



## Fluctuaciones temporales en el fitoplancton y contenido de microcistinas intracelulares en cuatro lagos Nicaragüenses

Silvia Elena Hernández González<sup>1</sup>, Ingemar Ahlgren<sup>2</sup> y Gunnel Ahlgren<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro para la Investigación en Recursos Acuáticos de Nicaragua (CIRA/UNAN-Managua).

<sup>2</sup>Profesores eméritos jubilados del Área de Limnología, Departamento de Ecología y Genética, Universidad de Uppsala, Norbyvägen 18 D, SE-752 36 Uppsala, Sweden.

### RESUMEN

La contaminación de los ecosistemas acuáticos por el enriquecimiento de nutrientes permite la proliferación de microalgas o florecimientos que pueden tener potencial tóxico si los grupos dominantes son cianobacterias. Por lo que este estudio tuvo como objetivos conocer las fluctuaciones temporales de las especies fitoplanctónicas presentes en cuatro lagos nicaragüenses (Masaya, Tiscapa, Cocibolca y Xolotlán), con énfasis en las cianobacterias y estimar su potencial tóxico por microcistinas. Se realizaron 11 muestreos en los lagos de interés en los que se analizaron el contenido de Clorofila *a*, fitoplancton cuantitativo, identificación taxonómica hasta el nivel de género y especies así como el contenido de microcistinas por ELISA. La Clorofila *a* osciló entre un valor no detectado en el Lago Xolotlán (noviembre) y 37 µg/l detectados en Tiscapa (agosto). Los géneros fitoplanctónicos más representativos detectados durante la mayor parte del período muestreado en tres de los cuatro lagos nicaragüenses estudiados (Cocibolca, Tiscapa y Masaya) fueron cianobacterias,

entre los que se distinguen *Anabaenopsis*, *Merismopedia*, *Chroococcus* y *Lyngbya*. El Lago Xolotlán presentó dominancia de taxas de diatomeas (*Stephanodiscus sp*, *Synedra sp*, y *Cyclotella meneghiniana*). Los resultados de microcistinas muestran valores bajos (< 0.003 hasta 0.069 µg/l) en los cuatro lagos estudiados, siendo los lagos Xolotlán y Masaya los que presentaron las mayores concentraciones en los meses de mayo y julio, respectivamente. Al comparar estos resultados con los reportados para ecosistemas lacustres del mundo para el mismo período se puede inferir un bajo potencial tóxico por microcistinas en los cuatro lagos nicaragüenses. Sin embargo, no se puede descartar la toxicidad debida a otras toxinas naturales dada la dominancia de géneros de cianobacterias por lo que se recomienda seguir realizando monitoreos de este tipo e incluir en el conteo a picocianobacterias.

Palabras clave: Cianobacterias, toxinas, microcistinas, Clorofila *a*, florecimientos algales.

### <sup>1</sup> Datos del autor

Teléfono: +(505) 88521679

Correo electrónico: [silvaniaelena@hotmail.com](mailto:silvaniaelena@hotmail.com) (S. Hernández)\*.

[ingemar.ahlgren@ebc.uu.se](mailto:ingemar.ahlgren@ebc.uu.se) (I. Ahlgren)

[gunnel.ahlgren@ebc.uu.se](mailto:gunnel.ahlgren@ebc.uu.se) (G. Ahlgren).

## ABSTRACT

Chlorophyll a ranged between a value not detected in Lake Xolotlán (November) and 37  $\mu\text{g} / \text{l}$  detected in Tiscapa (August). The most representative phytoplankton genera detected during most of the period sampled in three of the four Nicaraguan lakes studied (Cocibolca, Tiscapa and Masaya) were cyanobacteria, among which are distinguished *Anabaenopsis*, *Merismopedia*, *Chroococcus* and *Lyngbya*. Lake Xolotlán showed dominance of diatoms taxa (*Stephanodiscus* sp, *Synedra* sp, and *Cyclotella meneghiniana*). The results of microcystins show low values ( $<0.003$  to  $0.069 \mu\text{g} / \text{l}$ ) in the four lakes studied, being the lakes Xolotlán and Masaya those that presented the

highest concentrations in the months of May and July, respectively. When comparing these results with those reported for world lacustrine ecosystems for the same period, a low toxic potential can be inferred by microcystins in the four Nicaraguan lakes. However, the toxicity due to other natural toxins can not be ruled out given the dominance of cyanobacterial genera, so it is recommended to continue carrying out monitoring of this type and include in the peak-cyanobacteria count.

Key words: Cyanobacteria, toxins, microcystins, Chlorophyll a, algal blooms

## INTRODUCCIÓN

La contaminación de los ecosistemas acuáticos por el enriquecimiento de nutrientes provocan grandes cambios físicos-químicos que permiten la proliferación de microalgas planctónicas en las capas superficiales de los lagos en ciertos períodos del año. Entre las microalgas, las cianobacterias se distinguen por ser capaces de presentar altas densidades y por producir un amplio rango de metabolitos con carácter tóxico para los demás organismos. Se estima que el 50% de las floraciones de cianobacterias en aguas a nivel mundial son tóxicas (Roset, Aguayo, & Muñoz, 2001). Por ejemplo, la especie *Microcystis aeruginosa* es conocida por producir microcistinas, toxinas hepatotóxicas (Peleato & Gómez-Moreno, 2011).

Los dos grandes lagos de Nicaragua (Cocibolca y Xolotlán) también presentan el problema de recibir aportes de nutrientes en altas concentraciones provenientes del desarrollo de diferentes actividades (urbano, industrial, ganadería y agricultura) en la parte alta de sus cuencas y alrededores. De igual manera, el lago de Masaya está influenciado

por el efluente proveniente de las lagunas de estabilización donde se tratan las aguas residuales domésticas e industriales de la ciudad de Masaya, encontrándose que la comunidad fitoplanctónica fluctúa estacionalmente, provocando en ciertos períodos del año florecimientos de algunos géneros y especies de cianobacterias (*Anabaenopsis raciborskii* y *Microcystis*) (Hooker, Chow, & Saavedra, 1992). Similarmente, el lago de Tiscapa está influenciado por un cauce que atraviesa la ciudad de Managua, introduciendo al ecosistema altas cantidades de sedimentos y contaminantes los que provocan cambios en la estructura comunitaria fitoplanctónica y dominancia del género *Microcystis* (Rivas, 1997).

Basado en los hallazgos antes mencionados, este estudio tuvo el propósito de conocer las fluctuaciones temporales de las especies fitoplanctónicas presentes en cuatro lagos nicaragüenses, con énfasis en las cianobacterias y estimar su potencial tóxico por microcistinas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron 11 muestreos mensuales (enero a noviembre, 2000) en las superficies costeras de cuatro lagos Nicaragüenses (Masaya, Tiscapa, Cocibolca y Xolotlán) para la toma de muestras de fitoplancton. La recolecta se realizó utilizando un frasco de plástico de 1000 ml, colocándose posteriormente en un termo con hielo para su traslado al laboratorio. La identificación de taxas fitoplanctónicas se realizó utilizando un microscopio compuesto Laborlux D y claves taxonómicas adecuadas (Referencia de las claves). La determinación de concentraciones algales en individuos por ml (ind/ml), se realizó por el método de sedimentación (Utermöhl, 1958), con la ayuda de un microscopio invertido Olympus CK40. Para determinar la biomasa como Clorofila-a, se utilizó el método de Nusch y Palme (1975), a través de espectrofotometría UV-VIS.

Para determinar las concentraciones intracelulares de microcistinas se filtraron entre 100 y 500 ml de muestra de agua dependiendo de la biomasa algal utilizando filtros Whatman GF/C de 0.47 mm de diámetro. Los filtros fueron enviados al Laboratorio de Limnología del Departamento de Ecología y genética de la Universidad de Uppsala en Suecia para su posterior extracción y análisis con un kit EnviroGard® para realizar el Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA por sus siglas en inglés, Enzyme-linked immunosorbent assays). La extracción de las microcistinas se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Spoof, Vesterkvist, Lindholm y Meriluoto (2003). El ensayo de ELISA se realizó por duplicado y siguiendo las instrucciones del kit.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Fitoplancton en Lago Masaya

En la figura 1a se muestra la dominancia numérica de cuatro géneros de cianobacterias

*Anabaenopsis*, *Chroococcus*, *Merismopedia*, y *Lyngbya* encontrados en el Lago de Masaya durante los muestreos realizados en el año 2000. En el mes de enero hubo dominancia del género *Merismopedia* (65%) y en mayo de *Chroococcus* (96%), los que fueron reemplazados por el género *Anabaenopsis* en los meses de junio a octubre con una contribución relativa desde 65 hasta 100%. El mes de noviembre se mostró un descenso en la contribución porcentual de *Anabaenopsis* (42%) presentándose co-dominancia con el género *Microcystis* (50%). En los meses más secos del año (marzo y abril) los dos géneros con mayor contribución fueron las diatomeas *Fragilaria* y *Nitzschia*.

Esta sucesión entre diatomeas y cianobacterias ya ha sido reportada para el Lago Masaya entre julio de 1988 y abril de 1990. García y Pacheco (1991) reportaron la dominancia de especies planctónicas de diatomeas y poca contribución de cianobacterias filamentosas durante la época seca, coincidiendo con los valores máximos de abundancia del zooplancton. **Fitoplancton en Lago Tiscapa**

En la figura 1b se puede observar la dominancia en la contribución porcentual en el Lago Tiscapa del género *Anabaenopsis* durante cuatro meses: abril (64%), mayo (100%), junio (47 %), julio (99%) y agosto (96%). El dominio de este género coincide con el inicio de la época lluviosa donde probablemente la entrada de nutrientes al lago, favorece el florecimiento de algunas especies pertenecientes a las cianobacterias, las cuales son resistentes a cambios ambientales y condiciones adversas. Sin embargo en el mes de septiembre el género dominante es la cianobacteria *Merismopedia* (84%). Entre los meses febrero-marzo no se observó dominancia del grupo de las cianobacterias.

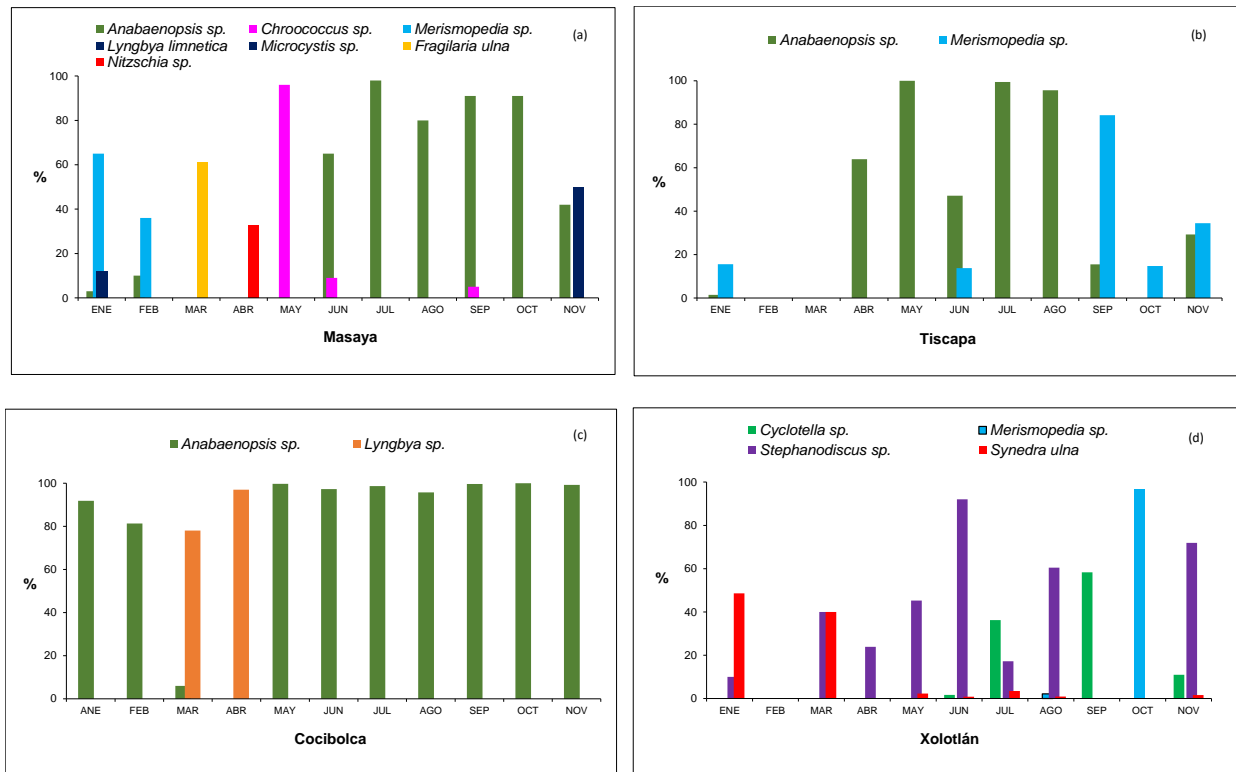


Figura 1. Taxas fitoplanctónicas (cianobacterias y diatomeas) más representativas encontradas en cuatro lagos Nicaragüenses Masaya (a), Tiscapa (b), Cocibolca(c) y Xolotlán (d). Enero a noviembre, 2000.

### Fitoplancton en Lago Cocibolca

El análisis de fitoplancton del lago Cocibolca (Fig. 1c), mostró dominancia de géneros de cianobacteria durante todo el período muestreado. *Anabaenopsis sp.*, género característico de ambientes contaminados, dominó en nueve de los once meses muestreados con un porcentaje desde el 81% hasta 100%. Sin embargo este género fue reemplazado por *Lyngbya* que dominó en los meses más secos (marzo 78% y abril 97%).

### Fitoplancton en Lago Xolotlán

El Lago Xolotlán presentó dominancia proveniente principalmente de taxas de diatomeas (*Stephanodiscus sp.*, *Synedra sp.*, y *Cyclotella meneghiniana*) durante el período muestreado (Fig. 1d). *Stephanodiscus sp.* estuvo presente en ocho muestreos de los once realizados con una abundancia relativa desde 10% (marzo) hasta 92% (junio), siendo

dominante en mayo, junio, agosto y noviembre. *Cyclotella sp.* fue dominante en septiembre (60%) y fue importante en julio (40%). *Synedra ulna* fue dominante en enero (48%) e importante en mayo (40%). Sin embargo, en el mes de octubre (período lluvioso) dominó el género *Merismopedia* del grupo de las cianobacterias (97%) sobre el resto de las especies.

En el análisis de las muestras no fueron tomados en cuenta los organismos unicelulares con tamaños menores a 0.5 µm (picoplancton), probablemente esta sea una de las razones por lo que no fue reportado el género *Microcystis*. Estudios realizados en este lago entre los años 1986-1988 reportaron un dominio notorio de las cianobacterias en todo el lago, principalmente de la especie *Microcystis aeruginosa*. Sin embargo, en este estudio se han observado cambios drásticos en la composición algal, perdiendo su

notoriedad las colonias de especies de cianobacterias.

Según la evaluación rápida de los recursos hídricos realizada en 1997, basándose en estudios anteriores y estimaciones previas llevadas a cabo en catorce cuerpos de agua nicaragüenses, se encontró que en el 57% de estos, estaban dominados numéricamente por el grupo de las *cianobacterias* con los géneros *Cylindrospermopsis*, *Oscillatoria*, *Microcystis*, *Spirulina* y *Chroococcus* (MARENA, 1997).

### Clorofila *a*

En la figura 2 se muestran los resultados de Clorofila *a* determinados en cada uno de los lagos estudiados. Los valores oscilaron entre un valor no detectado en el Lago Xolotlán (noviembre) y máximos entre 35,00 y 37,29  $\mu\text{g/l}$  detectados en Tiscapa (julio y agosto). Las concentraciones medidas en orden ascendente tuvieron una media y desviación estándar de  $5,76 \pm 3,67 \mu\text{g/l}$  para el Xolotlán,  $7,61 \pm 4,72 \mu\text{g/l}$  para Masaya,  $9,28 \pm 2,98$

$\mu\text{g/l}$  para el Cocibolca y de  $12,93 \pm 11,81 \mu\text{g/l}$  para Tiscapa.

Las concentraciones de clorofila a reportadas para el Xolotlán fueron generalmente las más bajas de todos los lagos estudiados en el período analizado, presentando sus máximos en los meses lluviosos de mayo y agosto dominados por la diatomea *Stephanodiscus sp.* El lago de Masaya presentó su máxima concentración de Clorofila *a* en el mes de marzo (época seca) dominado por la diatomea *Fragilaria ulna* seguido de los meses de lluvia agosto y octubre dominados por la cianobacteria *Anabaenopsis*. El lago Cocibolca presentó los mayores valores en los meses de junio (época lluviosa) y abril (época seca), en ambos meses hubo dominio del género de la cianobacteria *Anabaenopsis*. El lago de Tiscapa presentó sus mayores niveles de Clorofila *a* en los meses de invierno mayo, julio y agosto coincidiendo con la dominancia de la cianobacteria *Anabaenopsis*, la que fue encontrada dominando en casi todo el período de estudio.

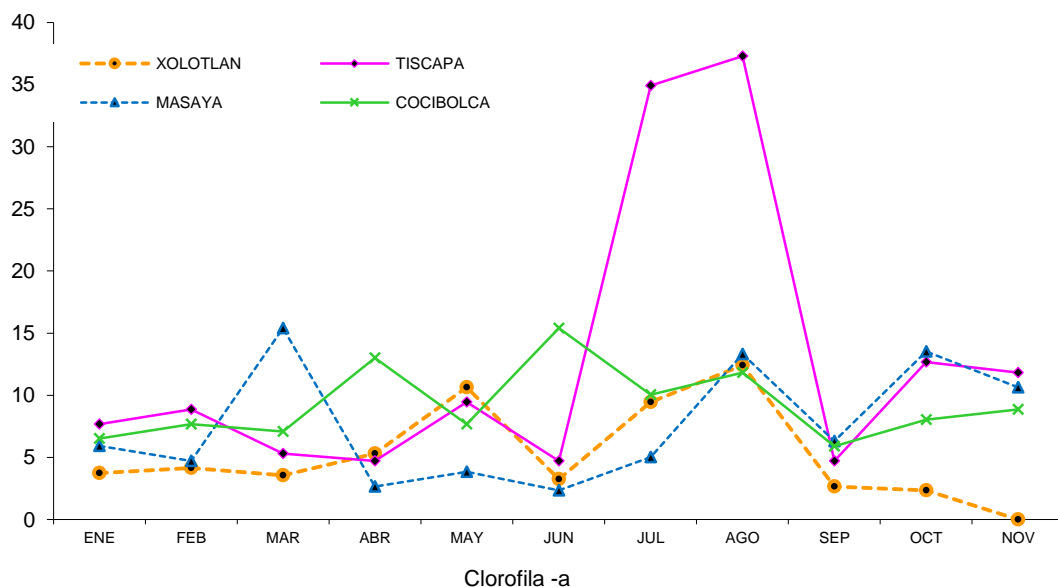


Figura 2. Valores promedio de Clorofila *a* ( $\mu\text{g/l}$ ) en muestras de agua colectadas mensualmente en cuatro lagos Nicaragüenses durante el año 2000.

## Microcistinas

Los resultados de microcistinas determinados por ELISA muestran valores bajos desde < 0.003 hasta 0.069  $\mu\text{g/l}$  en los cuatro lagos estudiados (Tabla 1). Los lagos Masaya (Figura 3a) y Xolotlán (Figura 3d) presentaron las mayores concentraciones detectadas con valores de hasta 0.04 y 0.07  $\mu\text{g/l}$  en los meses de mayo y julio, respectivamente. Los lagos Cocibolca (Figura 3c) y Tiscapa (Figura 3b) alcanzaron máximos de hasta de 0.01 y 0.02  $\mu\text{g/l}$  en los meses de julio y agosto (Tiscapa) y junio y julio (Cocibolca), respectivamente. Al comparar estos resultados con los detectados en ecosistemas del mundo para el mismo período se puede inferir un bajo potencial tóxico por microcistinas en los cuatro lagos nicaragüenses estudiados.

Las mayores concentraciones de microcistinas encontradas en el lago Xolotlán durante los meses de junio, julio y agosto no se pueden explicar en base a las densidades poblacionales estimadas de las especies de cianobacterias que son las que pueden producir éstas toxinas naturales ya que en esos meses fueron bajas o no detectables, excepto para el género de *Merismopedia* en

octubre. Analizando el contenido de Clorofila *a* que es un proxy de biomasa algal en el período desde junio hasta agosto se puede observar un aumento sostenido en el Xolotlán (Fig. 2). Una explicación alternativa a este hallazgo es que al no incluir en el conteo a las pequeñas células de cianobacterias (< 0.5  $\mu\text{m}$ ) ya sea por su pequeño tamaño o por estar muy dispersas se subestimó su contribución relativa a las densidades estimadas. De hecho, ya ha sido reportada la necesidad de estudiar la toxicidad de las cianobacterias picoplanctónicas (pico-cianobacterias) ya que hay muy poca información al respecto y su presencia ha aumentado en ecosistemas de aguas dulces (Jakubowska & Szelaż-Wasielewska, 2015).

En el caso del Lago Masaya hay coincidencia entre el máximo contenido de microcistinas y la dominancia de cianobacterias en los meses de mayo y junio (*Chroococcus* y *Anabaenopsis*). Analizando el contenido de Clorofila *a* en estos dos meses se notan los valores más bajos detectados, por lo que es posible que las cianobacterias causantes de la toxicidad por microcistinas contribuyeran con muy poca biomasa

Tabla 1

Comparación de máximas concentraciones intracelulares de microcistinas ( $\mu\text{g/l}$ ) y su cociente con el contenido de Clorofila *a* ( $\mu\text{g}/\mu\text{g Cl a}$ ) determinados en este estudio en Nicaragua con los de otros lagos en el mundo.

Lagos	Concentración intracelular de microcistinas		Referencia
	$\mu\text{g/l}$	$\mu\text{g}/\mu\text{g Cl a}$	
Suecia	1 – 20	0.1–0.7	Ahlgren & Willén (c. p.)
Australia	1		(Chorus & Bartram, 1999)
Nicaragua	0.07	0.01	Este estudio
Alemania		0.1–0.7	(Chorus & Bartram, 1999)

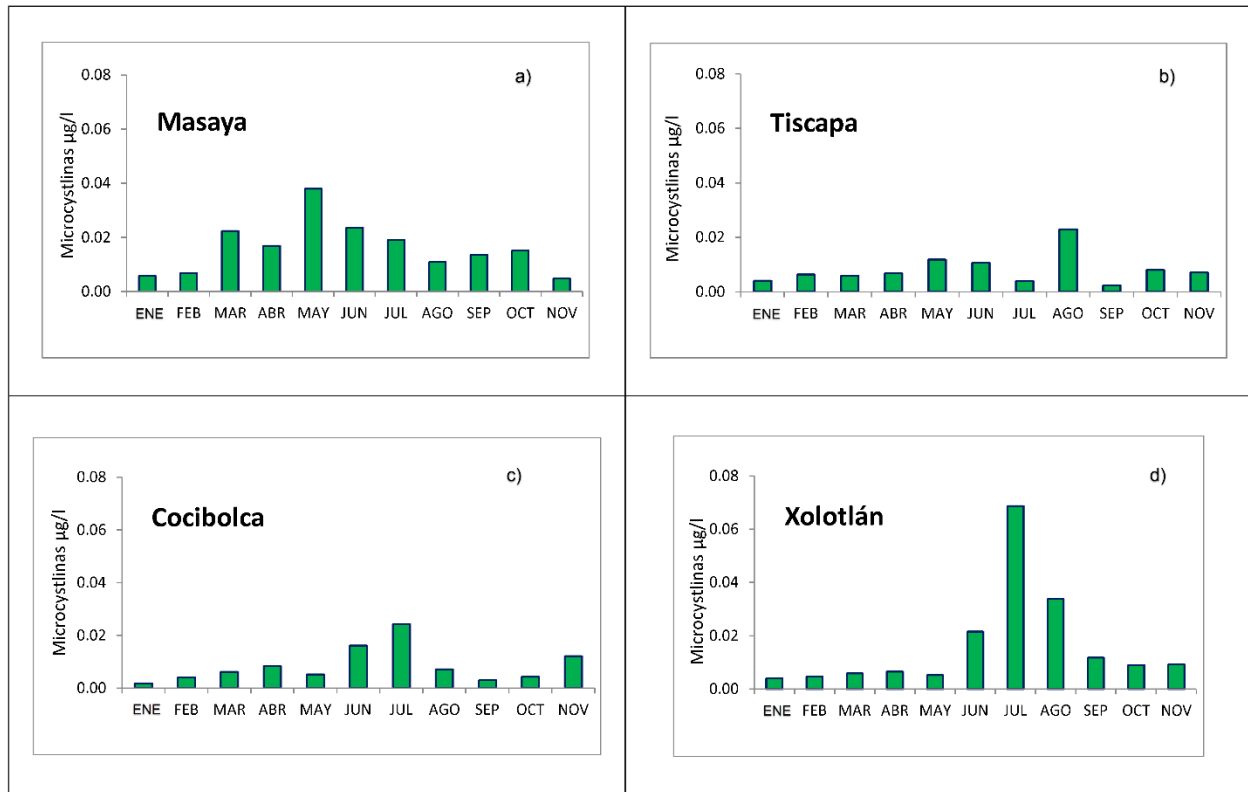


Figura 3. Concentración de microcistinas intracelulares ( $\mu\text{g/l}$ ) en muestras de agua colectadas en el año 2000 en cuatro lagos Nicaragüenses.

Al comparar los cocientes entre el contenido intracelular de microcistinas y de *Clorofila a* calculados para los cuatro lagos nicaragüenses con los reportados en países europeos (Suecia y Alemania) también se puede inferir un bajo potencial tóxico por microcistinas el que es al menos diez veces menor para el caso de Nicaragua (Tabla 1). Los lagos Masaya (Figura 4a) y Xolotlán (Figura 4d) siguen presentando los mayores valores implicando que son los que tienen

mayor potencial tóxico por microcistinas. En cambio los lagos Cocibolca (Figura 4c) y Tiscapa (Figura 4b) no representan toxicidad debido a la microcistinas.

Sin embargo, no se puede descartar la toxicidad debida a otras toxinas naturales dada la dominancia de géneros de cianobacterias en la mayoría de los lagos estudiados.

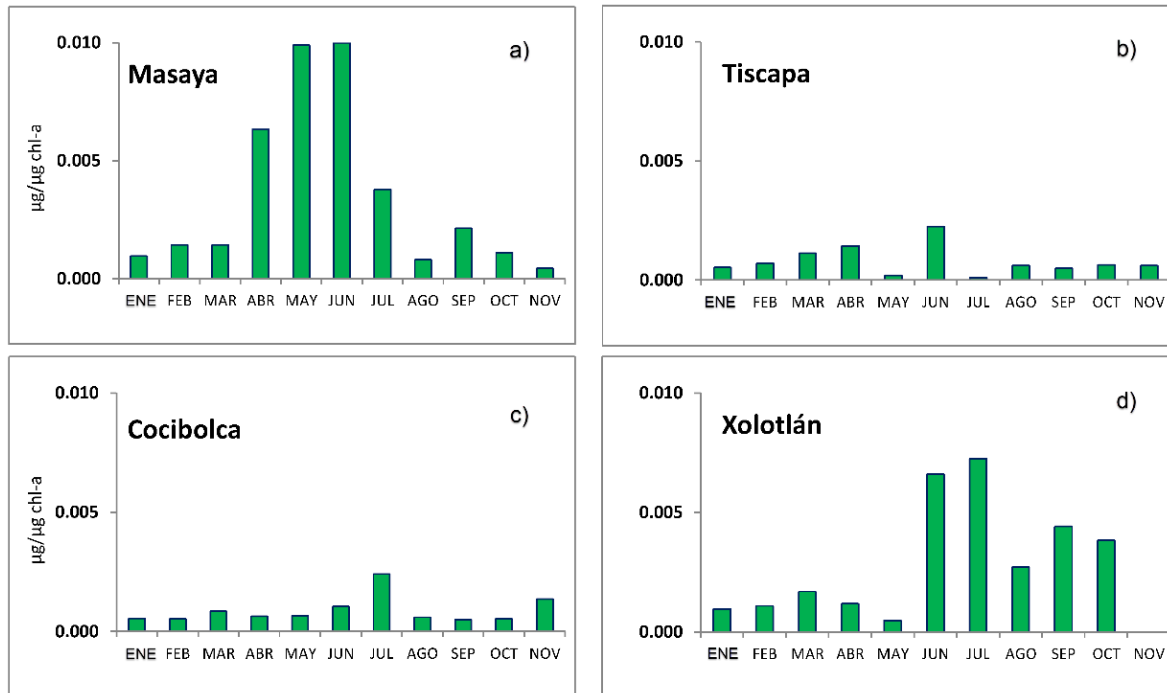


Figura 4. Cociente de concentración intracelular de microcistinas y contenido de Clorofila a ( $\mu\text{g}/\mu\text{g Cl a}$ ) en muestras de agua colectadas en el año 2000 en cuatro lagos Nicaragüenses.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los géneros fitoplanctónicos más representativos detectados durante la mayor parte del período muestreado (enero a noviembre 2000) en tres de los cuatro lagos nicaragüenses estudiados (Cocibolca, Tiscapa y Masaya) fueron cianobacterias, entre los que se distinguen *Anabaenopsis*, *Merismopedia*, *Chroococcus* y *Lyngbya*. El Lago Xolotlán presentó dominancia proveniente principalmente de taxas de diatomeas (*Stephanodiscus sp.*, *Synedra sp.*, y *Cyclotella meneghiniana*). *Anabaenopsis* fue el género dominante en casi todos los meses en los lagos Cocibolca, Masaya y Tiscapa seguido de *Merismopedia* que dominó en ciertos meses en los lagos Masaya, Tiscapa y Xolotlán. En los meses más secos del año (marzo y abril) los dos géneros con mayor contribución en el Lago de Masaya fueron las diatomeas *Fragilaria* y *Nitzschia*.

Los resultados de microcistinas intracelulares determinados por ELISA muestran valores bajos ( $< 0.003$  hasta  $0.069 \mu\text{g}/\text{l}$ ) en los cuatro lagos estudiados, siendo los lagos Xolotlán y Masaya los que presentaron las mayores concentraciones en los meses de mayo y julio, respectivamente. Al comparar estos resultados con los reportados para ecosistemas lacustres del mundo para el mismo período se puede inferir un bajo potencial tóxico por microcistinas en los cuatro lagos nicaragüenses. Sin embargo, no se puede descartar la toxicidad debida a otras toxinas naturales dada la dominancia de géneros de cianobacterias. Se pudo identificar la importancia de incluir en el conteo a las pequeñas células de cianobacterias o picocianobacterias ( $< 0.5 \mu\text{m}$ ) dada su influencia en el potencial tóxico por microcistinas y al aumento de su abundancia en ecosistemas de aguas dulces a nivel mundial.



Es recomendable seguir realizando monitoreos de este tipo en los ecosistemas lacustres nicaragienses incluyendo a otras toxinas naturales producidas por cianobacterias dada su dominancia y por su alto potencial tóxico.

## REFERENCIAS

- Chorus, I., & Bartram, J. (Edits.). (1999). *Toxic cyanobacteria in water : a guide to their public health consequences, monitoring and management*. London: E & FN Spon.
- García, H., & Pacheco, L. (1991). *Composición cualitativa y fluctuaciones temporales de la abundancia de zooplancton en el Laguna de Masaya*. UNAN-Managua, Centro para la Investigación de Recursos Acuáticos de Nicaragua, CIRA., Managua.
- Hooker, E., Chow, N., & Saavedra, R. (1992). *Composición, biomasa y productividad del fitoplancton del Laguna de Masaya*. UNAN-Managua, Centro para la Investigación en Recursos Acuáticos de Nicaragua, CIRA., Managua.
- Jakubowska , N., & Szeląg-Wasielewska, E. (2015). Toxic Picoplanktonic Cyanobacteria—Review. *Marine drugs*, 13(3), 1497-1518. doi:10.3390/md13031497
- MARENA. (1997). *Evaluación rápida de los recursos hídricos. Plan de Acción para la Gestión de los Recursos Hídricos de Nicaragua*. Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales, Comisión Nacional de Recursos Hídricos, Nicaragua, Managua.
- Nusch, . E., & Palme, G. (1975). Biologische methoden für die praxis der gewässeruntersuchung. Bestimmung des Chlorophyll a und phaeopigmentgehaltes in oberflächenwasser. *GWF-Wasser/Abwasser*, 116, 562-565.
- Peleato, M., & Gómez-Moreno, C. (2011). Las cianobacterias: cooperación versus competencia. Zaragoza: Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza.
- Rivas, K. (1997). *Influencia de los cambios temporales en la distribución vertical del fitoplancton del Lago de Tiscapa*. VII Congreso Científico UNAN-Managua, UNAN-Managua, Centro para la Investigación en Recursos Acuáticos de Nicaragua, CIRA.
- Roset, J., Aguayo, S., & Muñoz, M. (2001). Detección de cianobacterias y sus toxinas. Una revisión. *Toxicología*, 18(2), 65-71. Obtenido de <http://www.redalyc.org/html/919/91918202/>
- Spoof, L., Vesterkvist, P., Lindholm, T., & Meriluoto, J. (2003). Screening for cyanobacterial hepatotoxins, microcystins and nodularin in environmental water samples by reversed-phase liquid chromatography–electrospray ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1020, 105-119. doi:10.1016/S0021-9673(03)00428-X
- Utermöhl, H. (1958). Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Mitteilungen*, 9(1), 1-38.