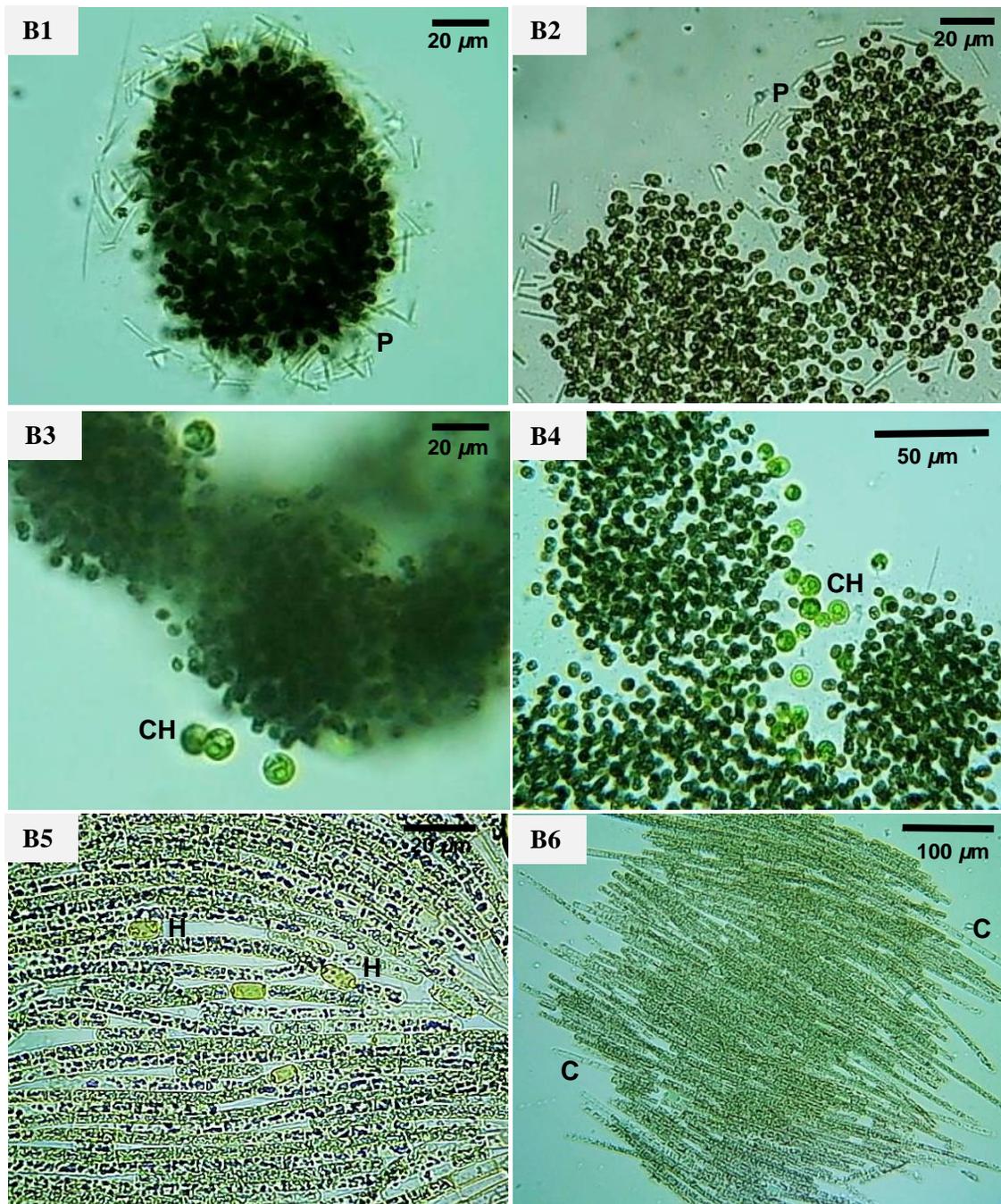


Gráfico 36. Valores promedio de Temperatura in situ, con una ligera tendencia a aumentar y su desviación estándar correspondiente.

## 14. ANEXO IV

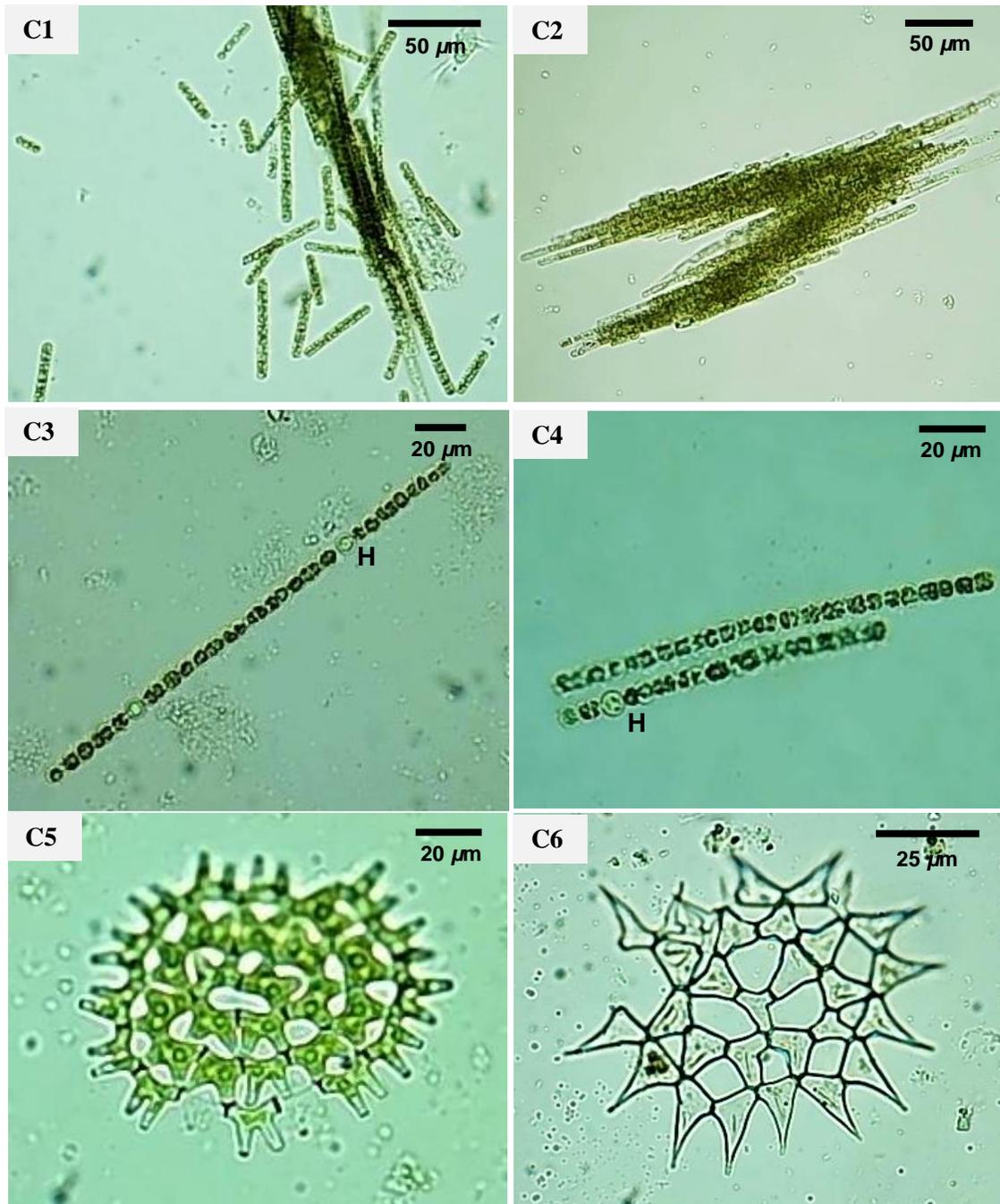


Esta lámina muestra 6 fotografías (A1 – A6) con distintos aumentos del género de cianobacterias *Microcystis* sp. Asimismo en las fotografías A5 y A6 se indica con la letra P la presencia de cianobacterias del género *Pseudanabaena* sp., las cuales suelen habitar en el mucilago de *Microcystis* sp.



En las fotografías **B1** – **B4** se observa nuevamente al género *Microcystis* sp. con cercana interacción con *Pseudanabaena* sp. indicada con la letra **P** en las imágenes **B1** y **B2**; y con la Chlorophyta *Chlorella* sp. de color verde más claro señalada con las letras **CH** (**B3** y **B4**).

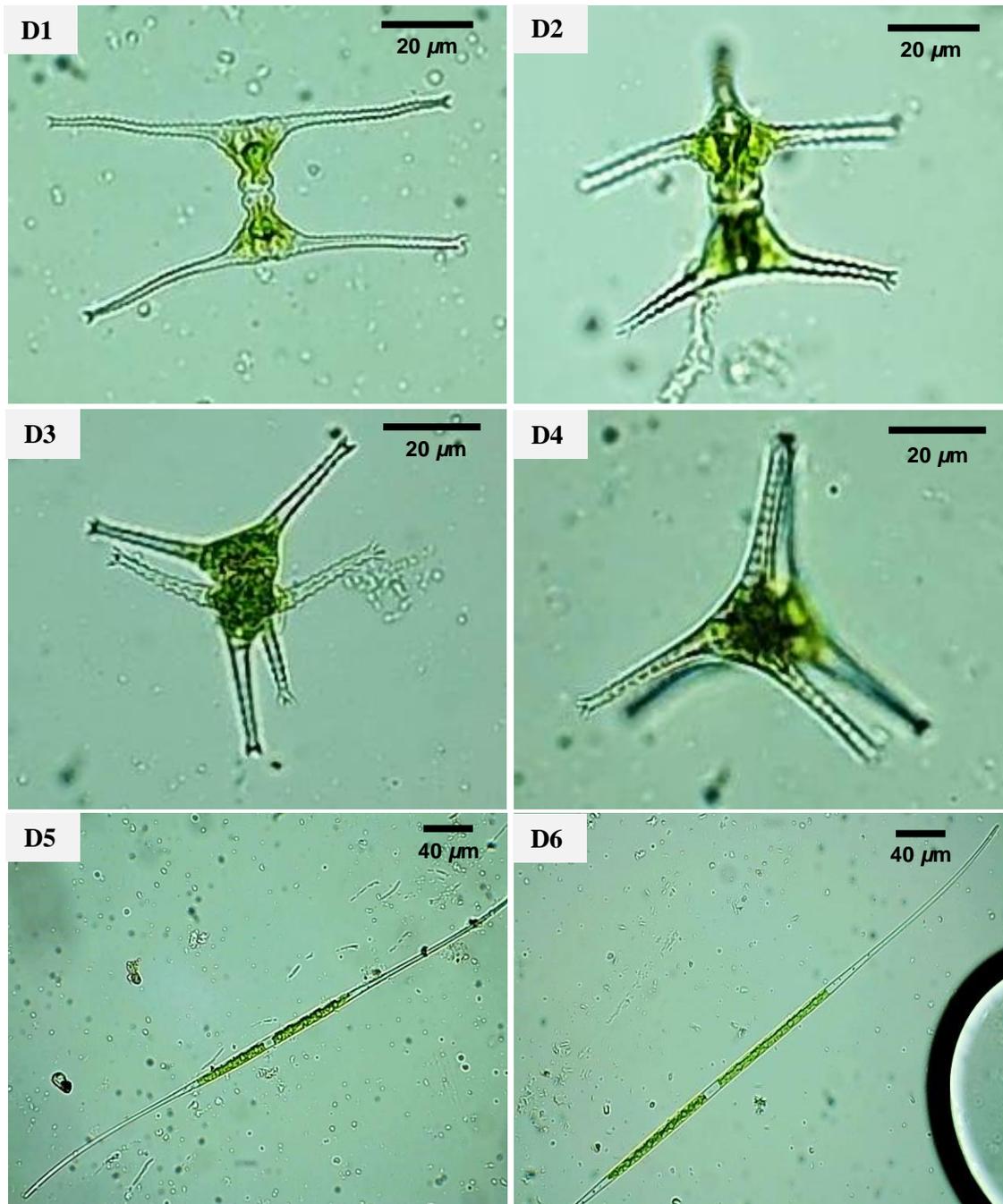
En las siguientes imágenes (**B5** y **B6**) se observa al género de cianobacterias *Aphanizomenon* sp., del que se pueden apreciar estructuras como los heterocisto señalados con la letra **H** y la célula terminal con la letra **C**.



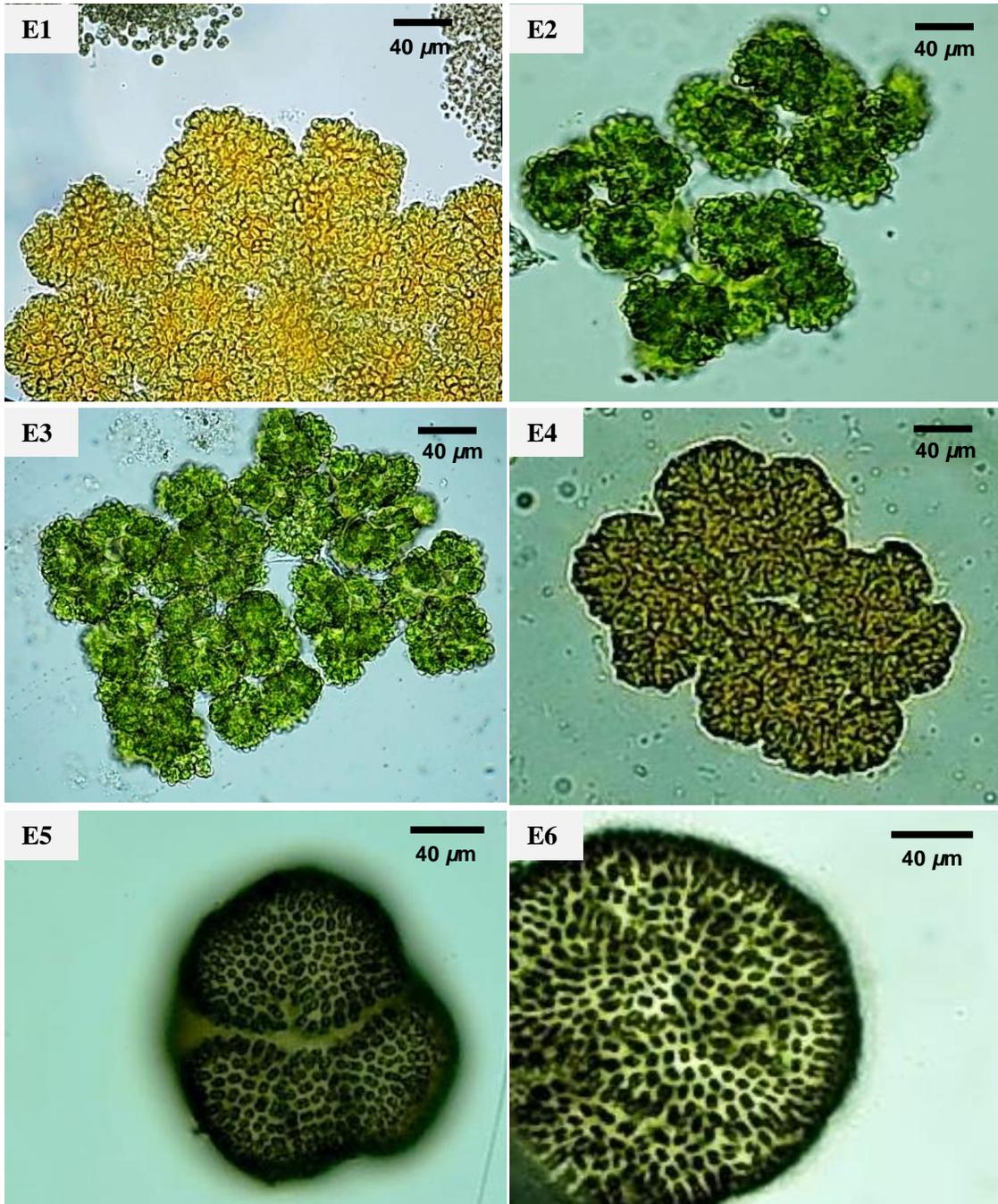
En las imágenes **C1** y **C2** nuevamente se aprecia a colonias del género *Aphanizomenon* *sp.*, con un menor aumento en microscopio.

En las figuras **C3** y **C4** se muestran a cianobacterias del género *Anabaena* *sp.*, y se indica con la letra **H** la ubicación del heterocis.

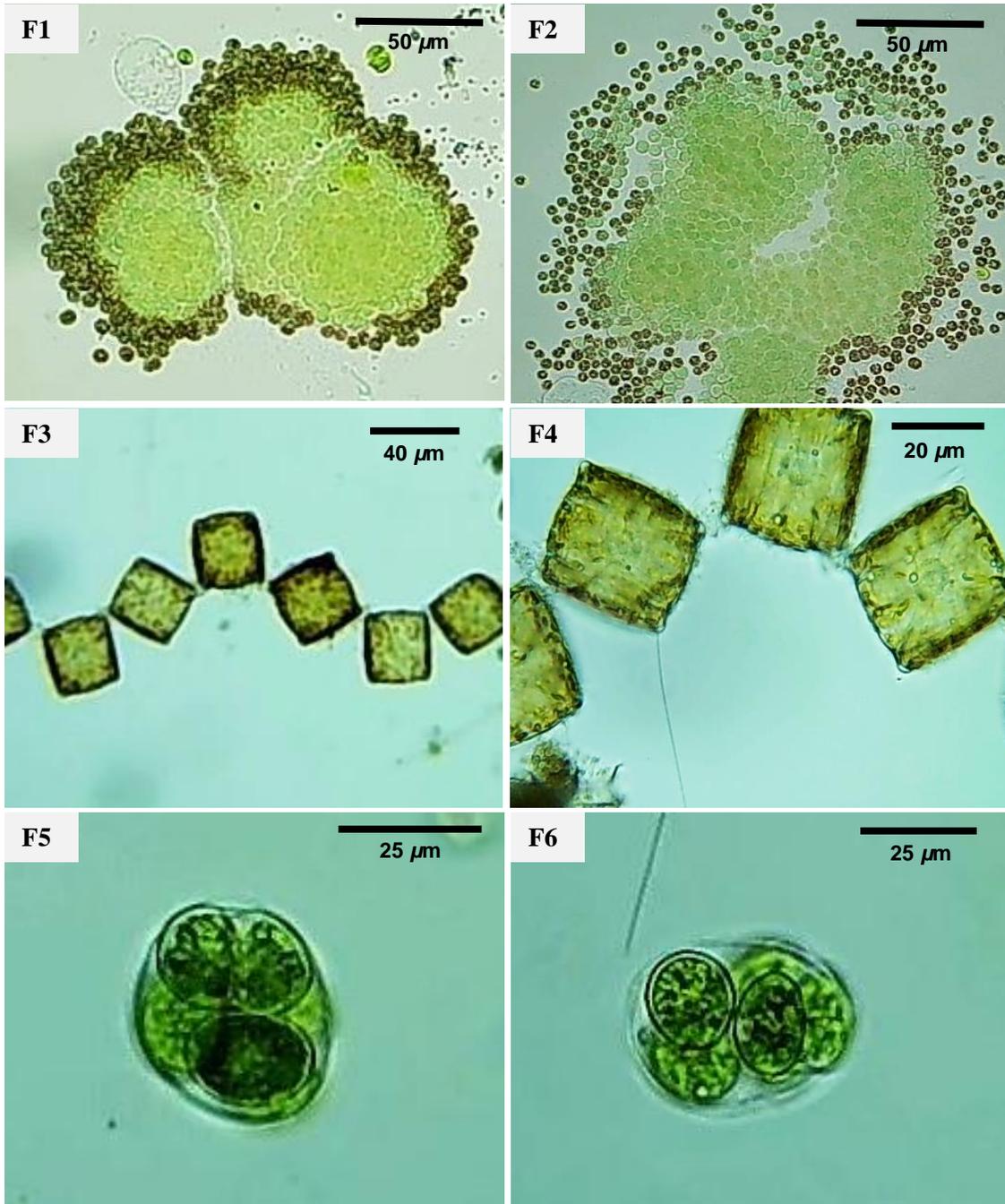
En las fotografías **C5** y **C6** se aprecian dos especies del género *Pediastrum* *sp.*



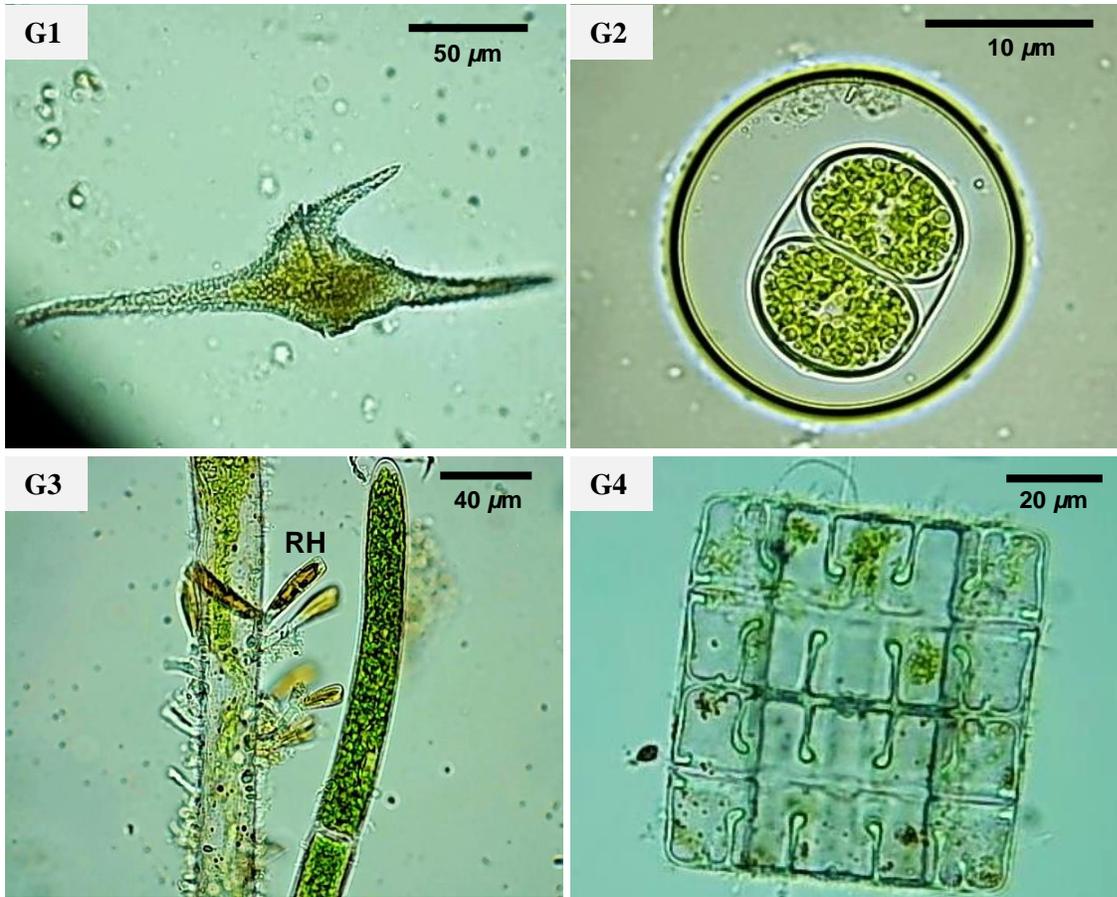
En las fotografías **D1 – D4** se muestran cuatro fotografías en distintas posiciones de organismos pertenecientes al género *Staurastrum* sp.  
 Y en las imágenes **D5** y **D6** se aprecia a representantes del género *Closterium* sp.



En las ilustraciones **E1 – E4** se muestran representantes del género *Botryococcus sp.*, en los cuales se observan los colores marrón claro y verde de este grupo. En las fotografías **E5 y E6** aparece el género *Woronichinia sp.*



En las imágenes **F1** y **F2** se presenta a organismos del género *Coelosphaerium* sp., En las fotografías **F3** y **F4** a organismos del género *Tabellaria* sp., y en **F5** y **F6** al género *Oocystis* sp.



En la figura **G1** se aprecia a un representante del género *Ceratium sp.*, y en la fotografía **G2** al género *Gloeocystis sp.* observado dentro de una burbuja de aire. En la imagen **G3** se muestra al género *Cladophora sp.*, asociado con el género *Rhoicosphenia sp.*, indicado con las letras **RH**. Finalmente en la fotografía **G4** se presenta al género *Terpsinoe sp.*