

Incidencia de cuadros patológicos asociados al género *Microcystis* en el lago de Zirahuén

Hernández-Morales Rubén^{1✉}, Rojo-Soto Georgina Jazmín¹, Aguilera Ríos María Silvia², Ortega Murillo María del Rosario¹, Gómez-Tagle Chávez Alberto³

¹ Laboratorio de Investigación en Biología Acuática "J. Javier Alvarado Díaz". Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Edificio BA. Ciudad Universitaria. Av. Francisco J. Mújica s/n. 58040. Morelia, Michoacán.

² Laboratorio de Investigación en Análisis Químico "Q. Rosa María Torres Ponce de León. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Edificio B4. Ciudad Universitaria. Av. Francisco J. Mújica s/n. 58040. Morelia, Michoacán.

³ Instituto de Investigaciones Sobre los Recursos Naturales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Avenida Juanito Itzicuaru SN, Nueva Esperanza, 58330 Morelia, Mich.

Resumen

El género *Microcystis* ha sido un factor de atención en todo el mundo por su capacidad de generar floraciones tóxicas al producir microcistinas. El principal riesgo tóxico deriva de su actividad promotora tumoral, y su capacidad genotóxica, además de padecimientos hepáticos, gastroentéricos, respiratorios, dérmicos e inflamatorios. En el lago de Zirahuén el cianoprocarionte ha desarrollado en la última década floraciones tóxicas que han impactado a la salud pública. El objetivo del presente trabajo fue monitorear la distribución espacial del género *Microcystis* en un ciclo trianual y determinar su relación con la incidencia de enfermedades hepáticas, gastroentéricas, respiratorias, dérmicas y localizadas. Se revisaron muestras provenientes de seis sitios del Lago de Zirahuén en el municipio de Salvador Escalante, las cuales se obtuvieron en verano en tres profundidades durante un periodo trianual (2013-2015), con botella de Van Dorn y una red cónica de 39 micrómetros. Del análisis de 72 muestras se determinaron seis especies pertenecientes al género *Microcystis*, de las cuales sólo cuatro cepas son potencialmente tóxicas. Se establece que de forma temporal las especies del género indican diferencias significativas en la concentración celular en la columna del agua. El análisis de componentes principales con base en correlaciones, permite delimitar como variables independientes a seis incidencias patológicas de las 53 registradas por el sector salud. Se establece que de los seis padecimientos seleccionados, la hepatitis aguda tipo "A" no presenta una relación significativa con el biovolumen aportado por la concentración celular del género. Sin embargo, el coeficiente de correlación de Spearman indica que algunas cepas mantienen una correlación significativa con la incidencia de diarreas agudas, padecimientos gastrointestinales, así como el desarrollo de otitis del tipo media.

Palabras clave: Microcystaceae, potencial tóxico, salud pública.

Incidence of pathological charts associated to *Microcystis* genus in Zirahuén lake

Abstract

The genus *Microcystis* has been a worldwide attention factor for its ability to generate toxic algal blooms, by microcystins production. The main toxic risk derives from its tumor promoting activity, and its genotoxic capacity, as well as hepatic, gastroenteric, respiratory, dermal and inflammatory conditions. In Zirahuén lake the genus has developed in the last decade toxic blooms that have impacted the public health. The objective of the present study was to monitor the spatial distribution of the genus *Microcystis* in a triannual cycle and determine their relationship with the incidence of hepatic, gastroenteric, respiratory, dermal and localized diseases. Samples from six sites of Lake Zirahuén were collected in the municipality of Salvador Escalante, these samples were obtained in summer at three depths during a three-year period (2013-2015), with bottle of Van Dorn and a conical network of 39 micrometers. From the analysis of 72 samples were determined six species belonging to the genus *Microcystis*, only four strains are potentially toxic. It is established that in a temporary way the species of the genus indicate significant differences in the cellular concentration in the water column. The analysis of principal components based on correlations, allows delimiting as independent variables to six pathological incidences of 53 registered by the health sector. It is established that of all diseases selected, the acute hepatitis type "A" does not present a significant relation with the biovolume contributed by the cellular concentration of the genus. However, the Spearman's correlation coefficient indicates that some strains maintain a significant correlation with the incidence of acute diarrhea, gastrointestinal diseases, as well as the development of otitis media disease.

Key words: Microcystaceae, toxic potential, public health.

Introducción

El género *Microcystis*, prolifera en aguas continentales de todo el mundo, en especial cuando se registra un alto grado de eutrofia (Martín *et al.*, 2004). Sin embargo, se encuentra de forma natural en diversos ecosistemas con un amplio nivel trófico, desde ambientes oligotróficos, hasta eutróficos (Komárek y Anagnostidis, 1999; Johnston *et al.*, 2003; Fonturbel y Castaño-Villa, 2011 y Hernández-Morales *et al.*, 2014), en los cuales puede desarrollarse en una baja densidad hasta proliferar para conformar floraciones densas. Se estima que más del 50% de dichas floraciones son tóxicas (Roset *et al.*, 2001).

Las variantes de estas cianobacterias producen toxinas múltiples, incluyendo la toxina hepática, microcistina

(Bittencourt-Oliveira, 2011). El género *Microcystis* es uno de los principales productores de microcistinas, especialmente las especies *M. aeruginosa* y *M. viridis* (Vela *et al.*, 2007). Las microcistinas (MCs) son toxinas peptídicas de bajo peso molecular, producidas fundamentalmente por los géneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Oscillatoria*, y *Nostoc*. Estructuralmente las MCs presentan una estructura cíclica, formada por siete aminoácidos, siendo MC-LR, MCRR y MC-YR las más estudiadas (Moreno *et al.*, 2003). Existen más de 70 variantes de MCs por modificaciones estructurales, de las cuales la de mayor interés es la microcistina-LR (MC-LR).

Los efectos negativos que se producen como consecuencia de la presencia de cianobacterias potencialmente tóxicas oscilan desde las alteraciones en la calidad del agua hasta la emisión de potentes toxinas (Roset *et al.*, 2001) que llegan a provocar cuadros de intoxicación agudos o crónicos en humanos (Pérez *et al.*, 2008). Se han realizado ensayos en animales de experimentación, los

✉ Ruben Hernández Morales, quercusbios@hotmail.com

Edificio BA. Ciudad Universitaria. Av. Francisco J. Mújica s/n. 58040. Morelia, Michoacán.

cuales han demostrado daño hepático crónico tras una administración oral continua de MCs y la promoción de tumores en piel, hígado y colon de ratón (Moreno *et al.*, 2003). El principal riesgo tóxico deriva de su actividad promotora tumoral, y su capacidad genotóxica. Los estudios epidemiológicos sugieren una mayor incidencia de cáncer de hígado en zonas cuya población está expuesta de forma prolongada a MCs, por consumo de agua contaminada, advirtiéndose la necesidad de conocer otras posibles fuentes de exposición humana, tales como alimentos (Moreno *et al.*, 2003). Los peligros a la salud surgen principalmente por dos vías de exposición: el contacto directo con partes expuestas del cuerpo, o bien por ingesta accidental, la cual incluye el tragar agua con toxina o bien por el consumo de suplementos dietarios algales contaminados (Pérez *et al.*, 2008).

En México no se tienen casos documentados de intoxicación por el género *Microcystis* en humanos por el consumo de agua. Sin embargo, se cuenta con un vasto registro del monitoreo de dicho género en sistemas lacustres del centro de México (Arzate-Cárdenas *et al.*, 2010; Vasconcelos *et al.*, 2010; Tomasini-Ortiz *et al.*, 2012 y Hernández-Morales *et al.*, 2014).

En el lago de Zirahuén se tiene registro de la presencia del género *Microcystis* desde el año de 1994. Sin embargo, ha existido un incremento en su biomasa desde el 2001 a causa de la fluctuación del nivel trófico del sistema, ya que el lago de Zirahuén en la década de los noventa era considerado un sistema oligo-mesotrófico y para el año 2001 su categorización cambió a una condición mesotrófica con tendencia a la eutrofia (Alvarado, 2003). Recientemente, en el lago se han documentado floraciones del género *Microcystis* con efectos adversos sobre la estructura de la comunidad del fitoplancton y en la calidad del agua (Pineda-Reyes *et al.*, 2015). Sin embargo, no se ha desplegado ningún programa de monitoreo que permita asociar la influencia de estas floraciones con la incidencia de cuadros patológicos ligados a la salud pública de las localidades y tenencias del municipio de Salvador Escalante que han registrado un aumento en la recurrencia de hepatitis de tipo "a". Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue monitorear la distribución espacial del género *Microcystis* en un ciclo trianual, y determinar su relación con la incidencia de enfermedades hepáticas, gastroentéricas, respiratorias, dérmicas y localizadas, atribuidas al contacto directo o el consumo accidental del agua contenida en el vaso lacustre.

Area de estudio

El lago de Zirahuén se encuentra a 2075 msnm en la delimitación política correspondiente al municipio de Salvador Escalante, en el estado de Michoacán, en el centro-oeste de México. Dicha zona corresponde a la subprovincia neovolcanica tarasca, dentro de la región hidrológica número 18 denominada río Balsas. Entre las coordenadas 19° 21' 14" y 19° 29' 32" de latitud norte y 101° 30' 33" y 101° 46' 15" de longitud oeste (Madrigal, 2004) (**Figura 1**).

El clima que predomina en la cuenca es de tipo Cw

(w2) i, templado subhúmedo con lluvias en verano, con precipitación invernal inferior al 5%; temperatura media anual de 15.7 °C y un promedio de precipitación anual de 1182.6 mm (Correa *et al.*, 2003).

El registro paleolimnológico indica que durante los últimos 500 años la cuenca del lago de Zirahuén ha presentado impactos antrópicos que han vuelto vulnerable al lago, el cual gradualmente tiende a la eutrofización (Davies *et al.*, 2005). Las principales actividades productivas se encuentran lideradas por agricultura, ganadería intensiva, silvicultura, industria del cobre, industria artesanal, pesca y el recientemente la expansión acelerada del cultivo de aguacate (Ortiz *et al.*, 2010).

El lago presenta una transparencia de 2.26 m ± 0.19, con una amplitud de la zona eufótica de 6.37 m. La columna del agua es oxigenada (5.7 ± 2.03 mg/l), blanda, ligeramente alcalina, con un pH básico 8.55 ± 0.27 (Pineda-Reyes *et al.*, 2015). Con respecto a la limitación nutrimental, el vaso lacustre presenta una marcada limitación por fósforo (Bernal *et al.*, 2015), con una disposición elevada óxidos de nitrógeno como los nitratos. En relación a los usos de agua, destacan las actividades recreativas de contacto primario, el riego agrícola, el uso pecuario, y el abastecimiento de agua para labores domésticas y de aseo personal.

Materiales y métodos

Se eligieron seis sitios de muestreo en el lago de Zirahuén considerando las características morfológicas del sistema y los sitios con incidencias patológicas ligadas al desarrollo de enfermedades hepáticas, gastrointestinales, renales, respiratorias e inflamaciones locales. Los cuales corresponden a: Copándaro, Agua Verde, La Palma, río La Palma, Centro y Embarcadero (**Figura 1**).

Se realizaron muestreos para todos los sitios en el mes de julio durante los años 2013, 2014 y 2015. En cada año se colectaron 72 muestras provenientes de la superficie del cuerpo de agua, la zona limítrofe del metalimnio y el fondo usando el toma muestras de VanDorn. Simultáneamente en cada sitio, se obtuvieron muestras por arrastre horizontal y vertical con una red de 39 micrómetros de abertura de malla, las cuales fueron almacenadas en recipientes de 100 mL de capacidad. Todas las muestras fueron preservadas en formol al 4% neutralizado con bórax, para su posterior determinación en el laboratorio con un microscopio Amscope trinocular de campo claro (Amscope, USA, <http://www.amscope.com>), en una magnificación de 40 y 100 X, siguiendo los criterios taxonómicos de Komárek y Anagnostidis, (1999) y Hernández-Morales *et al.*, (2014), utilizando una tinción diferencial para caracterizar al mucílago y filtros de luz para cuantificación de aerótopos.

La cuantificación se efectuó con un microscopio invertido marca Zeiss (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Alemania, <http://www.zeiss.com.mx>), con base en la técnica de sedimentación de Utermöhl (1958), modificada por Schwoerbel (1975), utilizando lugol como medio auxiliar para acelerar la sedimentación de colonias.

La incidencia de cuadros patológicos de usuarios

que utilizan agua del lago de Zirahuén para actividades intradomiciliarias, fue obtenida del Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica (SUIVE), de las clínicas: Unidad Médica Rural (UMR) 003 Agua Verde, UMR 075 Zirahuén y la UMR 001 Santa Clara del Cobre, del municipio 079 correspondiente a Salvador Escalante, Michoacán, México. La cual fue condensada y validada por el

personal del sector salud bajo procedimientos de vigilancia homogéneos en las unidades médicas.

Para determinar la relación existente entre la abundancia de *Microcystis* y la incidencia de cuadros patológicos se utilizó el biovolumen obtenido por medio del método de Rott (1981), estimando el número de células por colonia de *Microcystis* por conteo directo de las células en subcolonias

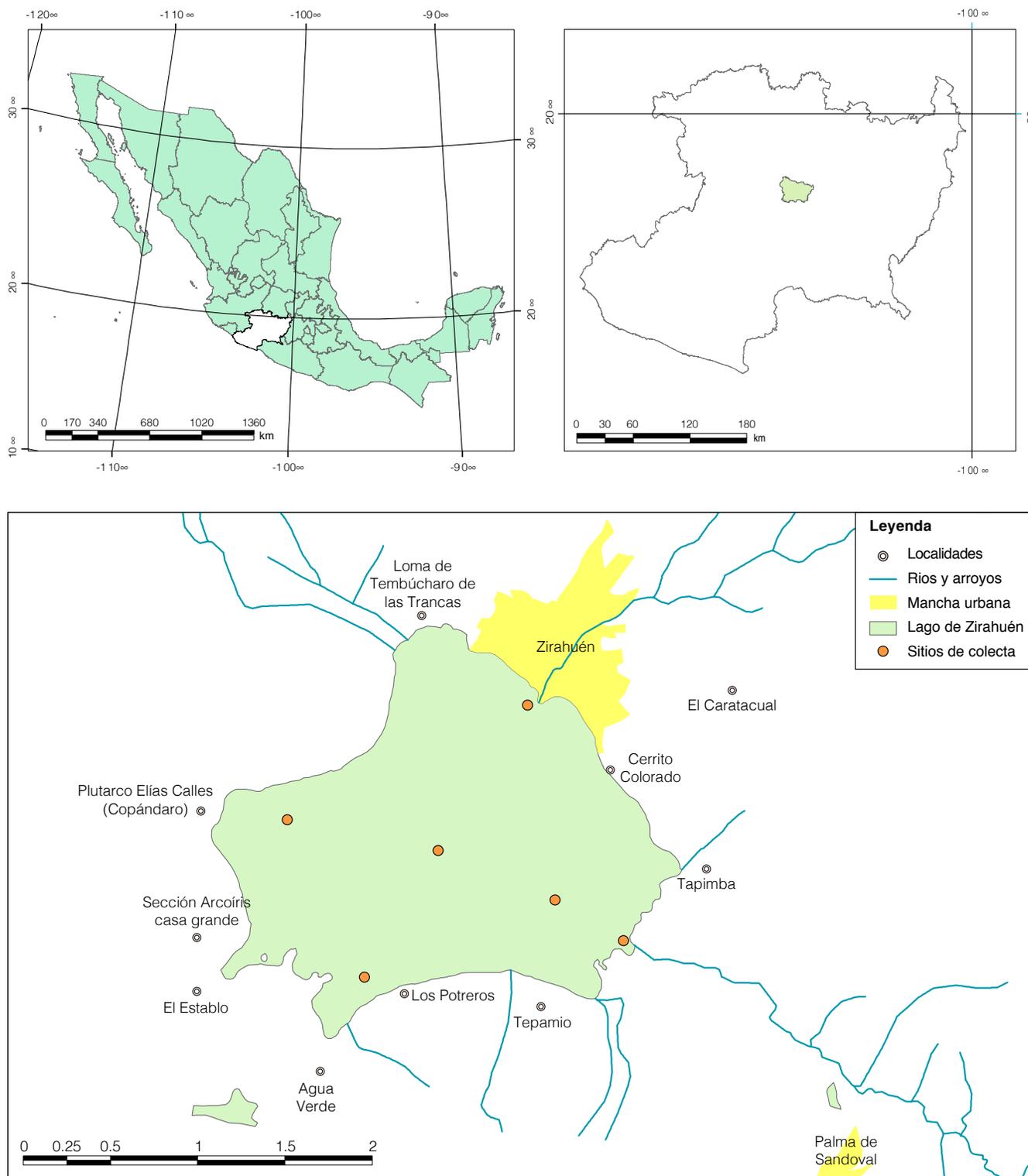


Figura 1. Ubicación geográfica del área de estudio.

en 100 X, la cual se extrapoló al número de subcolonias de tamaño similar, que se presentaron en el campo de recuento.

En cuanto al análisis de datos se condujo *a priori* una prueba de Kolmogorov –Smirnov de bondad de ajuste, mientras que para delimitar las diferencias significativas entre sitios y temporadas de muestreo se condujo un análisis no paramétrico con la prueba de Wilcoxon / Krustall Wallis.

Para delimitar la relación existente entre la incidencia de cuadros patológicos y el biovolumen de *Microcystis* se ejecutó un análisis de correlación de Spearman ($\alpha = 0.05$), con el paquete estadístico JMP v. 6.0. Asimismo, se realizó un análisis de componentes principales (PCA), con base en la correlación de Spearman, para reducir la dimensión de análisis de la investigación *a posteriori*. Simultáneamente a dicho análisis se efectuó un análisis factorial; considerando como variables a los cuadros patológicos y como factores a las especies del género *Microcystis* con potencial tóxico, el cual se condujo bajo un análisis de componentes principales basado en correlaciones.

Resultados

Del análisis de 72 muestras se determinaron seis especies pertenecientes al género *Microcystis* de las cuales sólo cuatro cepas son potencialmente tóxicas (Tabla 1).

La concentración celular del género *Microcystis* fluctuó en el periodo de muestreo, en el cual destaca la presencia de seis especies, para el año 2013, una en el 2014 y dos en el 2015. El registro de diversas cepas en el lago de Zirahuén

delimita la presencia de cuatro especies con potencial tóxico en el primer año de muestreo, entre las que destaca *M. flos-aquae*, precedida por *M. ichthyoblabe* y *M. aeruginosa*. Mientras que las cepas no tóxicas corresponden a *M. firma* y *M. natans*, de las cuales la primera se desarrolla con una importante concentración celular (Figura 2).

En el segundo año de muestreo, decrece considerablemente la abundancia del género en el lago de Zirahuén, con el registro de *M. natans*, considerada como cepa no tóxica. Mientras que en el 2015, se reconocen dos especies de *Microcystis*; una con potencial tóxico (*M. flos-aquae*) y otra de nula toxicidad (*M. firma*), en una concentración celular menor a la expuesta en el primer año de muestreo (Figura 2).

Cabe mencionar que de forma temporal las especies del género indican diferencias significativas en la concentración celular en la columna del agua, con excepción de *M. ichthyoblabe* (Tabla 2). Sin embargo, de forma espacial, el análisis estadístico indica que no existen diferencias significativas entre las diferentes cepas determinadas en la columna del agua de seis sitios (Tabla 3).

A pesar de que no se presentan diferencias significativas entre sitios, la distribución espacial de las especies del género *Microcystis* en el lago de Zirahuén mostró un patrón en la concentración celular, delimitando zonas con mayor potencial de colonización. En el caso de *M. flos-aquae*, una de las cepas tóxicas abundantes en el lago de Zirahuén, se observa en todo el vaso lacustre, con mayor concentración

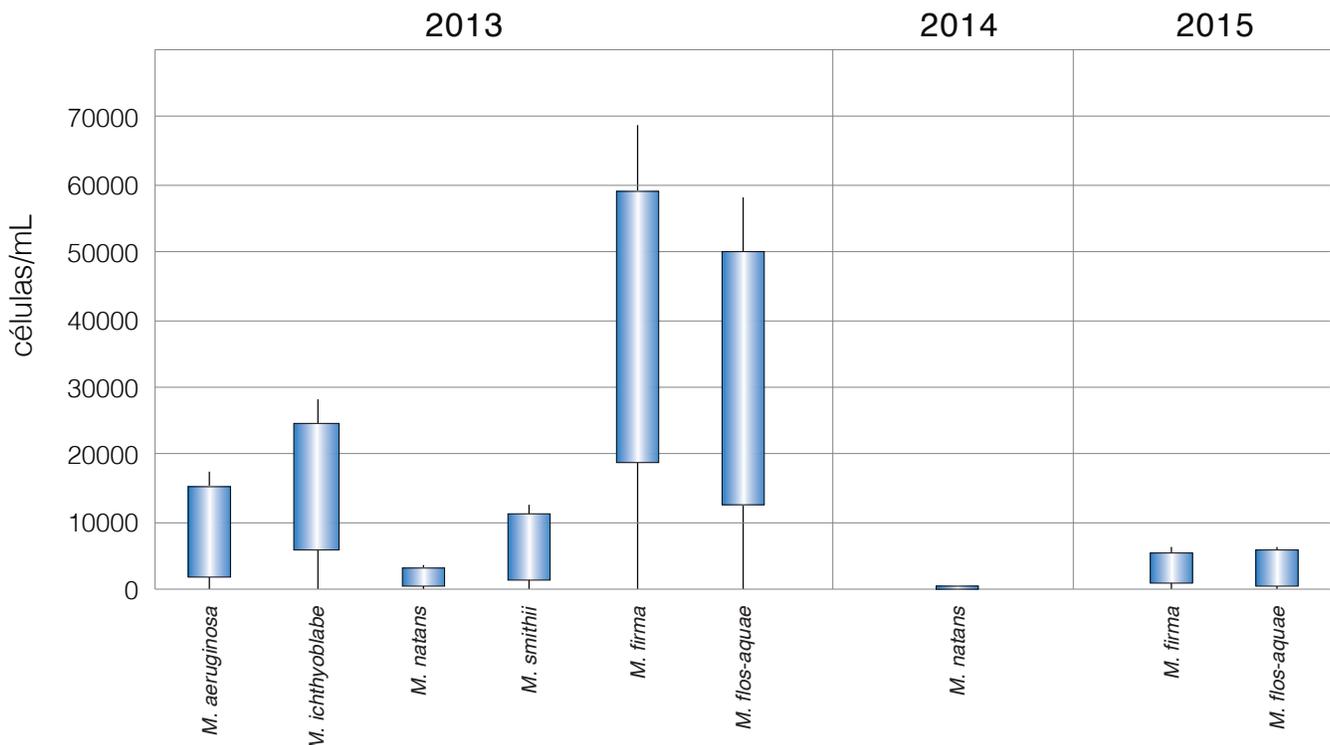


Figura 2. Concentración celular del género *Microcystis* en un ciclo trienal.

Tabla 1. Diagnóstico toxicológico de las especies del género *Microcystis*, determinadas en el lago de Zirahuén.

Especie	Toxina	Referencia
<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kützing) Kützing 1846	MC-LR, MC-YR y MC-RR, MC-FR, MC-WR, y MC-LA	Oteiza et al., (2007) De León y Yunes (2001) Martín et al., (2004) Dias et al., (2009)
<i>Microcystis flos-aquae</i> (Wittrock) Kirchner 1898	MC-YR	Messineo et al., (2006)
<i>Microcystis smithii</i> Komárek et Anagnostidis 1995	MC-RR	Liu et al., (2011)
<i>Microcystis ichthyoblabe</i> Kützing 1843	MC-LR	Carvajal, (2011)
<i>Microcystis firma</i> (Kützing) Schmidle 1902	No se han reportado	
<i>Microcystis natans</i> Lemmermann ex Skuja 1934	No se han reportado	

en el sitio Embarcadero, cercano a la localidad urbana con mayor población en la ribera (**Figura 3**).

La segunda cepa tóxica con mayor abundancia en el sistema (*M. ichthyoblabe*), manifiesta preferencia por la zona limnética, desarrollándose en el sector con mayor profundidad en el lago de Zirahuén, particularmente en el sitio centro y la zona limítrofe a la localidad de Agua Verde (**Figura 4**).

La cepa con mayor potencial de producción de toxinas en el lago, registra una zonificación en la superficie del cuerpo de agua, desarrollándose en todo el lago, con mayor densidad celular en el sitio Embarcadero, adjunto a la localidad de Zirahuén y en los sitios de la sección suroeste del vaso de recepción, correspondientes a las localidades de Agua Verde y Copándaro (**Figura 5**).

La cepa de *M. smithii*, se registra con una mayor concentración celular en los sitios con descargas puntuales de agua residual doméstica sin tratamiento, correspondientes al Embarcadero y la desembocadura del río El Silencio, exponiendo una distribución en la sección norte, este y sureste del espejo de agua, con un registro importante en la localidad de Copándaro (**Figura 6**).

El Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica (SUIVE), de las clínicas: UMR 003 Agua Verde, UMR 075 Zirahuén y la UMR 001 Santa Clara del Cobre, contiene el registro de 53 (n= 11074) incidencias de cuadros patológicos correspondientes a usuarios que utilizan agua del lago de Zirahuén para actividades intradomiciliarias, de las cuales ocho podrían atribuirse al contacto o consumo de agua con presencia de *Microcystis*.

El análisis de componentes principales con base en correlaciones, permite delimitar como variables independientes a seis incidencias patológicas, las cuales en el primer componente (PC1), exhiben una relación positiva entre las incidencias gastrointestinales agudas e infecciones de vías urinarias, con una relación negativa con el desarrollo de cuadros diarreicos agudos, en una variación acumulada del 26.45%. En el segundo componente (PC2), destaca una relación positiva con incidencias gastrointestinales leves, relacionándose éstas con el desarrollo de Otitis de tipo media, en una variación acumulada del 46.82%. Mientras que el tercer componente (PC3), se relaciona positivamente

con los casos reportados de Hepatitis tipo “A”, con una variación acumulada del 63.95% (**Figura 7**).

En cuanto a la relación existente entre el registro de padecimientos patológicos y la incidencia del género *Microcystis*, se establece que de los seis padecimientos seleccionados, no todos presentan una relación significativa con el biovolumen aportado por la concentración celular del género, como la hepatitis aguda (n= 10) de tipo “A” (**Tabla 4**).

Sin embargo el coeficiente de correlación de Spearman indica que algunas cepas mantienen una relación significativa con la incidencia de diarreas agudas (n= 87), padecimientos gastrointestinales (n= 598) que derivan en infecciones intestinales, así como el desarrollo de otitis (n=48) del tipo media (**Tabla 4**). En tanto, el análisis factorial atribuye la incidencia de padecimientos gastrointestinales agudos (n=123) a la cepa de *M. flos-aquae*, así como el desarrollo de cuadros diarreicos agudos a las cepas de *M. aeruginosa*, *M. ichthyoblabe* y *M. smithii* (**Figura 8**).

Discusión

El lago de Zirahuén registra florecimientos del género *Microcystis* desde la primavera del 2002 (Alvarado, 2003). Las causas del incremento de la comunidad de cianoprocariontes tóxicos en el sistema se atribuyen al cambio de su nivel trófico (Pineda-Reyes et al., 2015), debido

Tabla 2. Análisis de Wilcoxon Krustall Wallis en la concentración celular de las especies de *Microcystis* en el lago de Zirahuén durante tres años (2013-2015).

Especie	x ²	g.d.l.	Prob> x ²
<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kützing) Kützing	6.2449	2	0.0440
<i>Microcystis flos-aquae</i> (Wittrock) Kirchner	27.0601	2	<0.0001
<i>Microcystis smithii</i> Komárek et Anagnostidis	18.4323	2	<0.0001
<i>Microcystis ichthyoblabe</i> Kützing	15.8005	2	0.0004
<i>Microcystis firma</i> (Kützing) Schmidle	20.6622	2	<0.0001
<i>Microcystis natans</i> Lemmermann ex Skuja	3.8438	2	0.1463

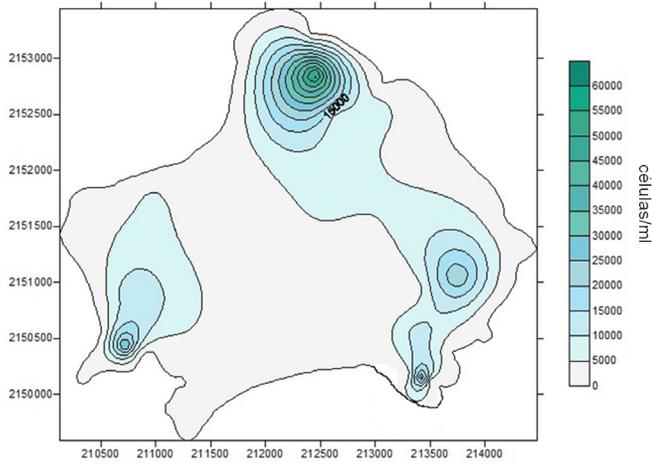


Figura 3. Concentración celular de *M. flos-aquae* en el lago de Zirahuén.

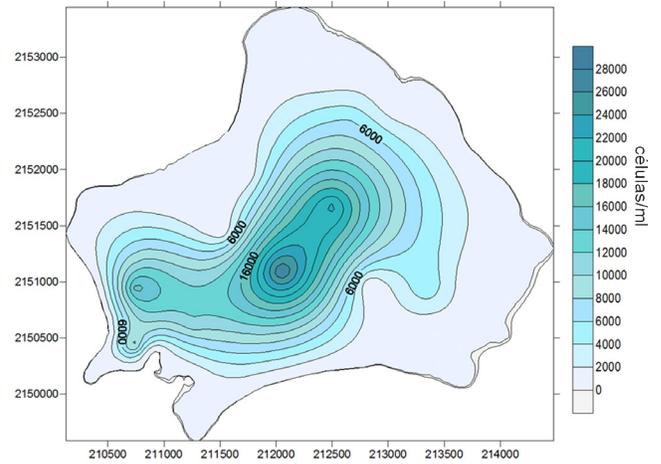


Figura 4. Concentración celular de *M. ichtyoblabe* en el lago de Zirahuén.

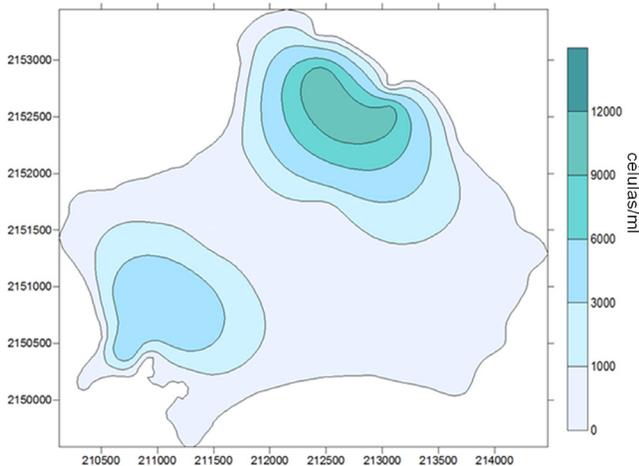


Figura 5. Concentración celular de *M. aeruginosa* en el lago de Zirahuén.

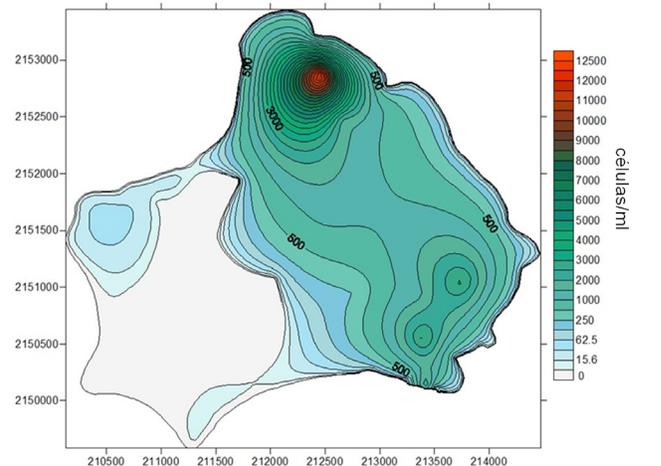


Figura 6. Concentración celular de *M. smithii* en el lago de Zirahuén.

a que el género se había registrado desde la década de los noventa sin desarrollar floraciones nocivas (Alvarado, 1996), cuando el sistema lacustre era considerado de condición oligo-mesotrófica.

Estudios limnológicos en el sistema confirman dicha teoría, debido a que el lago presenta evidencia de una mesotrofia con tendencia a la eutrofia (Pineda-Reyes *et al.*, 2015). Estos cambios han sido delimitados desde 1987 hasta el 2015, periodo en el cual la columna del agua ha presentado una reducción en la lectura del disco de Secchi, (6 m en 1987; 3.45 m en 2010 y 2.26 m en 2015) manifestando una pérdida en la transparencia y un incremento la concentración de clorofila planctónica (2.25 µg/L en 1987; 3-4 µg/L en 2010 y 5.06 µg/L en 2015), la cual exhibe un aumento en la productividad acuática (Pineda-Reyes, 2015 y Bernal-Brooks *et al.*, 2016).

Otro factor que promueve la recurrencia de las especies del género *Microcystis* en el lago de Zirahuén es la limitación nutrimental, como se ha documentado en lagos profundos

del centro de México (Vázquez *et al.*, 2005 y Hernández *et al.*, 2014), en los cuales los florecimientos de cianoprocariontes se encuentran ligados a una fuerte limitación nutrimental por fósforo.

Al respecto Bernal-Brooks *et al.*, (2016), mencionan que el lago de Zirahuén en la última década ha mostrado un progreso en la eutrofización del sistema con un cambio en la limitación nutrimental, ya que presentaba una colimitación entre nitrógeno y fósforo (Hernández *et al.*, 2001 y Bernal-Brooks *et al.*, 2000), la cual controlaba las floraciones algales. Sin embargo, en un estudio reciente se demuestra que actualmente dicha limitación es estacional, ya que en el periodo de secas el sistema se encuentra limitado por nitrógeno, mientras que en el periodo de lluvias, esta relación cambia hasta desarrollarse una limitación por fósforo, la cual favorece la presencia de cianoprocariontes tóxicos (Pineda-Reyes, 2015 y Bernal-Brooks *et al.*, 2016).

El débil equilibrio en la carga nutrimental, es atribuido a la alta sensibilidad del lago a las actividades humanas dentro

Tabla 3. Análisis de Wilcoxon Krustall Wallis en la concentración celular de *Microcystis* en los sitios del lago de Zirahuén.

Especie	χ^2	g.d.l.	Prob > χ^2
<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kützing) Kützing	6.7861	5	0.2370
<i>Microcystis flos-aquae</i> (Wittrock) Kirchner	5.0841	5	0.4057
<i>Microcystis smithii</i> Komárek et Anagnostidis	6.1473	5	0.2922
<i>Microcystis ichthyoblabe</i> Kützing	6.5869	5	0.2532
<i>Microcystis firma</i> (Kützing) Schmidle	7.9520	5	0.1589
<i>Microcystis natans</i> Lemmermann ex Skuja	2.4744	5	0.7803

de la cuenca (Davies *et al.*, 2005), ya que el cambio de uso del suelo con advocación forestal, ha generado el transporte de volúmenes significativos de sedimento, el cual se erosiona en las partes altas y medias de la cuenca depositándose en el lago generando azolvamiento y contaminación (Bravo *et al.*, 2009). Pizzolon (1996) menciona que la composición del fitoplancton está relacionada con el tipo y las modalidades de uso de la tierra en la cuenca hidrográfica, la densidad de habitantes, el tratamiento de los efluentes cloacales, el uso de fertilizantes, la deforestación, la carga animal, entre otros factores, debido a que estos procesos traen como resultado la eutrofización, provocando cambios cualitativos y cuantitativos en las comunidades fitoplanctónicas, lo que da pauta para que las cianofíceas comiencen a desplazar a las diatomeas y clorofíceas, principalmente hacia el final del verano y en otoño por su capacidad de fijar el nitrógeno molecular.

Con respecto a la presencia de diferentes especies del género *Microcystis*, investigaciones anteriores muestran que las especies tienen diferentes preferencias de hábitat,

puesto que *M. firma* ha sido reportada en ecosistemas con degradación y eutrofización extrema (García *et al.*, 1984). *M. ichthyoblabe*, habita en aguas mesotróficas y eutróficas en zonas templadas y tropicales (Sabour, 2002). *M. smithii* ocupa diversos cuerpos de agua en estado eutrófico (Liu *et al.*, 2011). *M. natans* se distribuye principalmente en lagos templados y *M. flos-aquae* se reporta en zonas templadas, como especie subdominante en las floraciones algales (Komárek y Komarková, 2002).

Del total de las especies del género *Microcystis* encontradas en el lago de Zirahuén, se han reportado cuatro con actividad toxigenica; *M. aeruginosa* (Oteiza *et al.*, 2007), *M. flos-aquae* (Messineo *et al.*, 2006), *M. smithii* (Liu *et al.*, 2011) y *M. ichthyoblabe* (Carvajal, 2011). Dichas sepas producen una variedad de toxinas hepatotóxicas y neurotóxicas denominadas microcistinas, de las cuales se han caracterizado más de 70 tipos (Prieto *et al.*, 2008). Los aminoácidos que las conforman son de naturaleza L, de los cuales los más estudiados son: MC-RR (arginina-arginina), MC-YR (tirosina-arginina) y MC-LR (leucina-arginina), siendo ésta última la más tóxica (García, 2009).

Los efectos del florecimiento de cianobacterias en el ecosistema y la salud son variados (Mendoza-Carbajal, 2016), se tienen reportes de intoxicación en animales y efectos adversos en el desarrollo de organismos vegetales, ya que las microcistinas son un potente inhibidor de la serín treonín fosfatasa 1 y 2A (PP1 y PP2A). Se ha documentado que la microcistina-LR inhibe 40 veces más a la PP2A que a la PP1, afectando procesos celulares como la división celular, la síntesis de proteínas, la señalización celular, la contracción muscular, el transporte de calcio entre otros (Vela *et al.*, 2007). Ésta toxina no es capaz de cruzar las membranas celulares, por lo cual su vía de ingreso en vertebrados es oral, canalizándose al torrente sanguíneo por el transportador de ácidos biliares, presente en los hepatocitos y en las células de la mucosa del intestino delgado, concentrándose posteriormente en el hígado, causando hiperfosforilación de proteínas hepáticas (Falconer *et al.*, 1992 y Vela *et*

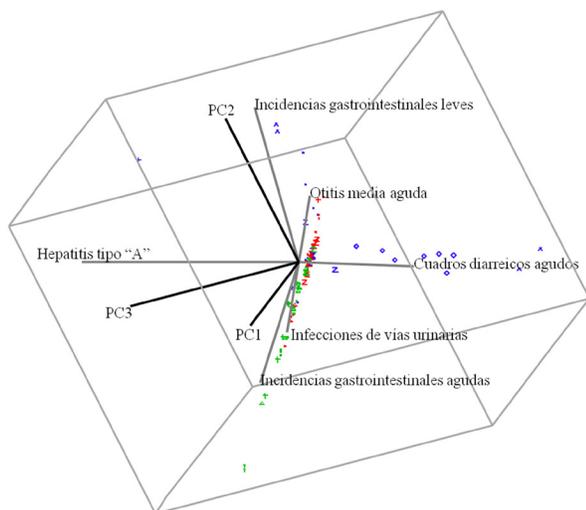


Figura 7. Análisis de componentes principales de las enfermedades relacionadas con la incidencia de las cepas del género *Microcystis*.

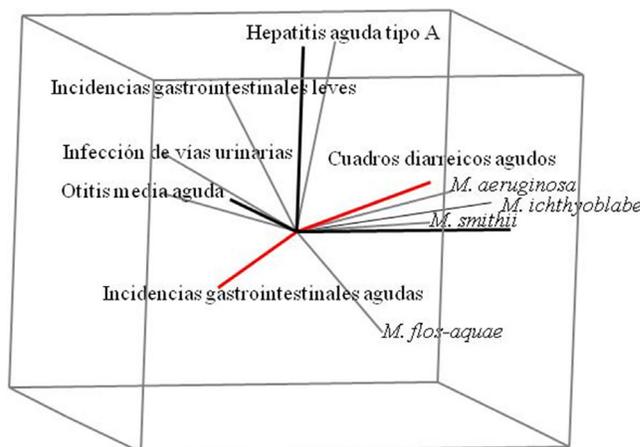


Figura 8. Análisis factorial de las incidencias de cuadros patológicos en el lago de Zirahuén.

Tabla 4. Correlación de Spearman entre la incidencia de cuadros patológicos y la detección de *Microcystis*.

Variable	Factor	Spearman ρ	Prob> ρ
Hepatitis aguda tipo A	<i>M. aeruginosa</i>	0.5145	0.2964
	<i>M. ichthyoblabe</i>	0.5145	0.2964
	<i>M. smithii</i>	0.5145	0.2964
Cuadros diarreicos agudos	<i>M. aeruginosa</i>	0.898	0.0151
	<i>M. ichthyoblabe</i>	0.8575	0.029
	<i>M. flos-aquae</i>	0.8704	0.0241
Incidencias gastrointestinales leves	<i>M. flos-aquae</i>	-0.765	0.0763
Otitis media aguda	<i>M. aeruginosa</i>	-0.8452	0.0341
	<i>M. ichthyoblabe</i>	-0.8452	0.0341
	<i>M. smithii</i>	-0.8452	0.0341
	<i>M. flos-aquae</i>	-0.8533	0.0307
Incidencias gastrointestinales agudas	<i>M. flos-aquae</i>	-0.8356	0.0383

al., 2007), posterior a este proceso el hígado se deforma generando una hemorragia intrahepática, fibrinosis progresiva, tumorigénesis y necrosis (Ito *et al.*, 2003).

En humanos, existen diversos reportes de incidencias patológicas ligadas al consumo o contacto primario de agua con *Microcystis* (Figueiredo *et al.*, 2004). Los primeros reportes corresponden a Australia, Inglaterra, China y África del Sur (Vela *et al.*, 2007). Cronológicamente las afecciones fluctúan de leves a severas. En los Estados Unidos de América se tiene registro de afecciones patológicas en 5000 personas ligadas al consumo de agua potable con microcistinas (Tisdale, 1931), mientras que el 1975 se registró un ataque endotóxico en pacientes de diálisis en Washington DC (Hindman *et al.*, 1975).

Las intoxicaciones, pueden no tener un ataque directo a órganos internos, pero tienen la capacidad de desencadenar cuadros gastroenteríticos leves o agudos que derivan en una infección gastrointestinal, no excluyendo al consumo ya que se han registrado casos por exposición (Schwimmer y Schwimmer, 1968 y Pilotto *et al.*, 1997)

En diversos países se han registrado casos clínicos relacionados a patologías en órganos internos ligadas a la exposición (por actividades recreativas principalmente) o el consumo de agua con toxinas de cianobacterias como: náuseas, vómitos, diarrea, fiebre, infecciones en oído y garganta (Dillenberg y Dehnel, 1960; Carmichael, 1994), cáncer de hígado (Yu, 1995) y cuadros neumónicos por inhalación de la toxina (Turner *et al.*, 1990). Sin embargo, el contacto por tiempo prolongado (2 a 7 días), es un factor para la severidad del cuadro clínico en las siguientes afecciones: diarrea, vómito, síntomas de gripe, erupciones en la piel, úlceras en la boca, fiebre, irritación de los ojos u oídos (Pilotto *et al.*, 1997).

Entre las intoxicaciones severas, uno de los casos dramáticos relacionados a la exposición de una población humana con agua infestada de *Microcystis*, se registró en Brazil, con una mortandad de 56 de 130 pacientes con afecciones en diversa magnitud, relativo al uso de agua en el proceso de diálisis (Jochimsen *et al.*, 1998). En México, se han reportado eventos de florecimientos de cianobacterias particularmente en Jalisco, Veracruz, San Luis Potosí, Querétaro, Guanajuato, Puebla, Oaxaca, Hidalgo, el Estado de México y la Ciudad de México (Ramírez-García *et al.*, 2004; Oliva-Martínez *et al.*, 2008; Arzate-Cárdenas *et al.*, 2010 y Vasconcelos *et al.*, 2010). En Michoacán, la presencia de florecimientos se ha documentado en el lago de Pátzcuaro, Cuitzeo y El cráter de Tacámbaro (Komárek y Komárková-Legnerová 2002; Tomasini-Ortiz *et al.*, 2012 y Hernández *et al.*, 2014). Sin embargo, su influencia con incidencias patológicas no está reportada atribuido a que dichos cuerpos de agua no son utilizados para el abastecimiento de agua potable, o bien para el desarrollo de actividades intradomiciliarias. Algunos de éstos registran como riesgo potencial el uso recreativo por contacto primario y el consumo de alimentos con bioacumulación de cianotoxinas (Ortega *et al.*, 2011; Tomasini-Ortiz *et al.*, 2012 y Hernández *et al.*, 2014).

En el lago de Zirahuén, los florecimientos algales han sido eventos que en el última década se reportan con mayor intensidad (Alvarado, 2003 y Pineda-Reyes *et al.*, 2015), la incidencia de enfermedades relacionadas con los florecimientos de cianobacterias, como primer caso documentado para México, se presentan por el tipo de actividades relacionadas con el agua, debido a que el vital líquido se utiliza para el aseo personal y el desarrollo de actividades primarias intradomiciliarias, el uso recreativo por contacto primario, el riego agrícola y recientemente el riego frutícola (huertas de aguacate), el uso pecuario y la pesca extensiva (Zarate-Vidal, 1995; Bernal-Brooks *et al.*, 2002 y Pineda-Reyes *et al.*, 2015), los cuales han favorecido escenarios en el manejo del vital líquido, incrementando el riesgo por intoxicación en sus diferentes niveles de exposición, durante el florecimiento de cianoprocariontes, ya que el agua se puede ingerir de forma voluntaria o involuntaria (Pérez *et al.*, 2008), además de ingresar a las vías respiratorias por la aspiración de pequeñas gotas en aerosol (Turner *et al.*, 1990), permitiendo el ingreso de toxinas al cuerpo, las cuales se distribuirán eficientemente por el flujo sanguíneo (Vela *et al.*, 2007).

Derivado de un florecimiento intenso de cianoprocariontes en el 2013 en Zirahuén (Gómez-Tagle *et al.*, 2013), se esperaba que la densidad celular de las cepas de *Microcystis* se relacionara significativamente con el desarrollo de hepatitis de tipo A en los usuarios residentes en el lago. Sin embargo, esta relación es alta pero no fue estadísticamente significativa, como lo son los padecimientos gastrointestinales y el desarrollo de otitis, lo cual puede atribuirse al periodo de exposición del paciente a la toxina permitiendo el desarrollo de inflamaciones, un cuadro clínico gastroentérico, y padecimientos

gastrointestinales (Pilotto *et al.*, 1997), sin llegar a una condición fisiológica fatal.

Finalmente, podemos concluir que en el lago de Zirahuén se encontraron seis especies pertenecientes al género *Microcystis* de las cuales *M. aeruginosa* (Kützing) Kützing, *M. flos-aquae* (Wittrock) Kirchner, *M. smithii* Komárek *et* Anagnostidis y *M. ichthyoblabe* Kützing, son potencialmente tóxicas. Se establece que la incidencia de hepatitis aguda tipo "A" en el área de estudio no presenta una relación significativa con el biovolumen del género *Microcystis*. Mientras que *M. aeruginosa*, *M. ichthyoblabe* y *M. smithii* mantienen una correlación significativa con la incidencia de diarreas agudas, así como *M. flos-aquae* presenta una relación significativa con el registro de padecimientos gastrointestinales.

Agradecimientos

Los autores agradecemos a la Coordinación de la Investigación Científica por el soporte económico de los proyectos Diagnóstico rápido del lago de Zirahuén y Evaluación del estado trófico del lago de Zirahuén, Michoacán, México. Agradecemos de forma especial al Dr. Roberto Chávez Silva, a la Dra. Rosa Lilia Paredes Alva, a la Dra. Elvira González Villa y a Lorena Valdivia B. por la estandarización de la información sobre epidemiologías en las localidades que se abastecen de agua potable en el lago de Zirahuén. Así como a Guillermo Arreola director de Impulsora Zirahuén, por las facilidades técnicas en campo al permitirnos utilizar las embarcaciones de la empresa.

Referencias

- Alvarado VR** (1996) Análisis espacio-temporal del fitoplancton en el lago de Zirahuén, Michoacán, México. *Tesis de licenciatura*. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 106 p.
- Alvarado VR** (2003) Dinámica estacional y circadiana del fitoplancton en el lago de Zirahuén, Michoacán, México. *Tesis de Maestría*. Facultad de Biología. UMSNH, 124 p.
- Arzate-Cárdenas MA, Olvera-Ramírez R, Martínez-Jerónimo F** (2010) *Microcystis* toxigenic strains in urban lakes: a case of study in Mexico City. *Ecotoxicology* 19(6): 1157-1165.
- Bernal-Brooks FW, Sánchez CJJ, Bravo IL, Hernández MR, Martínez CAK, Lind OT, Dávalos-Lind L** (2016) The algal growth-limiting nutrient of lakes located at Mexico's Mesa Central. *J. Limnol.* 75(1): 169-178. doi:10.4081/jlimnol.2016.1439
- Bernal-Brooks FW, Dávalos-Lind L, Lind OT** (2002) Assessing trophic state of an endorheic tropical lake: the algal growth potential and limiting nutrients. *Arch. Hydrobiol.* 153: 323-338.
- Bernal-Brooks FW, MacCrimmon HR** (2000) Lake Zirahuén (Mexico): An assessment of the morphometry change based on evidence of water level fluctuations and sediment inputs. In Munawar M, Lawrence SG, IF, Malley DF (eds.), *Aquatic ecosystems of Mexico*. Status and Scope: Leiden, Ecoscience World Monogram Series, Backhuys Publishers, pp 61-76.
- Bittencourt-Oliveira MC, Oliveira MC, Pinto E** (2011) Diversity of microcystin-producing genotypes in Brazilian strains of *Microcystis* (Cyanobacteria). *Braz. J. Biol.* 71: 209-216.
- Bravo ME, Mendoza ME, Medina OLE** (2009) Escenarios de erosión bajo diferentes manejos agrícolas en la cuenca del lago de Zirahuén, Michoacán, México. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía, UNAM.* 68: 73-84.
- Carmichael WW** (1994) The toxins of cyanobacteria. *Sci Am* 270: 78-86.
- Carvajal G** (2011) Ocurrencia de floraciones de cianobacterias tóxicas en cuerpos de agua dulce, Argentina - Estudio de campo y análisis de datos. *Tesis de Maestría*. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata, Argentina, 179 p.
- Correa PG, Vargas F, Bravo TJSL, Figueroa ZMS, Sánchez DG, Antaramian HE, Madrigal SX, Arévalo JAG, Vargas UG, Espinoza GJM, Rieder E, Marett GFJ** (2003) *Atlas Geográfico del Estado de Michoacán*. Editorial Eddissa. S.A. de C.V. México, pp 29-55.
- Davies SJ, Metcalfe SE, Bernal Brooks F, Chacon TA, Farmer JG, MacKensie AB, Newton AJ** (2005) Lake sediments record sensitivity of two hydrologically closed upland lakes in Mexico to human impact. *Ambio.* 34(6): 470-475.
- De León L, Yunes J** (2001) First report of a *Microcystis aeruginosa* toxic bloom in La Plata River. *Environmental Toxicology and Water Quality* 16: 110-112.
- Dias E, Andrade M, Alverca E, Pereira E, Batore MC, Jordan P, Silva MJ** (2009) Comparative study of the cytotoxic effect of microcystin-LR and purified extracts from *Microcystis aeruginosa* on a kidney cell line. *Toxicon* 53: 487-495.
- Dillenberg HO, Dehnel MK** (1960) Toxic waterbloom in Saskatchewan (1959) *Canad. Med. Assoc. J.* 83: 1151-1154.
- Falconer IR, Yeung DSK** (1992) Cytoskeletal changes in hepatocytes induced by *Microcystis* toxins and their relation to hyperphosphorylation of cell proteins. *Chemico-Biological Interactions* 81: 181-196.
- Figueiredo DR, Azeiteiro UM, Esteves SM, Gonzalves FJM, Pereira MJ** (2004) Microcystin-producing "bloom"-s- a serious global public health. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59: 15116.
- Fontúrbel FE, Castaño-Villa GJ** (2011) Relationships between nutrient enrichment and the phytoplankton community at an andean oligotrophic lake: a multivariate assessment. *Ecología Aplicada* 10(2): 75-81.
- García M, Vicente E, Miracle MR** (1984) Sucesión estacional del fitoplancton de la albufera de Valencia. *Anales de Biología* 2(2): 91-100.
- Gómez-Tagle A, Madrigal GX, Israde AI, Hernández MR, Ortega MMR, Alvarado VR** (2013) *Diagnóstico Rápido del lago de Zirahuén*. Coordinación de la Investigación Científica. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 15 p.
- Hernández-Avilés S, Bernal-Brooks F, Velarde G, Ortíz D, Lind OT, Dávalos-Lind L** (2001) The algal growth potential and limiting nutrient of 30 lakes and reservoirs of the Mesa Central of México. *Verh. Int. Verein. Limnol.* 27: 3583-3588.
- Hernández-Morales R, Hidalgo-Anguiano M, Ortega MR, Aguilera RMS** (2014) Factores abióticos que rigen la presencia y permanencia del género *Microcystis* en un lago tropical profundo. *Biológicas* 16(1): 33-42.
- Hindman SH, Favero MS, Carson LA, Petersen NJ, Schonberger LB, Solano JT** (1975) Pyrogenic reactions during haemodialysis caused by extramural endotoxin. *Lancet* 2: 732-734.

- Israde AI, Chacón TA, Segura GMV, Rendón MB, Villarroel MM, Rosas MC** (2010) Invertebrados bentónicos como bioindicadores de la calidad del agua en el Lago de Zirahuén, Michoacán, México. *En Ortiz PCF, Rendón LMB (eds.), Espejo de los dioses: estudios sobre ambiente y desarrollo en la cuenca del lago de Zirahuén*. México. Editorial Morevallado, pp 113-133.
- Ito E, Kondo F, Terao K, Harada HI** (1997) Neoplastic nodular formation in mouse liver induced by repeated intraperitoneal injections of microcystin-LR. *Toxicon* 35(9): 1453-1457.
- Jochimsen EM, Carmichael WW, An JS, Cardo DM, Cookson ST, Holmes CE, Antunes MB, de Melo Filho DA, Lyra TM, Barreto TS, Azevedo SM, Jarvis WR** (1998) Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis centre in Brazil. *The New England Journal of Medicine* 338(16): 873-878.
- Johnston BR, Jacoby JM** (2003) Cyanobacterial toxicity and migration in a mesotrophic lake in western Washington, USA. *Hydrobiologia* 495: 79-91.
- Komárek J, Anagnostidis K** (1999) *Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales*. Editorial Gustav Fischer Germany, 548 p.
- Komárek J, Komárková J** (2002) Review of the European *Microcystis*-morphospecies (Cyanoprokaryotes) from nature. *Czech Phycology, Olomouc* 2: 1-24.
- Komárek J, Komárková-Legnerová J** (2002) Contribution to the knowledge of planktic Cyanoprokaryotes from central Mexico. *Preslia* 74: 207-233.
- Liu Y, Tan W, Wu X, Wu Z, Yu G, Li R** (2011) First report of microcystin production in *Microcystis smithii* Komárek and Anagnostidis (Cyanobacteria) from a water bloom in Eastern China. *Journal Environmental Sciences* 23(1): 102-107.
- Madrigal GX, Novelo RA, Chacón TA** (2004) Flora y vegetación acuáticas del lago de Zirahuén, Michoacán, México. *Acta Botánica Mexicana* 68: 1-38.
- Martín A, Carrillo E, Costas E** (2004) Variabilidad genética para la producción de toxina en poblaciones de *Microcystis aeruginosa* en dos embalses de abastecimiento de Andalucía. *Limnetica* 23(1-2): 153-158.
- Mendoza-Carbajal LH** (2016) El género *Sphaerocavum* y dominancia de *S. brasiliense* y *Microcystis wesenbergii* (Microcystaceae, Cyanophyceae) en la floración algal de la laguna Huacachina, Perú. *Revista Peruana de Biología* 23(1): 53-60.
- Messineo V, Matteia D, Melchiorrea S, Salvatorea G, Bogiallib S, Salzanoc R, Mazzac R, Capellic G, Brunoa M** (2006) Microcystin diversity in a *Planktothrix rubescens* population from Lake Albano (Central Italy). *Toxicon* 48(2): 160-74.
- Moreno I, Repetto G, Cameán A** (2003) Interés toxicológico de las microcistinas. *Rev. Toxicol.* 20: 159-165.
- Oliva-Martínez MG, Rodríguez-Rocha A, Lugo-Vázquez A, Sánchez-Rodríguez MR** (2008) Composición y dinámica del fitoplancton en un lago urbano hipertrófico. *Hidrobiológica* 18(1): 752-761.
- Ortega MMR, Alvarado VR, Sánchez HJD, Hernández MR, Arredondo OM, Martínez SI** (2011) Abundancia y distribución del fitoplancton en un lago hiposalino, Michoacán, México. *Biológicas* 13(2): 15-20.
- Ortiz PCF, Infante JZT, Navarro CJCL** (2010) Reconsiderando la vocación económica de Zirahuén desde el valor económico del servicio ambiental recreativo. *Revista Nicolaita de Estudios Económicos* 5(2): 25-58.
- Oteiza JM., Ouahid Y, Baron A, Andrinolo D, Echenique R, Giannuzzi L, Caneo M, Fernández F** (2007) Utilización de marcadores 5 moleculares para la detección de *Microcystis* potencialmente tóxicas en cuerpos de agua de la provincia de Buenos Aires. *Primer reporte. Ciencia Forense Latinoamericana* 1: 24-31.
- Pérez DS, Soraci AL, Tapia MO** (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.
- Pilotto LS, Douglas RM, Burch MD, Cameron S, Beers M, Rouch GR, Robinson P, Kirk M, Cowie MT, Hardiman S, Moore C, Attwell RG** (1997) Health effects of exposure to cyanobacteria (blue-green algae) due to recreational waterrelated activities. *Aust. N. Zealand J. Public Health* 21: 562-566.
- Pineda-Reyes A, Hernández-Morales R, Ortega-Murillo MR, Lara López MA, Martínez-Martínez M** (2015) Caracterización fisicoquímica del lago de Zirahuén durante un florecimiento de cianoprocariontes. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias* 6 (12): 1787-1792.
- Pizzolon L** (1996) Importancia de las cianobacterias como factor de toxicidad en las aguas continentales. *Interciencia* 21(6): 239-245.
- Ramírez-García P, Martínez-Romero E, Martínez-Salgado MD, Eslava-Campos CA** (2004) *Cianobacterias, microorganismos del fitoplancton y su relación con la salud humana*. Instituto Nacional de Ecología. México, pp 1-18.
- Roset J, Aguayo S, Muñoz MJ** (2001) Detección de cianobacterias y sus toxinas. *Una revisión. Rev. Toxicol.* 18: 65-71.
- Rott E** (1981) Some Results from Phytoplankton Counting Intercalibrations. *Schweizerische Zeitschrift fur Hydrologie-Swiss. Journal of Hydrology* 43: 34-62.
- Sabour B, Loudiki M, Oudra B, Vasconcelos V, Martins R, Oubraim S, Fawzi B** (2002) Toxicology of a *Microcystis ichthyoblabe* waterbloom from lake oued Mellah (Morocco). *Environ Toxicol.* 17(1): 24-31.
- Schwimmer M, Schwimmer D** (1968) Medical aspects of phycoogy. In Jackson DF (ed.), *Algae, Man and the Environment*. Syracuse University Press, Syracuse, Nueva York, pp 279-358.
- Tisdale ES** (1931) Epidemic of intestinal disorders in Charleston, W. Va., occurring simultaneously with unprecedented water supply conditions. *Am. J. Public Health* 21: 198-200.
- Tomasini-Ortiz AC, Moeller-Chávez G, Sánchez JJ, Bravo LA** (2012) Cianobacterias y cianotoxinas en el lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales: Investigación, desarrollo y práctica* 5(2): 93-101.
- Turner PC, Gammie AJ, Hollinrake K, Codd GA** (1990) Pneumonia associated with cyanobacteria. *British Medical Journal* 300: 1440-1441.
- Vasconcelos V, Martins A, Vale M, Antunes A, Azevedo J, Welker M, López O, Montejano G** (2010) First report on the occurrence of microcystins in planktonic cyanobacteria from Central Mexico. *Toxicon* 56(3): 425-431.
- Vázquez G, Jiménez S, Favila ME, Martínez A** (2005) Seasonal dynamics of the phytoplankton community and cyanobacterial dominance in a eutrophic crater lake in Los Tuxtlas, México. *Ecoscience* 12(4): 85-93.
- Vázquez G, Ortega B, Davies SJ, Aston BJ** (2010) Registro sedimentario de los últimos ca. 17000 años del lago de Zirahuén, Michoacán, México. *Boletín de la Sociedad Geológica*

Mexicana 62(3): 325-343.

Vela L, Sevilla E, Martín B, Pellicer S, Bes MT, Fillat MF, Peleato ML (2007) Las microcistinas. *Rev. Real Academia de Ciencias.* 62: 135-146.

Yu SZ (1995) Primary prevention of hepatocellular carcinoma. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 10: 674-682.

Zarate-Vidal MC (1995) La Unión de Comuneros Emiliano Zapata (UCEZ), sus acciones y percepciones (1988-1993). *Relaciones* 61-62: 57-79.