

Caracterización de las comunidades microbianas asociadas a un florecimiento cianoalgal en una presa de León, Gto. México mediante secuenciación de regiones variables de los genes que codifican la rARN 16S y 18S

Characterization of microbial communities associated with cyanoalgal bloom in a dam from León, Gto. México by sequencing of variable regions of the rRNA genes 16S and 18S

Laura Valdés-Santiago^{1*}, Jorge Noé García-Chávez² y José Luis Castro-Guillén¹

Recibido: 06 de enero de 2021.

Aceptado: 13 de abril de 2021.

Publicado: abril de 2021.

RESUMEN

Antecedentes: Los florecimientos algales son cada vez más frecuentes como consecuencia de las actividades humanas, incluyendo el cambio climático. El análisis de la diversidad microbiana durante estos eventos proporciona información de cómo estas alteraciones están modificando el ecosistema. Estudios con un enfoque molecular, basados en metagenómica, ofrecen una visión de la dinámica de las comunidades microbianas cultivables y no cultivables presentes durante el florecimiento. **Objetivo:** Determinar la diversidad microbiana: la riqueza de especies y su abundancia en la presa “El Palote” León, Gto. que presenta florecimientos microalgales. **Métodos:** Las comunidades procarionas y eucariotas en la superficie y a dos metros de profundidad se analizaron por metagenómica con los genes que codifican las subunidades ribosomales 16 y 18S, para las comunidades microbianas procarionas y eucariotas, respectivamente. **Resultados:** El análisis taxonómico de biodiversidad medida por el índice Shannon, mostró patrones de distribución similares en la muestra tomada en la superficie y a dos metros de profundidad, mientras que, con el índice Simpson mostró diferencias. Los filos dominantes de los microorganismos procarionas fueron Cianobacterias del género *Planktothrix* spp. (69%, 2 m y 67%, 0 m), Proteobacterias (13.7 y 13%) y Bacteroidetes (6 y 8.2%). En el caso de los eucariotes, los grupos dominantes fueron Opisthokonta y Stramenopila, Alveolata y Rhizaria (SAR). El análisis por cuantiles reveló diferencias de abundancia: *Flavobacterium* spp., *Aeromonas rivuli-sobria*, *Rheinheimera* spp., *Cetobacterium somerae* y *Cryptomonas curvata* estuvieron presentes mayormente a dos metros de profundidad, mientras que *Methylocaldum szegediense*, *Pseudospirillum* y *Aeromonas sobria* estuvieron en mayor abundancia en la superficie. **Conclusiones:** Los resultados presentan un panorama de la estructura de las comunidades microbianas asociadas a un florecimiento algal de *Planktothrix agardhii-rubescens*.

Palabras clave: Comunidades microbianas, florecimientos cianoalgales, *Planktothrix*, rARN 16S, rARN 18S.

ABSTRACT

Background: Algal blooms have become more frequent due to human activity, including climate change. Analyzing of microbial diversity during the events provides information of how disturbances are shaping ecosystem. Metagenome-based analysis provides a molecular approach that gives an overview of the dynamic of the cultivable and uncultivable microbial communities during the bloom. **Goals:** Our goal was to determine the microbial diversity: the species richness, and their abundance in the dam “El Palote” León, Gto. that presented algal bloom. **Methods:** Prokaryotic and eukaryotic microbial community composition was analyzed by 16S and 18S rRNA amplification and sequencing. **Results:** Biodiversity taxonomic analysis was measured by Shannon index showed similar distribution patterns between samples taken at surface and two-meter depth, while Simpson index presented differences. The prokaryotic dominant phyla were cyanobacteria of *Planktothrix* genera (67%, 0 m and 69%, 2 m), Proteobacteria (13.7 and 13%) and Bacte-

¹ Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Ingeniería Bioquímica. Carretera Irapuato Silao Km 12.5, Irapuato, Guanajuato, 36821. México

² Langebio, Unidad de Genómica Avanzada, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Km 9.6 Libramiento Norte Irapuato-León, Irapuato, Guanajuato, 36821. México

*Corresponding author:

Laura Valdés-Santiago: e-mail: laura.vs@irapuato.tecnm.mx, valdes.santiago.laura@gmail.com.mx

To quote as:

Valdés-Santiago, L., J. N. García-Chávez & J. L. Castro-Guillén. 2021. Caracterización de las comunidades microbianas asociadas a un florecimiento cianoalgal en una presa de León, Gto. México mediante secuenciación de regiones variables de los genes que codifican la rARN 16S y 18S. *Hidrobiológica* 31 (1): 93-105.

DOI:10.24275/uam/izt/dcbshidro/2021v31n1/Valdes

riodetes (6 and 8.2%). Regarding eukaryotes the dominant groups were Opisthokonta as well as Stramenopila, Alveolata and Rhizaria (SAR). Quantile based analysis showed relative abundance differences *Flavobacterium* spp. *Aeromonas* spp., *Rheinheimera* spp., *Cetobacterium somerae* and *Cryptomonas curvata* were majority at two meters depth, while *Methylocaldum szegediense*, *Pseudospirillum* and *Aeromonas sobria* presented high abundance at the surface. **Conclusions:** The results showed an overview of microbial communities associated with a cianobalgal bloom dominated by *Planktothrix agardhii-rubescens*.

Key words: 16S rRNA, 18S rRNA, Cyanobacterial bloom, microbial diversity, *Planktothrix*

INTRODUCCIÓN

El fitoplancton es un componente fundamental en los ecosistemas acuáticos, son la base de la cadena trófica, transformando la energía solar en energía química y alimento. El zooplancton transfiere esa energía generada por el fitoplancton a los niveles tróficos superiores, de tal modo que es un vínculo entre los productores de energía y los consumidores. Debido a que responden rápidamente a cambios ambientales, estos organismos son importantes indicadores biológicos de la calidad del agua (Jakhar, 2013). Por otro lado, existen grupos taxonómicos, que bajo condiciones favorables son capaces de formar florecimientos o crecimientos algales descontrolados que resultan nocivos. Se predice que los eventos de floraciones microalgales serán más recurrentes debido al calentamiento global (Cantoral-Uriza *et al.*, 2017; Mohapatra, 2018; Gobler, 2020). Las cianobacterias son procariotes fotosintéticos que al formar floraciones pueden liberar metabolitos bioactivos, conocidos como cianotoxinas, dentro de las más estudiadas se encuentran las microcistinas, potentes hepatotóxicas, producidas generalmente por el género *Planktothrix* spp. (Catherine *et al.*, 2008; Vasas *et al.*, 2013; Mallia *et al.*, 2020).

Es de suma importancia identificar los factores ecológicos asociados y que disparan el inicio de las floraciones, así como su relación con la magnitud del evento. Los cambios en las comunidades microbianas dependen de las especies de algas que compongan las floraciones, de su estadio fisiológico, condiciones ambientales y etapa del florecimiento (Zheng, 2011). En los ecosistemas marinos se ha reportado que el bacterioplancton se incrementa durante las floraciones del fitoplancton (Teeling *et al.*, 2012). Como consecuencia, la estructura de las comunidades microbianas y sus propiedades metabólicas modifican el ecosistema microbiano, ya que la disponibilidad de nutrientes, los compuestos extracelulares, como compuestos orgánicos, y la dinámica de los nichos se verá afectada (Amin *et al.*, 2015). Se han estudiado la dinámica de las redes de microeucariotes y bacterioplancton que operan a lo largo de la formación, duración y colapso de los florecimientos algales (Needham & Fuhrman 2016; Tan *et al.*, 2015). La dinámica microbiana durante el ciclo completo de una floración del dinoflagelado *Alexandrium catenella* en un ecosistema marino se ha documentado, y los grupos taxonómicos de bacterias, arqueobacterias y microeucariotes asociados fueron identificados y se establecieron interacciones positivas y negativas entre ellos (Zhou *et al.*, 2018). Por otro lado, en un sistema lacustre se determinaron redes de co-ocurrencia entre comunidades procariotes y eucariotes durante una floración de *Synechococcus* (Mikhailov *et al.*, 2018).

Se han registrado florecimientos algales nocivos en las costas de México, específicamente en la costa occidental de la península de Baja California, el Golfo de California, el Pacífico Oriental, Golfo de México y el Caribe Mexicano, sin embargo, los estudios en aguas continentales e interiores son escasos (García-Mendoza *et al.*, 2016). Los florecimientos cianobalgales tóxicos interiores en México reportados han sido en la ciudad de México (CDMX) (Lago del bosque Chapultepec, Lago de Xochimilco, Lago de Tezomoc, Alameda Oriente, Cuemanco y Tlameleca); Estado de México (Reservorios de Valle de Bravo e Ignacio Ramírez, Sistema Lerma-Chapala, Zumpango, Laguna Atotonilco y Ciénega Chica); Michoacán (Lago de Pátzcuaro); Quintana Roo (Akumal, Cenote Uxuxubi) (Pérez-Morales, *et al.*, 2016; Hernández-Terrones *et al.*, 2016; Cantoral-Uriza *et al.*, 2017). Entre las consecuencias de su aparición está la alteración de los patrones naturales de sucesión del fitoplancton, lo que disminuye la diversidad y modifica las interacciones entre las comunidades microbianas (Cantoral-Uriza *et al.*, 2017; Amorim & Moura, 2021).

El objetivo de este estudio fue explorar mediante análisis metagenómicos, cuáles son los grupos taxonómicos presentes durante una floración cianobacterial en la presa "El Palote", con el propósito de determinar la estructura de las comunidades microbianas que están presentes en el evento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Se estudió una presa de la ciudad de León, Guanajuato, que presentaba el desarrollo de floraciones microalgales. Se colectaron dos muestras el 11 de marzo del 2020, la primera en el embarcadero (E1) a nivel de superficie y la segunda a una profundidad de 2 metros (B2). La ubicación del sitio de toma de la muestra E1 fue 21°10'23.4"N 101°41'05.6"W y de B2 fue 21°10'21.7"N 101°41'17.1"W. Una muestra de un litro de agua de cada sitio fue colectada de acuerdo con el procedimiento establecido por la NOM 003-SEMARNAT-1997, las muestras se almacenaron a 4°C hasta ser procesadas.

Extracción de ADN

Se realizó la extracción de ADN genómico de cada muestra con el kit Quick ADN (Zymo Research) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La cantidad y calidad del ADN se determinó con un fluorómetro Qubit (Thermo Fisher Scientific, Inc., DE. USA), por espectrofotometría en un NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, Inc., DE. USA) y mediante electroforesis en gel de agarosa. Una vez extraído el ADN se almacenó a -80°C hasta el momento de enviar a secuenciar.

Preparación de bibliotecas para secuenciación de las regiones de los genes rDNA 16S y 18S.

El ADN obtenido fue enviado a la empresa Zymo Research (Irvine, CA, Estados Unidos) para la generación de bibliotecas y su secuenciación utilizando el servicio ZymoBIOMICS® de secuenciación dirigida para el análisis de microbioma. Se prepararon un total de 4 bibliotecas, 2 para cada muestra, la primera dirigida para la descripción de procariotes y la segunda a eucariotes utilizando regiones variables de los genes que codifican para las rARN 16S y 18S, respectivamente. Las bibliotecas se prepararon con el kit Quick-16S™ NGS Library Prep (Zymo Research). Los oligonucleótidos utilizados para amplificar la región 16S fueron

341f (CCTACGGGNGGCWGCAG) y 805r (GACTACHVGGGTATCTAATCC), los cuales amplifican la región V3-V4 del gen que codifica la rARN 16S. Durante la preparación de la biblioteca 16S se añadieron bloqueadores de ADN cloroplasmático (Chloroplast pPNA). Para la biblioteca de eucariotes se utilizaron oligonucleótidos, propiedad de Zymo Research, que amplifican la región V9 del gen que codifica la rARN 18S. Una vez generadas las bibliotecas, éstas fueron cuantificadas mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa; las cuatro bibliotecas se mezclaron de forma equimolar y la biblioteca final obtenida fue secuenciada utilizando la plataforma MiSeq™ de Illumina® en modo pair end (2x300) utilizando el kit v3 Reagent (600 ciclos).

Procesamiento de las lecturas

Las secuencias de los amplicones fueron inferidas a partir de las lecturas crudas (*raw reads*) obtenidas, utilizando el pipeline Dada2; para la anotación taxonómica se utilizaron ASV (*amplicon sequence variants*) (Callahan *et al.*, 2016). Las secuencias químéricas fueron removidas utilizando el mismo pipeline. La asignación de la composición taxonómica fue realizada con Uclust de Qiime (v.1.9.1) (Caporaso *et al.*, 2010) usando como referencia la base de datos diseñada y curada, propiedad de Zymo Research. Los análisis de diversidad fueron realizados con Qiime utilizando las funciones *alpha_diversity.py* y *beta_diversity.py* utilizando los parámetros predeterminados.

Diferencia de abundancias en procariontes

Se analizó si existían diferencias en la abundancia relativa de especies entre las muestras colectadas a nivel de la superficie y a dos metros de profundidad basado en cuantiles. Para esto, se realizó un ranking de la abundancia relativa (obtenida a partir de la cantidad de lecturas o *reads*) de cada especie, dicho ranking fue transformado en 5 cuantiles. Posteriormente se utilizó la diferencia entre cuantiles de las especies para identificar cambios en las abundancias entre ambas muestras. Se consideraron como especies diferencialmente abundantes cuando existía una diferencia mayor a 2 cuantiles entre E1 y B2.

Diferencia de abundancias a nivel clase en eucariotes

Debido a que la cantidad de grupos taxonómicos eucariotes fue reducida, no fue posible realizar el mismo enfoque basado en cuantiles para determinar cambios en la abundancia relativa de especies entre las dos muestras; además, las regiones secuenciadas resultaron no ser informativas para la identificación a nivel de género o especie en las muestras analizadas. Por lo anterior, se decidió determinar si existían cambios en la abundancia relativa a nivel de clase entre ambas muestras. Para ello se sumaron las abundancias relativas de los miembros de cada clase, y se calculó la diferencia de éstas (entre la muestra colectada en la superficie y la colectada a dos metros de profundidad).

RESULTADOS

Biodiversidad (Diversidad α). Para conocer la diversidad de especies encontradas en la superficie de la presa y a dos metros de profundidad, se determinó el número de especies presentes en la comunidad y la diversidad alfa, para lo cual se calcularon los índices Shannon y Simpson. No se observaron diferencias importantes al comparar la diversidad alfa entre la superficie (E1) y a dos metros de profundidad medida con Shannon (B2) (Tabla 1). El índice Shannon para la diversidad entre las comunidades procariontes (gen rADN 16S) en las muestras E1 y B2 fue de 4.14 y 3.99, respectivamente; mientras que para comunidades eu-

cariotas fue de 5.94 y 5.82. Por el contrario, el índice Simpson presentó para bacterias un valor de 0.773, 0.758; y para eucariotes, 0.96, 0.96.

Composición taxonómica. Se analizó la composición microbiana a diferentes niveles taxonómicos. Respecto a los filos identificados en la muestra B2, el 0.1% de la composición fueron arqueas pertenecientes al filo Euryarchaeota. Sin embargo, la mayor composición fue de Cianobacterias con un 68 y 66% en la muestra B2 y E1 respectivamente, seguida por Proteobacterias en un 13.7 y 13%, Bacteroidetes 6 y 8,2%, Actinobacterias 5.4 y 5.5% y Planctomycetes 1.7 y 1.5%, mientras que los otros grupos presentaron menos de 1% de composición (Fig. 1A). A nivel de clase y género, en la composición taxonómica vemos ligeras diferencias entre muestras, lo que es posible apreciar eliminando el grupo mayoritario de cianoobacterias del género *Planktothrix* (Fig. 1B, 1C).

Respecto a las comunidades eucarióticas, los grupos taxonómicos dominantes identificados a nivel de Supergrupos en E1 y B2 respectivamente fueron Opisthokonta (26 y 30.7%) y Stramenopila, Alveolata y Rhizaria (SAR en conjunto) (24.3 y 23.7%) (Fig. 2A y B). Los miembros de Alveolata fueron el 8.2%, de Ciliophora (Ciliates) 3.1%, Dinoflagellata 0.8%, Protalveolata y otros 0.3%. Los miembros de Rhizaria fueron el 1.8% de Cercaria. Respecto a los Stramenopiles, el 2.1% fueron Bicosoecida, el 1.1% MAST-12, 4.4% de Ochrophyta, 1.8% de *Peronosporomycetes* (moho acuático), y 0.3 de otros (Fig. 2C).

Los grupos minoritarios identificados fueron comunidades pertenecientes a los Archaeplastida (3.6% y 4.7%). En el caso de Cryptophyceae se encontró que el porcentaje en la superficie (E1) fue casi el doble que los encontrados a dos metros de profundidad (B2) (6.3% y 3.4%) (Fig. 2A); lo mismo para Excavata (0.4% y 0.2%).

Variación o grado de recambio en la composición de especies. Diversidad β . Los patrones de la diversidad beta de las diferentes categorías taxonómicas de las comunidades microbianas procariontes, reflejan la abundancia de las especies encontradas en ambas condiciones (Material suplementario). Respecto a la abundancia relativa del phylum Bacteroidetes, éstos representaron el 6 y 8.2% de los procariontes a dos metros y cero metros respectivamente; hay especies que estuvieron presentes en la superficie y ausentes a dos metros de profundidad, entre ellas: *Paludibacter* sp., *Flavobacterium chugnamense-koreense*, *F. daejeonense*, *F. fluvii*, *F. glycinis-tractae*, *F. maotaiense*, *F. tractae* y *Ferruginibacter* sp. Por su parte, entre las especies ausentes en la superficie fueron: *Marinoscillum* sp. y *F. terrigena*. Del resto, los datos

Tabla 1. Biodiversidad de la presa “El Palote” mediante el análisis de la diversidad α .

Gen secuenciado	Ubicación	Diversidad α		
		Shannon (H')	Simpson (D)	Especies observadas
rADN 16S	E1	4.142358	0.773973	277
	B2	3.996961	0.758275	289
rADN 18S	E1	5.956750	0.960680	221
	B2	5.840736	0.961126	201

E1 = Profundidad cero metros (superficie); B2 = Profundidad de dos metros

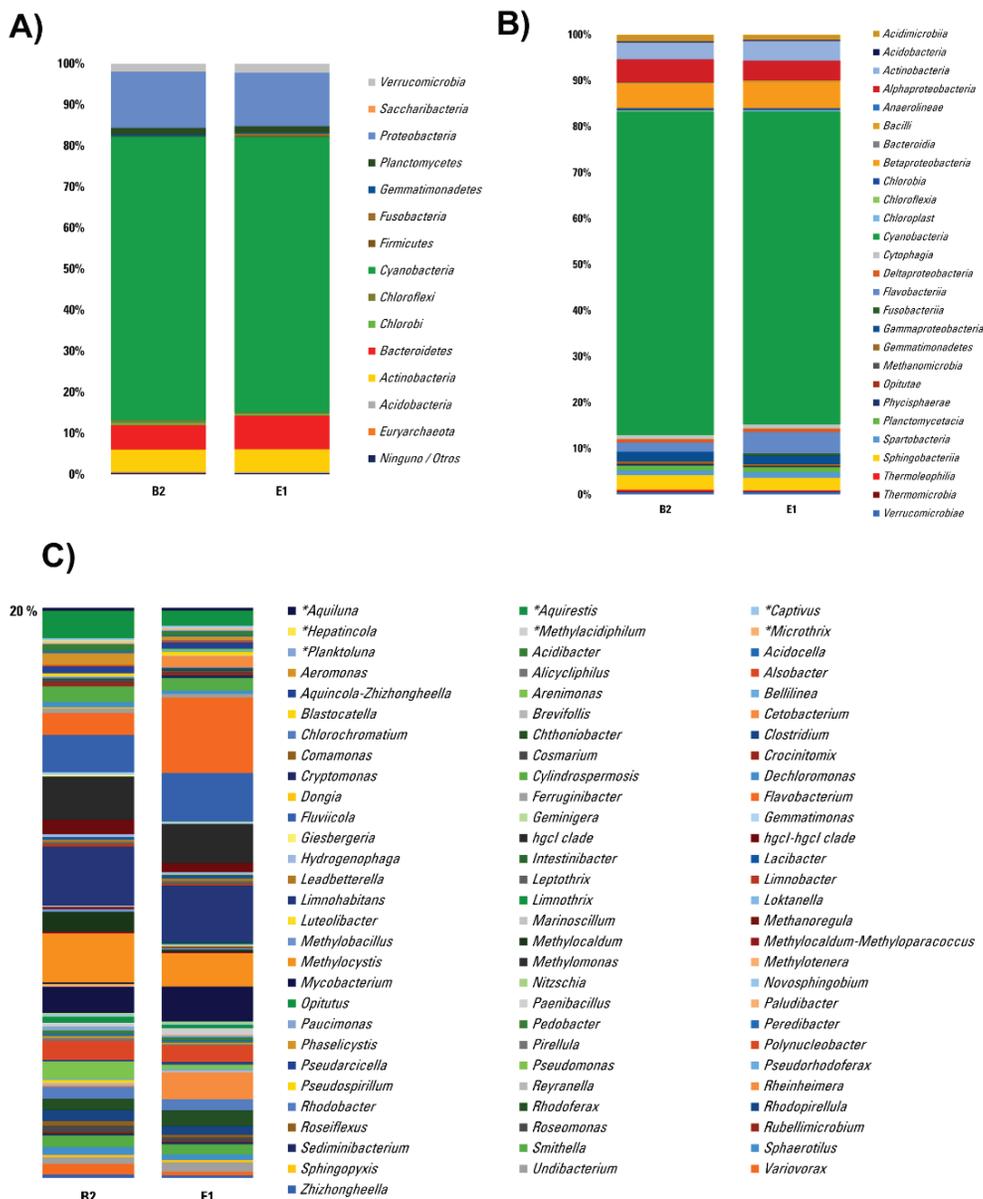


Figura 1. Composición taxonómica relativa de comunidades procariotas de muestras colectadas el 11 de marzo del 2020, E1 a cero metros de profundidad y B2 a dos metros de profundidad. **A)** A nivel de Filo. **B)** A nivel de Clase y **C)** A nivel de género eliminando el grupo dominante *Planktothrix agardhii-rubescens*.

obtenidos en la superficie (E1) y a dos metros de profundidad (B2) son muy similares (Material suplementario).

El grupo dominante fueron las cianobacterias del género *Planktothrix* spp. (69 y 67%; 2 m y 0 metros, respectivamente); otras cianobacterias encontradas fueron *Cylindrospermopsis* spp., *Limnothrix redekei* solo presentes en la superficie y *Planktothrix agardhii* encontrada e identificada a nivel de especie solo a dos metros de profundidad. Algunos Firmicutes y Fusobacteria solo se encontraron en la superficie, entre ellos *Paenibacillus* spp., *Clostridium celatum*, *Intestinibacter* sp. y *Cetobacterium somerae* sp. (Material suplementario).

Respecto al filo Proteobacteria, algunas Alphaproteobacterias como *Loktanella* spp. y *Sphingopyxis contaminans* solo estuvieron presentes en la superficie, mientras que *Dongia mobilis*, y algunos miembros de los Rickettsiales solo fueron identificados a dos metros de profundidad. En las Betaproteobacterias también hay diferencias dependiendo de la profundidad, en la superficie estuvieron presentes *Alicyclophilus denitrificans*, *Comamonas* sp. *Hydrogenophaga* spp. y *Rhodofera antarcticus* mientras que a dos metros de profundidad se identificaron de forma diferencial, *Polynucleobacter difficilis*, *Geisbergeria*, *Hydrogenophaga bisanensis*, *Methylothena mobilis* y *Dechloromonas* spp. Así mismo, la Gammaproteobacteria, *Aeromonas rivuli-sobria*, dos Chromatiales: *Rheinheimera aquatica-texasensis* y *R. arenilitoris*; un Xanthomonada-

ceae, *Arenimonas* spp. y un Verrucomicrobiae, *Luteolibacter algae*, solo se encontraron en la superficie, mientras que a dos metros de profundidad la Deltabacteria, *Peredibacter* sp.; la Gammaproteobacteria, *Aeromonas sobria*; además de *Methylomonas methanica*, *Pseudospirillum* sp. y *Pseudomonas benzenivorans-putida* solo fue posible encontrarlas a dos metros de profundidad (Material Suplementario).

Por otro lado, en las comunidades eucarióticas, se observó diferencia a nivel de filo, donde el grupo de Opisthokonta fue el más abundante a dos metros de profundidad (B2) comparado con la superficie (E1), lo cual se ve reflejado a nivel de clase y de orden, donde el grupo de Holozoa y Metazoa son mayoritarios también en B2. Otros *taxa* identificados fueron: Bilateria, Cercozoa, Prostomatea, Phyllozoa (Diplostraca), Choreotrichia, Ochromonadales, Chlamydomonadales, Cyclopoida (Copepoda), Calanoida (Copepoda), Eimeriidae. A nivel de género: *Bicosoeca*, *Paraphysomonas*, *Glenodinium*, *Cryptocaryon*, *Metacylis*, *Pelagostrobilidium*, *Saprolegnia*. A nivel de especie se identificó a *Bosmina longirostris* y *Sellaphora pupula* (Fig. 2 y Material Suplementario).

Diferencias de abundancias de especies bacterianas. Al comparar la abundancia relativa de especies entre E1 y B2 se identificaron 16 especies con diferencias mayores a 2 cuantiles (Fig.3; Tabla 2). En la muestra B2 se encontraron 13 especies con mayor abundancia, de éstas, 7 pertenecían a distintas especies del género *Flavobacterium*: *Flavobacterium* sp17035-sp17044, *Flavobacterium fluvii*, *Flavobacterium glycinis-tructae*, *Flavobacterium* sp16978, *Flavobacterium* sp17023, *Flavobacterium tiangeerense*, y *Flavobacterium tructae*. Además, otras 6 especies fueron más abundantes en B2, *Aeromonas rivuli-sobria*, *Rheinheimera aquatica-texasensis*, *Rheinheimera arenilitoris*, *Cetobacterium somerae*, *Cryptomonas curvata* y NA sp37488 (especie no identificada) (Fig.3). El número de especies con una diferencia en su abundancia presentes en B2 del género *Flavobacterium* fue significativamente diferente ($p = 0.0001$, Fisher exact test) (Tabla3), por lo que parece existir una asociación entre la abundancia de *Flavobacterium* y la profundidad. Por otra parte, las especies con mayor abundancia en la muestra E1 fueron *Methylodaldum* sp60855-*szegediense*, *Pseudospirillum* sp61724y *Aeromonas sobria* (Fig. 3).

Diferencias en abundancias de eucariotes. Por otra parte, en eucariotes, se identificó que en ambas muestras el grupo taxonómico Copepoda, orden Cyclopoida, presentó una abundancia de 13% (Fig.4). Además, en B2 se observó una mayor abundancia relativa en la subclase Phyllozoa y orden Diplostraca, (0.14 en B2 y 0.06 en E1). Otra diferencia importante fue una mayor abundancia relativa de la subclase Copepoda y orden Calanoida en E1, en la que representa cerca del 4% mientras que en B2 el 0.07%. De igual forma, la subclase Choreotrichia y el género *Pelagostrobilidium* estuvieron presentes en E1 (Fig. 4).

DISCUSIÓN

La eutroficación incrementa la dominancia de una o varias especies; como consecuencia, el crecimiento descontrolado de ciertas especies microalgales, afectan la diversidad natural, generando un impacto negativo sobre el ecosistema. Para estudiar la diversidad biológica en un contexto ecológico, se han creado índices para medir la diversidad de especies, como el índice Shannon y Simpson (Gotelli & Colwell, 2001; Thukral *et al.*, 2019).

Los índices Shannon reportados para una floración de *Alexandrium catenella* estudiada en un estanque de sal en el sistema de pantanos en

Cape Cod (Massachusetts, Estados Unidos) fueron aproximadamente entre 2 y 3 para bacterias, y entre 3 y 4 para eucariotes, durante todo el período que duró la floración (Zhou *et al.*, 2018). El mismo estudio reportó valores para el índice Simpson, entre 0.15-0.30 para bacterias y 0.05 y 0.4 para eucariotes (Zhou *et al.*, 2018). La diversidad alfa en nuestra área de estudio mostró índices mayores comparados con este reporte, lo que podría explicarse, posiblemente, por el tipo de floración, además de la etapa de florecimiento donde se encontraba. Como se muestra en la tabla 1, el índice Shannon tuvo valores de 3.9 y 4.1, para la diversidad bacteriana, mientras que la diversidad eucariótica, presentó valores de 5.8 y 5.9. Por otro lado, el índice Simpson presentó valores menores para procariotes (0.77 y 0.75), comparativamente con eucariotes (0.96 y 0.96) (Tabla 1). El índice Shannon es una medida de la entropía o desorden de una comunidad, una comunidad presenta alta entropía, lo que se interpreta como alta diversidad, cuando todas las especies tienen la misma abundancia (Moreno *et al.*, 2011); y el índice Simpson representa la probabilidad de que dos individuos seleccionados al azar pertenezcan a la misma especie (Daly *et al.*, 2018). De acuerdo con los valores del índice Shannon, la diversidad presentaba un nivel alto, especialmente en las comunidades eucariotas (Tabla 1). Mientras que el índice Simpson para las comunidades procariotas, refleja que, a pesar de la dominancia del género *Planktothrix*, la riqueza de especies es mayor, comparado con las comunidades eucariotas; puesto que, entre más bajo sea el índice Simpson, la diversidad es mayor; lo que sugiere que la riqueza en especies de eucariotes presentó mayor impacto negativo que las comunidades procariotas (Tabla 1).

Valores de índice Shannon superiores a 4 al final de una floración fueron reportados en un ecosistema de agua dulce, donde la cianobacteria dominante fue *Synechococcus* (62.71%), *Prochlorothrix* (15.60%), y *Microcystis* (8.19%); mientras que valores de diversidad, medidos con el inverso del índice Simpson ($1/D$), permaneció a bajos niveles durante el brote, y se incrementaban considerablemente al final de la floración, en la fase de disminución (Zhang *et al.*, 2018). En otro estudio en un sistema lacustre con una floración de verano de *Synechococcus*, los índices Shannon para procariotes y eucariotes estuvieron en un rango de entre 2.16 y 3.84 (Mikhailov *et al.*, 2018), mientras que en un reservorio subtropical dominado por *Cylindrospermopsis raciborskii* el índice Shannon estuvo entre 3.5-4.5 (Liu *et al.*, 2019).

Con respecto a la composición taxonómica microbiana y su abundancia, la floración microalgal resultó ser de cianobacterias del género *Planktothrix*, ya que fue el grupo filogenético dominante (Fig. 1). El taxón dominante encontrado en la zona de estudio está dentro de los géneros productores de microcistinas más importantes en lagos templados (Oliver & Ganf, 2000). Las microcistinas son heptapéptidos cíclicos con actividad hepatotóxica codificados en una región del genoma de 50 kpb, el cluster *mcy*, que contiene los nueve genes para su síntesis (Davis *et al.*, 2003). Dentro de este género, se reconoce un genotipo productor de ficoeritrina, un pigmento rojo, conocido como *Planktothrix rubescens*; por otro lado, la especie con el pigmento verde ficocianina es conocida como *Planktothrix agardhii* (Sivonen & Jones, 1999). Con la amplificación de la región del gen que codifica la rARN 16S no fue posible una identificación a nivel de especie, sin embargo, se sabe que *P. rubescens* se encuentra en aguas profundas, estratificadas y oli-mesotróficas en donde se pueden construir capas metalimnéticas, mientras que *P. agardhii* tiene una mayor distribución en aguas poco profundas, cuerpos de agua plomíticos que van de mesotróficos a hipertrófico;

por otro lado, se considera muy poco frecuente que las dos especies se encuentren habitando en el mismo lugar (Kurmayer *et al.*, 2004).

Los florecimientos cianoalgales en lagos naturales y artificiales reportados en México de 2002-2015 fueron recopilados por Pérez-Morales *et al.*, (2016), así como las especies encontradas; en tres de los ocho lagos reportados, *Planktothrix agardii* estuvo presente (Favari *et al.*, 2002; Komárek & Komárkova-Legnerová, 2002; Vasconcelos *et al.*, 2010; Gaytán-Herrera *et al.*, 2011; Pineda-Mendoza *et al.*, 2012). En el lago de Xochimilco, CDMX, se identificó co-existiendo a *Limnothrix redekei* y *Planktothrix agardii*, tal como los análisis de amplicones de este

estudio lo hicieron (Fig. 3). Por otra parte, *Cylindrospermopsis* spp., otra de las cianobacterias detectadas en baja abundancia en este estudio (Material Suplementario), fue identificada en el reservorio de Valle de Bravo del sistema Cutzamala entre el año 2006 y 2007 (Mercado-Borrayo *et al.*, 2008). Más reciente, es el reporte de un estudio realizado durante 2016-2017 en la Laguna de Cajititlán, Jalisco; entre las cianobacterias filamentosas identificadas estuvieron *Planktothrix* y *Cylindrospermopsis* (además de *Planktolyngbya*), donde el alga dominante, determinada por concentración celular, fue *Planktothrix* (Vizcaino *et al.*, 2019). La coexistencia de estos dos géneros también fue reportada en un reservorio ubicado en Brasil (Dantas *et al.*, 2011).

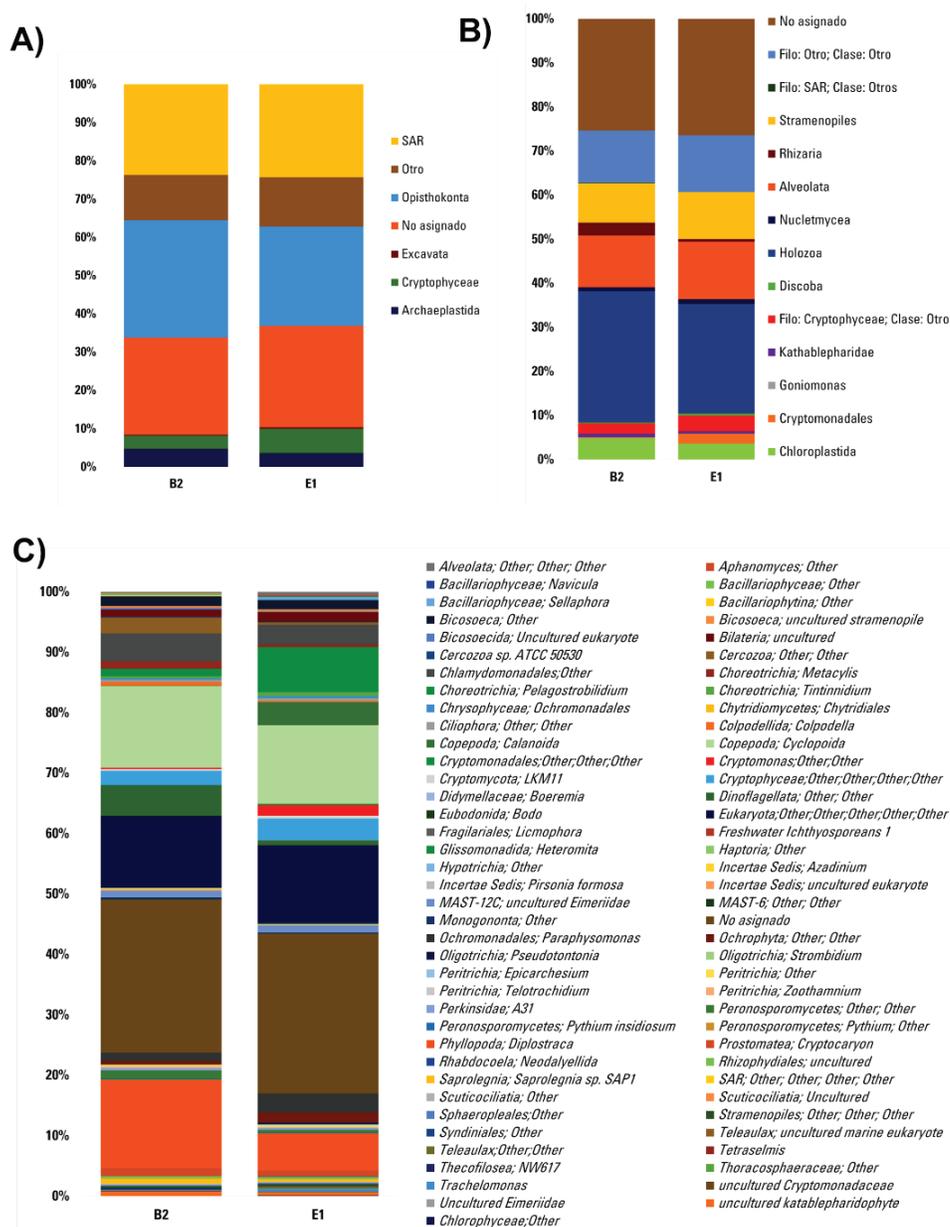


Figura 2. Composición taxonómica relativa de comunidades eucariotas de muestras colectadas el 11 de marzo del 2020, la muestra E1 a cero metros de profundidad y la muestra B2 a dos metros de profundidad. **A)** A nivel de Filo. **B)** A nivel de Clase y **C)** Con los datos taxonómicos relacionados con los ASVs.

Tabla 2. Abundancia relativa de las especies identificadas. Se muestra la abundancia relativa en las muestras, así como su diferencia, el cuantil (de acuerdo con la abundancia de la especie) y la diferencia de cuantiles de las especies.

ASV	E1	B2	Diferencia E1-B2	Cuantiles		Diferencia de cuantiles E1-B2	Diferencial
				E1	B2		
<i>Planktoluna difficilis</i>	0	0.00030345	-0.00030345	Q1	Q1	0	
<i>Aeromonas rivuli-sobria</i>	0	0.00124138	-0.00124138	Q1	Q4	-3	
<i>Alicyclophilus denitrificans</i>	0	0.00038621	-0.00038621	Q1	Q2	-1	
<i>Arenimonas</i> sp64994	0	0.00038621	-0.00038621	Q1	Q2	-1	
<i>Arenimonas</i> sp64998	0	0.00035862	-0.00035862	Q1	Q2	-1	
<i>Bellilinea</i> sp20241-sp20462	0	0.00041379	-0.00041379	Q1	Q2	-1	
<i>Cetobacterium somerae</i>	0	0.00331035	-0.00331035	Q1	Q5	-4	*
<i>Cetobacterium</i> sp37384	0	0.00046897	-0.00046897	Q1	Q3	-2	
<i>Clostridium celatum</i>	0	0.00046897	-0.00046897	Q1	Q3	-2	
<i>Comamonas</i> sp48915	0	0.00030345	-0.00030345	Q1	Q1	0	
<i>Cryptomonas curvata</i>	0	0.00082759	-0.00082759	Q1	Q4	-3	
<i>Ferruginibacter</i> sp18100	0	0.00041379	-0.00041379	Q1	Q2	-1	
<i>Flavobacterium chungnamense-koreense</i>	0	0.00038621	-0.00038621	Q1	Q2	-1	
<i>Flavobacterium daejeonense</i>	0	0.00038621	-0.00038621	Q1	Q2	-1	
<i>Flavobacterium fluvii</i>	0	0.00215172	-0.00215172	Q1	Q5	-4	*
<i>Flavobacterium glycines-tructae</i>	0	0.00104828	-0.00104828	Q1	Q4	-3	*
<i>Flavobacterium maotaiense</i>	0	0.00071724	-0.00071724	Q1	Q3	-2	
<i>Flavobacterium</i> sp16978	0	0.00173793	-0.00173793	Q1	Q5	-4	*
<i>Flavobacterium</i> sp17023	0	0.00102069	-0.00102069	Q1	Q4	-3	*
<i>Flavobacterium</i> sp17035-sp17044	0	0.00306207	-0.00306207	Q1	Q5	-4	*
<i>Flavobacterium tructae</i>	0	0.00135172	-0.00135172	Q1	Q4	-3	*
<i>Fluviicola</i> sp16210	0	0.0006069	-0.0006069	Q1	Q3	-2	
<i>Fluviicola</i> sp16224	0	0.00033103	-0.00033103	Q1	Q2	-1	
<i>Fluviicola</i> sp16228	0	0.00052414	-0.00052414	Q1	Q3	-2	
<i>Geminigera cryophila</i>	0	0.00035862	-0.00035862	Q1	Q2	-1	
<i>hgcl clade</i> sp6118	0	0.00041379	-0.00041379	Q1	Q2	-1	
<i>Hydrogenophaga bisanensis-pseudoflava</i>	0	0.0006069	-0.0006069	Q1	Q3	-2	
<i>Intestinibacter</i> sp34281	0	0.00044138	-0.00044138	Q1	Q2	-1	
<i>Limnothrix redekei</i>	0	0.00033103	-0.00033103	Q1	Q2	-1	
<i>Loktanella cinnabarina-hongkongensis</i>	0	0.00052414	-0.00052414	Q1	Q3	-2	
<i>Luteolibacter</i> algae	0	0.00038621	-0.00038621	Q1	Q2	-1	
<i>Mycobacterium mucogenicum-phocaicum</i>	0	0.00066207	-0.00066207	Q1	Q3	-2	
<i>Mycobacterium</i> NA	0	0.00044138	-0.00044138	Q1	Q2	-1	
NA sp11020	0	0.00049655	-0.00049655	Q1	Q3	-2	
NA sp11885	0	0.00030345	-0.00030345	Q1	Q1	0	
NA sp14892	0	0.00044138	-0.00044138	Q1	Q2	-1	
NA sp19378	0	0.00035862	-0.00035862	Q1	Q2	-1	
NA sp19488	0	0.00038621	-0.00038621	Q1	Q2	-1	
NA sp21784	0	0.00033103	-0.00033103	Q1	Q2	-1	
NA sp37488	0	0.00093793	-0.00093793	Q1	Q4	-3	*
<i>Paenibacillus</i> sp27231	0	0.00046897	-0.00046897	Q1	Q3	-2	
<i>Paludibacter</i> sp13191	0	0.00038621	-0.00038621	Q1	Q2	-1	
<i>Rheinheimera aquatica-texasensis</i>	0	0.00295172	-0.00295172	Q1	Q5	-4	*
<i>Rheinheimera arenilitoris</i>	0	0.00344828	-0.00344828	Q1	Q5	-4	*
<i>Rhodoferax antarcticus</i>	0	0.00038621	-0.00038621	Q1	Q2	-1	
<i>Sediminibacterium</i> sp18295	0	0.00071724	-0.00071724	Q1	Q3	-2	
<i>Sphingopyxis contaminans</i>	0	0.00046897	-0.00046897	Q1	Q3	-2	

Los cambios en las comunidades microbianas durante el desarrollo de los florecimientos algales revelan cambios en los diferentes grupos dominantes a través del tiempo. Durante un brote de *Synechococcus*, *Microcystis*, y *Prochlorothrix*, en un depósito de agua potable en la ciudad de Zaozhuang, provincia de Shandong, al este de China, las Actinobacterias disminuyeron casi a la mitad durante el florecimiento, comparado con el inicio de éste (Zhang, 2018). Adicionalmente, se ha reportado que bacterias de los grupos Flavobacterias y Rhodobacteraceae se desarrollan mejor en ausencia de floraciones (Luria *et al.*, 2017).

Por otra parte, se ha visto que las comunidades bacterianas predominantes al principio de un florecimiento del dinoflagelado *A. catenella*, fueron Gammaproteobacteria y Bacteroidetes, mientras que las predominantes posteriormente y al final del florecimiento fueron Alphaproteobacteria, Cyanobacteria y Actinobacteria (Zhou *et al.*, 2018). Las arqueobacterias encontradas fueron metanógenas, presentes durante la etapa temprana del florecimiento, mientras que en la etapa

tardía del florecimiento predominaron las oxidantes de amoníaco y las Halobacteriales (Zhou *et al.*, 2018). La presencia de arqueobacterias metanógenas coincide con nuestros hallazgos, ya que el 0.1% de la composición fueron *Methanomicrobia*.

Así mismo, la abundancia de Proteobacterias se ha correlacionado positivamente con la concentración de células algales, y la abundancia de las Proteobacterias, tiende a incrementarse durante las floraciones (Zhang, 2018); lo mismo sucede para las bacterias oxidantes de amonio (Xue *et al.*, 2017). Estos reportes coinciden con los hallazgos de este estudio, ya que las Proteobacterias y Bacteroidetes fueron el segundo y tercer grupo más dominante (Fig.1). Interesantemente, bacterias pertenecientes a estos grupos taxonómicos también se han asociado con algas Chlorophitas, más que con otros filotipos de bacterias (Ramanan *et al.*, 2015; 2016). El cuarto grupo más abundante fueron las Actinobacterias (Fig.1); en ambientes extremos naturales, las comunidades de Proteobacterias y Actinobacterias se han asociado con cianobacterias Chroococcales y Synechococcales (Wierzychos *et al.*, 2015).

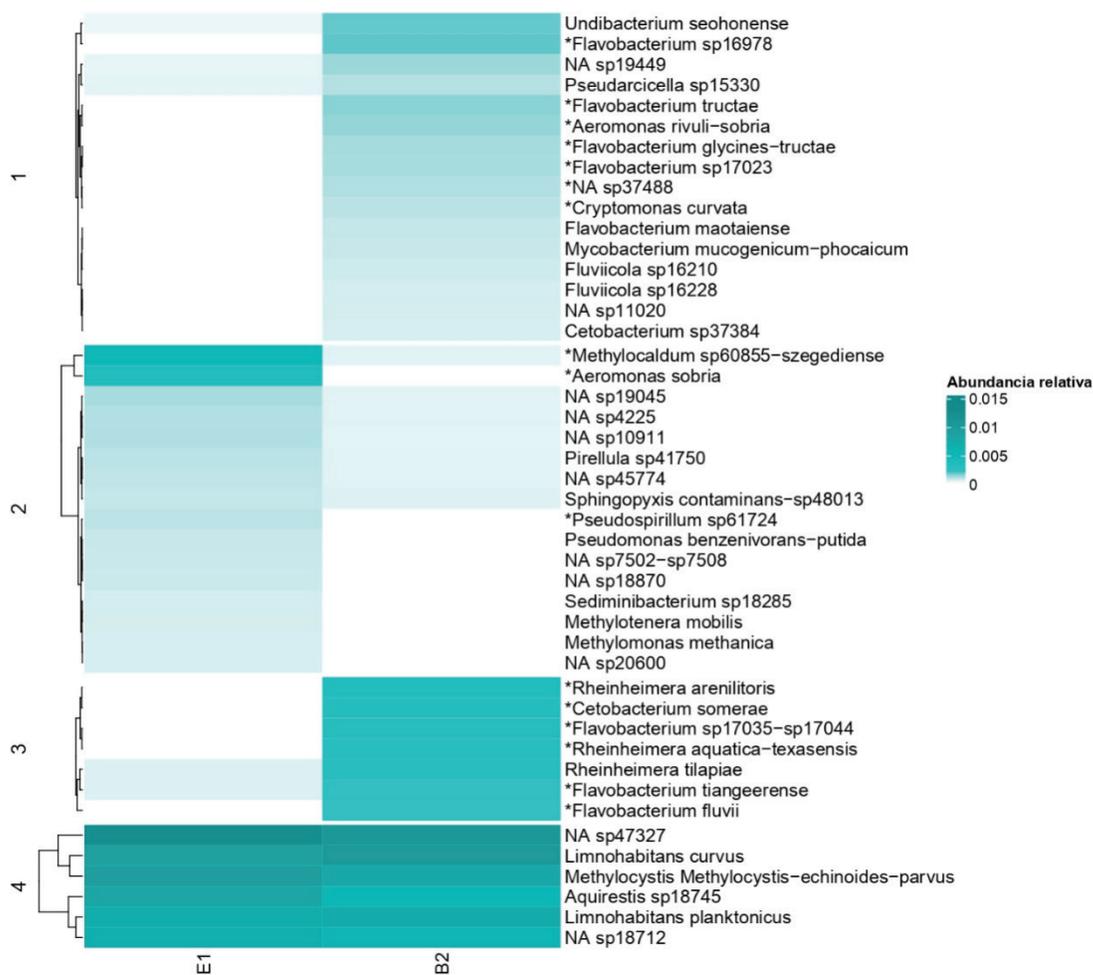


Figura 3. Mapa de calor de las abundancias relativas de especies. Se muestran las especies con una abundancia relativa mayor a 0.01 y las especies diferencialmente abundantes, indicadas con un asterisco. Se consideraron especies diferencialmente abundantes cuando la diferencia de cuantiles fue >2 . En los clusters 1 y 3 se muestran las especies con mayor abundancia en la muestra B2, principalmente se identificaron como más abundantes distintas especies del género *Flavobacterium*. El cluster 2 muestra las especies más abundantes en E1, *Methylocaldum sp60855-szegediense*, *Aeromonas sobria* y *Pseudospirillum sp61724*. El cluster 4 muestra las especies más abundantes en ambas muestras, sin considerar *Planktothrix spp.*

A nivel de género y especie, el análisis por cuantiles reveló que a dos metros de profundidad (B2) el género *Flavobacterium* spp. se presentó en mayor abundancia, comparado con la superficie (Tabla 2 y Fig. 3). Este género se ha asociado con tapetes cianobacteriales y comunidades que forman biopelículas (Brambilla *et al.*, 2001), así como parte de la composición bacteriana de sistemas acuáticos y en comunidades microbianas dominadas por cianobacterias (Abed *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2018). Se sabe que existen bacterias asociadas (epibiontes) a floraciones cianoalgales; *Flavobacterium* spp. está entre las comunidades epibiontes de *Mycrocystis* y *A. catenella* (Li *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2018). *Flavobacterium* también ha sido correlacionada positivamente con *Synechococcus*, *Limnohabitans*, *Albidiferax* y actinomicetales (Mikhailov *et al.*, 2018). Se han reportado patrones en redes de co-ocurrencia, los cuales se consideran críticos para la dominancia de cianobacterias en verano (Zhao *et al.*, 2016). En un contexto de contaminantes peligrosos, como son las cianotoxinas, la biosíntesis y liberación de las toxinas y compuestos orgánicos complejos podría estar en equilibrio con su degradación, llevada a cabo por los epibiontes; en ese contexto, *Flavobacterium* spp. es conocida por su capacidad de metabolizar compuestos orgánicos complejos (Berg *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2018).

Entre los otros géneros de mayor abundancia en B2 también se encontró a *Aeromonas rivuli-sobria*. El género *Aeromonas* está ampliamente distribuido en ambientes acuáticos (Figuera *et al.*, 2011; Fernández-Bravo & Figueras, 2020). Las especies *Aeromonas aquatica*, *A. finlandensis* y *A. lacus* han sido asociadas con floraciones cianoalgales (Beaz-Hidalgo *et al.*, 2015). Por otro lado, *Methylocaldum szegediense* se encontró que fue más abundante en la superficie (E) comparada con la muestra tomada a dos metros de profundidad. Este organismo se reportó en una floración cianoalgal de *Nodularia* sp. en el mar Báltico (Tuomainen *et al.*, 2003). En la búsqueda por solucionar y evitar las floraciones algales que pongan en peligro el suministro de agua para uso humano, se ha propuesto el uso de bacterias que produzcan metabolitos con actividad cianobactericida para su control (Fuentes *et al.*, 2016; Ramanan *et al.*, 2016). Las bacterias identificadas en estudios de poblaciones asociadas a floraciones cianoalgales son posibles blancos que pueden ofrecer información en este respecto (Srivastava *et al.*, 2013, 2014).

En la diversidad microbiana en ecosistemas acuáticos, además de los procariotes, su contraparte, los eucariotes son un grupo igualmente importante y, como se ha señalado, existen correlaciones de co-ocurrencia entre las comunidades que resultan en un ecosistema en equilibrio (Ramanan *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2016). La composición de las comunidades eucariotas en cuerpos de agua dulce no eutróficos ha sido reportada en ríos, lagos, reservorios de agua para consumo humano y estuarios (Sun, *et al.*, 2014; Debroas *et al.*, 2017; Inkinen *et al.*, 2019; Yan, *et al.*, 2020). El alcance taxonómico de las poblaciones eucarióticas identificadas en este trabajo es limitado, a pesar de ello, algunas jerarquías taxonómicas inferiores reportadas en otros estudios nos permiten englobarlas en las encontradas en la presente investigación. En un reservorio de agua donde se presentan floraciones dominadas por *C. raciborskii* (65.5%), se cuantificó que el 40.4% de las lecturas eucarióticas, pertenecía al grupo Metazoa y que su abundancia relativa se incrementaba con la disminución de la biomasa cianobacteriana (Liu, *et al.*, 2019). Los Metazoa, están entre el grupo mayoritario de eucariotes encontrados en la "Presa El Palote", ya que el promedio

de los Opishokonts identificados en la presa fueron 28.3%, de éstos, el 27% fueron Metazoa (Holozoa) y el 1% Holomycotas; otros miembros minoritarios identificados de Holomycotas fueron: Discicristoidea (0.1%) y Fungi (0.9%) (Fig. 2B). Liu *et al.* (2019), también reportaron fitoplancton eucariótico, Cryptophyta, Chrysophyceae, Chlorophyta y Dinophyta con un 24% de abundancia relativa (estos grupos disminuían con el decremento de la biomasa cianobacteriana), lo que contrasta con nuestros hallazgos, donde observamos la ausencia de Cryptophyta y Dinophyta; además de una baja abundancia de Chrysophyceae, con un 0.26 y 0.45% y Chlorophyta, con un 0.11 y 0.28% (Fig. 2 y Material Suplementario). Por otro lado, en un sistema de agua salada, Zhou *et al.* (2018) reportaron que los dinoflagelados fueron el mayor grupo taxonómico presente durante todo el desarrollo del florecimiento de *A. catenella*, mientras que, en la etapa terminal, se detectó la presencia de diatomeas, algas verdes, rotífera y otros microzooplankton; lo cual está en discrepancia con la baja abundancia relativa de dinoflagelados (0.12% y 0.07%) encontrados en este trabajo (Fig. 2 y Material Suplementario).

El siguiente grupo más abundante identificado, fue Stramenopiles, Alveolata y Rhizaria (SAR) (Fig. 2 y Fig. 4). La mayor parte de los datos moleculares reportados de este grupo provienen de muestras marinas, se estima que representan el 50% de la diversidad eucariótica (Gratpanche *et al.*, 2018). Rhizaria estuvo entre las Unidades Transcripcionales Operacionales u OTU's por sus siglas en inglés dominantes en una floración primaveral cianoalgal, dominada por *Synechococcus* en el Lago Baikal que se encuentra en el valle de Rift en el sureste de Siberia (Mikhailov *et al.*, 2018).

La distribución y abundancia de especies de zooplancton son indicadores de contaminación; así mismo, se han asociado también a problemas de floraciones relacionadas con eutrofización de cuerpos de agua (Ismail & Adnan, 2016; Krupa *et al.*, 2020). Entre los grupos reportados como indicadores de eutrofización están, Rotífera, Copepoda y Cladocera, a nivel de género y especie, *Brachionus forficula*, *Brachionus nilsoni* y *Trichocerca* sp. (Ismail & Adnan 2016). En las muestras de la presa "El Palote", en ambas profundidades se identificaron Copepoda, orden Cyclopoida y orden Calanoida (Fig. 2C, Fig. 4); la abundancia de Copepoda ha sido asociada con la presencia de nitrógeno amoniacal y fosfatos, mientras que la dominancia de Cyclopoides, como *Mesocyclops leukarti*, se asocia con fosfatos (Krupa *et al.*, 2020). Phyllozoa (Diplostraca), Copepoda y Calanoida están entre los grupos de zooplancton encontrados en lagos; entre sus funciones ecológicas esta regular la presencia de cianobacterias nocivas (López-Moreira *et al.*, 2018; Ger *et al.*, 2016; Napiórkowska-Krzebietke *et al.*, 2020). Estos

Tabla 3. Tabla de contingencia para el test exacto de Fisher. Se determinó que existe una diferencia significativa ($p = 0.0001$) en la cantidad de especies del género *Flavobacterium* presentes en distintas profundidades de la presa.

	<i>Flavobacterium</i>	Otros	Total fila
Diferencialmente abundante	7	9	16
No abundante	9	145	154
Total	16	154	170

grupos se comportaron de forma diferencial con respecto a la profundidad, estando en mayor abundancia a dos metros Cyclopoida (Copepoda), Phyllopoda (Diplostraca) y en la superficie, Calanoida (Copepoda) (Fig. 4C), los patrones diferenciales que observamos son un reflejo del cambio en la estructura del zooplancton; se ha documentado que las floraciones dominadas por Cyanobacterias y Chlorofitas impactan ne-

gativamente la riqueza de especies de zooplancton (Amorim & Moura, 2021). El impacto ecológico de los florecimientos algales en cuerpos de agua dulce incluye, además, un deterioro en la calidad del agua, una reducción en la diversidad del plancton y cambios en los patrones de dominancia lo que induce una pérdida en la riqueza de especies (Amorim & Moura, 2021).

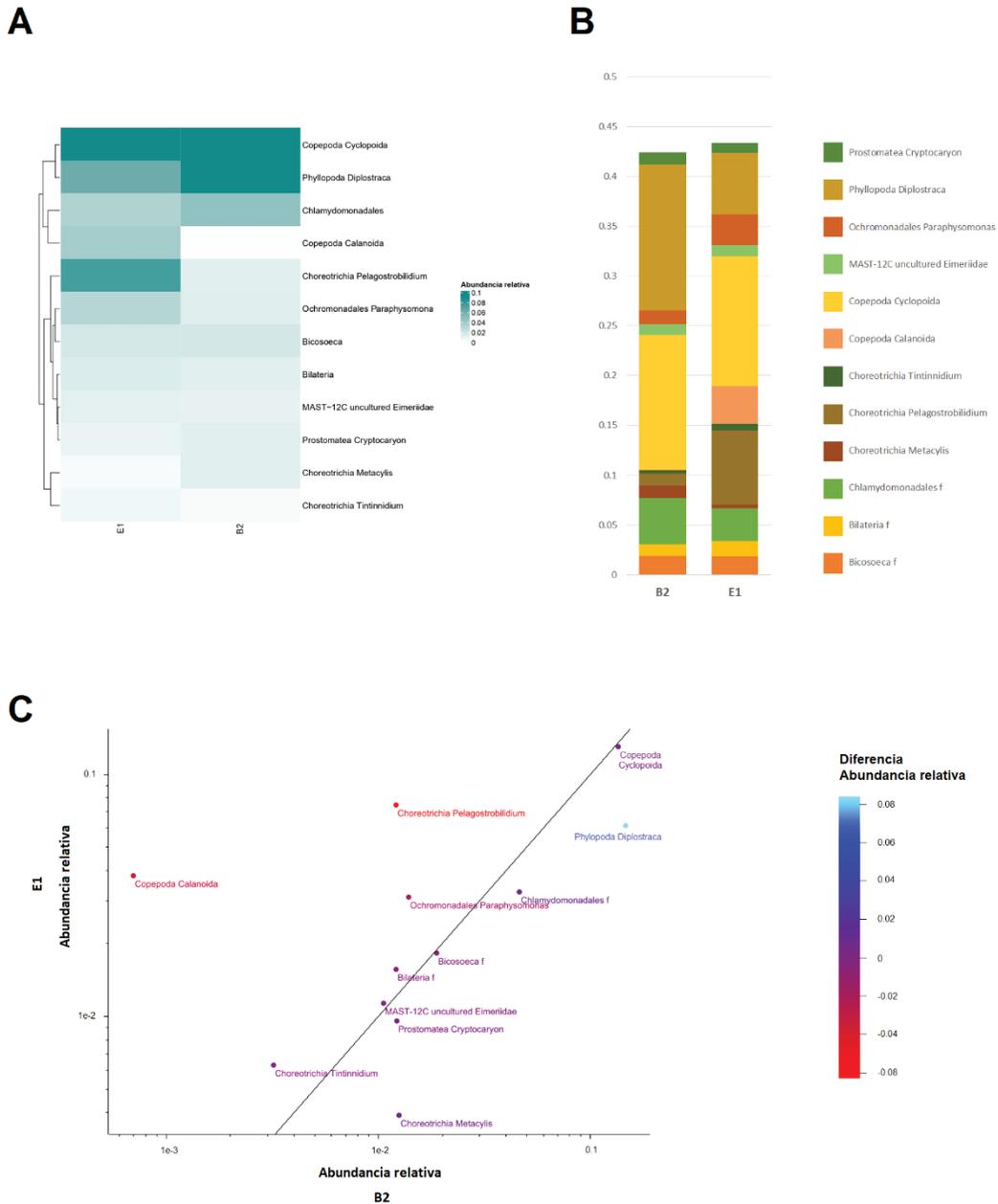


Figura 4. Abundancia relativa de los ASVs eucarióticos. **A)** Mapa de calor en donde se muestran las abundancias a nivel Taxon en E1 y B2, se observa que los ASVs más abundantes en ambas muestras son Ciclopoida (Copepoda), además de Phyllopoda (Diplostraca) en B2. **B)** Gráfica de barras acumuladas de abundancia relativa, se muestran las diferencias más importantes: Calanoida (Copepoda) y *Pelagostrobilidium* (Choreotrichia), con una mayor abundancia en E1 mientras que Phyllopoda (Diplostraca) fue más abundante en B2. **C)** Se muestra en escala logarítmica la relación de abundancia relativa entre B2 y E1, en la gráfica podemos observar en orden creciente cerca de la línea de tendencia aquellos ASVs con una diferencia de abundancia menor entre ambas muestras, las muestras más alejadas representan aquellas con las diferencias más importantes. En escala de colores cian a rojo se muestra la diferencia de abundancia relativa de E1-B2; en morado se muestra las diferencias cercanas a 0, en escala de azul si fueron más abundantes en B2 y en escala de rojo si fueron más abundantes en E1.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados presentan un panorama de la diversidad de los microorganismos en un sistema donde el taxón dominante es *Planktothrix* spp., lo cual es un primer acercamiento para comprender sus interacciones microbianas cuando el hábitat cambia, favoreciendo el crecimiento descontrolado de un grupo taxonómico. Adicionalmente, la identificación a nivel genético de las cianobacterias potencialmente tóxicas presentes en cuerpos de agua permite predecir, prevenir y remediar de forma dirigida las posibles floraciones.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación forma parte de un proyecto apoyado por el Programa Institucional de Investigación, Ciencia y Tecnología (PIICYT) 2021 del ITESI. Se aprecia el trabajo que hicieron Ruth Mendoza Escamilla, Astri Lisset Rodríguez Miranda y Natalia Gpe. Ordaz González pasantes de la Carrera de Ingeniería Bioquímica, así como la colaboración de SAPAL para la toma de muestras. LVS es miembro del Sistema Nacional de Investigadores (SNI), México.

REFERENCIAS

- ABED, R.M., A. AL-THUKAIR & D. DE BEER. 2006. Bacterial diversity of a cyanobacterial mat degrading petroleum compounds at elevated salinities and temperatures. *FEMS Microbiology Ecology* 57(2): 290-301. DOI:10.1111/j.1574-6941.2006.00113.x
- AMIN, S. A., L. R. HMELO, H. M. VAN TOL, B. P. DURHAM, L. T. CARLSON, K. R. HEAL, R. L. MORALES, C. T. BERTHIAUME, M. S. PARKER, B. DJUNAEDI, A. E. INGALLS, M. R. PARSEK, M. A. MORAN & E. V. ARMBRUST. 2015. Interaction and signaling between a cosmopolitan phytoplankton and associated bacteria. *Nature* 522: 98-101. DOI:10.1038/nature14488
- AMORIM, C. A. & A. DO N. MOURA. 2021. Ecological impacts of freshwater algal blooms on water quality, plankton biodiversity, structure, and ecosystem functioning. *Science of The Total Environment* 758:143605. DOI:10.1016/j.scitotenv.2020.143605
- BEAZ-HIDALGO, R., F. LATIF-EUGENIN, M. J. HOSSAIN, K. BERG, R. M. NIEMI, J. RAPALA, C. LYRA, M. R. LILES & M. J. FIGUERAS. 2015. *Aeromonas aquatica* sp. nov., *Aeromonas finlandensis* sp. nov. and *Aeromonas lacus* sp. nov. isolated from Finnish waters associated with cyanobacterial blooms. *Systematic and Applied Microbiology* 38(3): 161-168. DOI:10.1016/j.syapm.2015.02.005
- BERG, K., C. LYRA, K. SIVONEN, L. PAULIN, S. SUOMALAINEN, P. TUOMI & J. RAPALA. 2009. High diversity of cultivable heterotrophic bacteria in association with cyanobacterial water blooms. *Journal of Microbial Ecology* 3: 314-325. DOI:10.1038/ismej.2008.110
- BRAMBILLA, E., H. HIPPE, A. HAGELSTEIN, B. J. TINDALL & E. STACEBRANDT. 2001. 16S rDNA diversity of cultured and uncultured prokaryotes of a mat sample from Lake Fryxell, McMurdo Dry Valleys, Antarctica. *Extremophiles* 5: 23-33. DOI:10.1007/s007920000169
- CALLAHAN, B. J., P. J. McMURDIE, M. J. ROSEN, A. W. HAN, A. J. JOHNSON & S. P. HOLMES. 2016. DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13(7): 581-583. DOI:10.1038/nmeth.3869
- CANTORAL-URIZA, E. A., A. D. ASENCIO-MARTÍNEZ & M. ABOAL-SANJURJO. 2017. Cyanotoxins: environmental and health effects. *Prevention measures. Hidrobiológica* 27 (2): 241-251. DOI:10.24275/uam/izt/dcbi/hidro/2017v27n2/Cantoral
- CAPORASO, J. G., J. KUCZYNSKI, J. STOMBAUGH, K. BITTINGER, F. D. BUSHMAN, E. K. COSTELLO, N. FIERER, A. G. PEÑA, J. K. GOODRICH, J. I. GORDON, G. A. HUTTLEY, S. T. KELLEY, D. KNIGHTS, J. E. KOENIG, R. E. LEY, C. A. LOZUPONE, D. McDONALD, B. D. MUEGGE, M. PIRRUNG, J. REEDER, J. R. SEVINSKY, P. J. TURNBAUGH, W. A. WALTERS, J. WIDMANN, T. YATSUNENKO, J. ZANEVELD & R. KNIGHT. 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods* 7 (5): 335-336. DOI:10.1038/nmeth.f.303
- CATHERINE, A., C. QUIBLIER, C. YÉPRÉMIAN, G. PATRICE, A. GROLEAU, B. VINCON-LEITE, C. BERNAD & M. TROYSELLIER. 2008. Collapse of a *Planktothrix agardhii* perennial bloom and microcystin dynamics in response to reduced phosphate concentrations in a temperate lake. *FEMS Microbiology Ecology* 65: 61-73. DOI:10.1111/j.1574-6941.2008.00494.x
- DALY, A.J., J. M. BAETENS & B. DE BAETS. 2018. Ecological Diversity: Measuring the Unmeasurable. *Mathematics* 6 (119): 1-28. DOI:10.3390/math6070119
- DANTAS, E. W., A. N. MOURA & M. C. BITTENCOURT-OLIVEIRA. 2011. Cyanobacterial blooms in stratified and destratified eutrophic reservoirs in semi-arid region of Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 83(4): 1327-1338. DOI:10.1590/S0001-37652011000400019
- DAVIS, P. A., M. DENT, J. PARKER, C.S. REYNOLDS & A. E. WALSBY. 2003. The annual cycle of growth rate and biomass change in *Planktothrix* spp. In Blelham Tarn, English Lake District. *Freshwater Biology* 48: 852-867. DOI:10.1046/j.1365-2427.2003.01055.x
- DEBROAS, D., I. DOMAIZON, J. F. HUMBERT, L. JARDILLIER, C. LEPÈRE, A. OUDART & N. TAÏB. 2017. Overview of freshwater microbial eukaryotes diversity: a first analysis of publicly available metabarcoding data. *FEMS Microbiol Ecology* 93(4): 1-14. DOI:10.1093/femsec/fix023
- FAVARI, L., E. LÓPEZ, L. MARTÍNEZ-TABCHE & E. DÍAZ-PARDO. 2002. Effect of insecticides on plankton and fish of Ignacio Ramírez Reservoir (Mexico): a biochemical and biomagnification study. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 51:177-186. DOI:10.1006/eesa.2002.2142
- FERNÁNDEZ-BRAVO, A. & M.J. FIGUERAS. 2020. An Update on the Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Epidemiology, and Pathogenicity. *Microorganisms* 8(1):129. DOI:10.3390/microorganisms8010129
- FIGUERAS, M.J., A. ALPERI, R. BEAZ-HIDALGO, E. STACKEBRANDT, E. BRAMBILLA, A. MONERA & A. J. MARTÍNEZ-MURCIA. 2011. *Aeromonas rivuli* sp. nov., isolated from the upstream region of a karst water rivulet. *International Journal of Systematic and Evolution Microbiology* 61(2): 242-248. DOI:10.1099/ijs.0.016139-0
- FUENTES, J. F., I. GARBAYO, M. CUARESMA, Z. MONTERO, M. GONZÁLEZ-DEL-VALLE & C. VILCHEZ. 2016. Impact of microalgae-bacteria interactions on the production of algal biomass and associated compounds. *Marine drugs* 14(5): 100. DOI:10.3390/md14050100
- GARCÍA-MENDOZA, E., S. I. QUIJANO-SCHEGGIA, A. OLIVOS ORTÍZ & E. J. NÚÑEZ-VÁZQUEZ. 2016. *Florecimientos algales nocivos en México*. Ensenada, México. CICESE. 438 p

- GAYTÁN-HERRERA, M. L., C. MARTÍNEZ-ALMEIDA, M. G. OLIVA-MARTÍNEZ, A. DURÁN-DÍAZ & P. RAMÍREZ-GARCÍA. 2011. Temporal variation of phytoplankton from the tropical reservoir Valle de Bravo, Mexico. *Journal of Environmental Biology* 32: 117-126.
- GER, K. A., P. URRUTIA-CORDERO, P. C. FROST, L. A. HANSSON, O. SARNELLE, A. E. WILSON & M. LÜRLING. 2016. The interaction between cyanobacteria and zooplankton in a more eutrophic world. *Harmful Algae* 54:128-144. DOI: 10.1016/j.hal.2015.12.005
- GOBLER, C. J. 2020. Climate change and Harmful Algal Blooms: Insights and perspective. *Harmful Algae* 91 (101731): 1-4. DOI:10.1016/j.hal.2019.101731
- GOTELLI, N.J. & R. K. COLWELL. 2001. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters* 4: 379-391. DOI:10.1046/j.1461-0248.2001.00230.x
- GRATTEPANCHE, J. D., L. M. WALKER, B. M. OTT, D. L. PAIM-PINTO, C. F. DELWICHE, C. E. LANE & L. A. KATZ. 2018. Microbial Diversity in the Eukaryotic SAR Clade: Illuminating the Darkness Between Morphology and Molecular Data. *BioEssays* 40(4): 1700198. DOI:10.1002/bies.201700198
- HERNÁNDEZ-TERRONES, L. M., V. M. NAVA-RUIZ, S. ESCOBAR-MORALES & D. ORTEGA-CAMACHO. 2016. Florecimientos algales de cianobacterias en un cenote de Quintana Roo y su relación con la calidad el agua. In: García-Mendoza, E., S. I. Quijano-Scheggia, A. Olivos-Ortiz & E. J. Núñez-Vázquez (eds.). *Florecimientos Algales Nocivos en México*. Ensenada, México. CICESE, pp 422-432.
- INKINEN, J., B. JAYAPRAKASH, S. SIPONEN, A. HOKAJÄRVI, M. PURSIAINEN, J. IKONEN, I. RYZHIKOV, M. TÄUBEL, A. KAUPPINEN, J. PAANANEN, I. T. MIETTINEN, E. TORVINEN, M. KOLEHMAINEN & T. PITKÄNEN. 2019. Active eukaryotes in drinking water distribution systems of ground and surface waterworks. *Microbiome* 7(1): 99. DOI:10.1186/s40168-019-0715-5
- ISMAIL, A.H. & A. A. M. ADNAN. 2016. Zooplankton composition and abundance as indicators of eutrophication in two small man-made lakes. *Tropical Life Sciences Research* 27 (Supp. 1): 31-38. DOI:10.21315/tlsr2016.27.3.5
- JAKHAR, P. 2013. Role of Phytoplankton and Zooplankton as Health Indicators of Aquatic Ecosystem: A Review. *International Journal of Innovation Research Study* 2(12): 490-500.
- KOMÁREK, J. & J. KOMÁRKOVÁ-LEGEROVÁ. 2002. Contribution to the knowledge of planktic cyanoprokaryotes from central Mexico. *Preslia, Praha* 74: 207-233.
- KÜRMEYER, R., G. CHRISTIANSEN, J. FASTNER & T. BÖRNER. 2004. Abundance of active and inactive microcystin genotypes in populations of the toxic cyanobacterium *Planktothrix* spp. *Environmental Microbiology* 6(8): 831-841. DOI:10.1111/j.1462-2920.2004.00626.x
- KRUPA, E., S. ROMANOVA, G. BERKINBAEV, N. YAKOVLEVA & E. SADVAKASOV. 2020. Zooplankton as Indicator of the Ecological State of Protected Aquatic Ecosystems (Lake Borovoe, Burabay National Nature Park, Northern Kazakhstan). *Water* 12(9): 2580 DOI:10.3390/w12092580
- LI, Q., F. LIN, C. YANG, J. WANG, Y. LIN, M. SHEN, M. S. PARK, T. LI & J. ZHAO. 2018. A Large-Scale Comparative Metagenomic Study Reveals the Functional Interactions in Six Bloom-Forming Microcystis-Epibiont Communities. *Frontiers in Microbiology* 9 (746): 1-16. DOI:10.3389/fmicb.2018.00746
- LIU, L., H. CHEN, M. LIU, J. R. YANG, P. XIAO, D. M. WILKINSON & J. YANG. 2019. Response of the eukaryotic plankton community to the cyanobacterial biomass cycle over 6 years in two subtropical reservoirs. *The Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology* 13: 2196-2208 DOI:10.1038/s41396-019-0417-9
- MALLIA, V., L. IVANOVA, G. S. ERIKSEN, E. HARPER, L. CONNOLLY & S. UHLIG. 2020. Investigation of *In Vitro* Endocrine Activities of Mycrocystis and *Planktothrix* Cyanobacterial Strains. *Toxins* 12(4): 228. DOI:10.3390/toxins12040228
- MERCADO-BORRAYO, B. M., J. A. ELÍAS-MAXIL, O. CERÓN-ALFARO & R. M. RAMÍREZ-ZAMORA. 2008. *Determinación de la cianobacteria *Cylindrospermopsis* sp. en el agua cruda de la planta potabilizadora Los Berros*. XVI Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales, 21-26 de abril de 2008, Ciudad de México, México. 6 p.
- MIKHAILOV, I. S., Y. R. ZAKHAROVA, Y. S. BUKIN, Y. P. GALACHYANTS, D. P. PETROVA, M. V. SAKIRKO & Y. V. LIKHOSHWAY. 2018. Co-occurrence Networks Among Bacteria and Microbial Eukaryotes of Lake Baikal During a Spring Phytoplankton Bloom. *Environmental Microbiology* 77: 96-109. DOI:10.1007/s00248-018-1212-2
- MOHAPATRA, S. 2018. *Climate Change, New Security Challenges and the United Nations*. Routledge, London. 348 p.
- LÓPEZ-MOREIRA, M. G. A., L. HINEGK, A. SALVADORE, G. ZOLEZZI, F. HÖLKER, S. R. A. MONTE-DOMEQO, M. BOCCI, S. CARRER, L. DE NAT, J. ESCRIBÁ, C. ESCRIBÁ, G. A. BENÍTEZ, C. R. ÁVALOS, I. PERALTA, M. INSURRALDE, F. MERELLES, J. M. SEKATCHEFF, A. WEHRLE, J. F. FACETTI-MASULLI, J. F. FACETTI & M. TOFFOLON. 2018. Eutrophication, research and management history of the shallow Ypacaraí Lake (Paraguay). *Sustainability* 10: 2426. DOI:10.3390/su10072426
- MORENO, D. E., F. BARRAGÁN, E. PINEDA & N. P. PAVON. 2011. Reanálisis de la diversidad alfa: alternativas para interpretar y comparar información sobre comunidades ecológicas. *Revista Mexicana de biodiversidad* 82: 1249-1261.
- NAPIÓRKOWSKA-KRZEBIETKE, A., K. KALINOWSKA, E. BOGACKA-KAPUSTA, K. STAWECKI & P. TRACZUK. 2020. Cyanobacterial Blooms and Zooplankton Structure in Lake Ecosystem under Limited Human Impact. *Water* 12 (5): 1252. DOI:10.3390/w12051252
- NEEDHAM, D. M. & J. A. FUHRMAN. 2016. Pronounced daily succession of phytoplankton, archaea and bacteria following a spring bloom. *Nature Microbiology* 1: 1-7. DOI:10.1038/nmicrobiol.2016.5
- LURIA, C. M., L. A. AMARAL-ZETTLER, H. W. DUCKLOW, D. J. REPETA, A. L. RHYNE & J. J. RICH. 2017. Seasonal shifts in bacterial community responses to phytoplankton-derived dissolved organic matter in the Western Antarctic Peninsula. *Frontiers in Microbiology* 8: 2117 DOI:10.3389/fmicb.2017.02117
- OLIVER, R. L. & G. G. GANF, G. G. 2000. Freshwater blooms. In: Whitton, B. A. & M. Potts (eds.). *The Ecology of Cyanobacteria. Their Diversity in Time and Space*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, pp. 149-194.

- PÉREZ-MORALES, A., A. OLIVOS-ORTIZ, S. I. QUIJANO-SCHEGGIA, C. A. ESPINOSA-RODRÍGUEZ & M. A. JIMÉNEZ-SANTOS. 2016. Estado actual del estudio de cianobacterias dulceacuiculas formadoras de florecimientos en el centro de México. *In: García-Mendoza, E., S. I. Quijano-Scheggia, A. Olivos-Ortiz & E. J. Núñez-Vázquez (eds.). Florecimientos Algales Nocivos en México.* Ensenada, México. CICESE, pp 408-421.
- PINEDA-MENDOZA, R. M., R. OLVERA-RAMÍREZ & F. MARTÍNEZ-JERÓNIMO. 2012. Mycrocystins produced by filamentous cyanobacteria in urban lakes. A case study in Mexico City. *Hidrobiológica* 22(3): 290-298.
- RAMANAN, R., Z. KANG, B. H. KIM, D. H. CHO, L. JIN, H. M. OH & H. S. KIM. 2015. Phycosphere bacterial diversity in green algae reveals an apparent similarity across habitats. *Algal Research* 8: 140-144. DOI:10.1016/j.algal.2015.02.003
- RAMANAN, R., B. H. KIM, D. H. CHO, L. JIN, L. H. M. OH & H. S. KIM. 2016. Algae-bacteria interactions: Evolution, ecology and emerging applications. *Biotechnology Advances* 34:14-29. DOI:10.1016/j.biotechadv.2015.12.003
- SIVONEN, K. & G. JONES. 1999. Cyanobacterial toxins. *In: Chorus, I. & J. Bartram (eds.). Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management.* London, UK: WHO, E & FN Spon, pp. 41-112.
- SRIVASTAVA, A., S. SINGH, C. Y. AHN, H. M. OH & R. K. ASTHANA. 2013. Monitoring approaches for a toxic cyanobacterial bloom. *Environ Sci Technol* 47(16): 8999-9013. DOI:10.1021/es401245k
- SRIVASTAVA, A., C. Y. AHN, R. K. ASTHANA, H. G. LEE & H. M. OH. 2014. Status, alert system, and prediction of cyanobacterial bloom in South Korea. *BioMed Research International* 2015(584696): 8. DOI:10.1155/2015/584696
- SUN, Z., G. LI, C. WANG, Y. JING, Y. ZHU, S. ZHANG & Y. LIU. 2014. Community dynamics of prokaryotic and eukaryotic microbes in an estuary reservoir. *Scientific Reports* 4: 6966. DOI:10.1038/srep06966
- TAN, S. J., J. ZHOU, X. ZHU, Y. SHICHEN, W. G. ZHANG, B. WANG & C. ZHONGHUA. 2015. An association network analysis among microeukaryotes and bacterioplankton reveals algal bloom dynamics. *Journal Phycology* 51: 120-132. DOI:10.1111/jpy.12259
- TEELING, H., B. M. FUCHS, D. BECHER, C. KLOCKOW, A. GARDEBRECHT, C. M. BENNKE, M. KASSABGY, S. HUANG, A. J. MANN, J. WALDMANN, M. WEBER, A. KLINDWORTH, A. OTTO, J. LANGE, J. BERNHARDT, C. REINSCH, M. HECKER, J. PEPLIES, F. D. BOCKELMANN, U. CALLIES, G. GERDTS, A. WICHELS, K. H. WILTSHIRE, F. O. GLÖCKNER, T. SCHWEDER† & R. AMANN†. 2012. Substrate-controlled succession of marine bacterioplankton populations induced by a phytoplankton bloom. *Science* 336 (6081): 608-611. DOI:10.1126/science.1218344
- THUKRAL, A. K., R. BHARDWAJ, V. KUMAR & A. SHARMA. 2019. Corrigendum to "New indices regarding the dominance and diversity of communities, derived from sample variance and standard deviation" *Heliyon* 5(12): e03017. DOI:10.1016/j.heliyon.2019.e03017
- TUOMAINEN, J. M., S. HIETANEN, J. KUPARINEN, P. J. MARTIKAINEN & K. SERVOMAA. 2003. Baltic Sea cyanobacterial bloom contains denitrification and nitrification genes, but has negligible denitrification activity. *FEMS Microbiology Ecology* 45(2): 83-96.
- VASAS, G., O. FARKAS, G. BORICS, T. FELFÖLDI, G. SRAMKÓ, G. BATRA, I. BÁCSEI & S. GONDA. 2013. Appearance of *Planktothrix rubescens* Bloom with [D-Asp3, Mdha7] MC-RR in Gravel Pit Pondo f a Shallow Lake-Dominated Area. *Toxins* 5: 2434-2455. DOI:10.3390/toxins5122434
- VASCONCELOS, V., A. MARTINS, M. VALE, A. ANTUNES, J. AZEVEDO, M. WELKER, O. LÓPEZ & G. MONTEJANO. 2010. First report on the occurrence of microcystins in planktonic cyanobacteria from Central Mexico. *Toxicon* 56: 425-431. DOI:10.1016/j.toxicon.2010.04.011
- VIZCAINO-RODRÍGUEZ, L. A., J. L. CARO-BECERRA, P. A. MAYORAL-RUIZ, R. LUJAN-GODÍNEZ & J. G. MICHEL-PARRA. 2019. Biodiversidad del fitoplancton y calidad de agua, un desafío mundial. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias* 10: 205-216. DOI:10.7550/rmb.32706
- WIERZCHOS, J., J. DIRUGGIERO, P. VÍTEK, O. ARTIEDA, V. SOUZA-EGIPSY, P. SKALLOUD, M. TISZA, A. DAVILA, C. VILCHEZ, I. GARBAYO & C. ASCASO. 2015. Adaptation strategies of endolithic chlorophototrophs to survive the hyperatid and extreme solar radiation environment of the Atacamadessert. *Frontiers in Microbiology* 6(10):934. DOI:10.3389/fmicb.2015.00934
- XU, Z., S. H. TE, C. XU, H. YILIANG & K. Y. H. GIN. 2018. Variations of Bacterial Community Composition and Functions in an Estuary Reservoir during Spring and Summer Alternation. *Toxins* 10 (315): 45-66. DOI:10.3390/toxins10080315
- XUE, Y. Y., Z. YU, H. H. CHEN, J. R. YANG, M. LIU, L. M. LIU & B. Q. HUANG. 2017. Cyanobacterial bloom significantly boosts hypolimnetic anammox bacterial abundance in a subtropical stratified reservoir. *FEMS Microbiology Ecology* 93(10): 118. DOI:10.1093/femsec/fix118
- YAN, M., S. CHEN, T. HUANG, B. LI, N. LI, K. LIU, R. ZONG, R. MIAO & X. HUANG. 2020. Community Compositions of Phytoplankton and Eukaryotes during the Mixing Periods of a Drinking Water Reservoir: Dynamics and Interactions. *Environmental Research and Public Health* 17(4): 1128. DOI:10.3390/ijerph17041128
- ZHANG, H., J. JIA, S. CHEN, T. HUANG, Y. WANG, Z. ZHAO, J. FENG, H. HAO, S. LI & X. MA. 2018. Dynamics of Bacterial and Fungal Communities during the Outbreak and Decline of an Algal Bloom in a Drinking Water Reservoir. *International Journal Environmental Research Public Health* 5: 361-381. DOI:10.3390/ijerph15020361
- ZHAO, D. Y., F. SHEN, J. ZENG, R. HUANG, Z. YU & L. W. QINGLONG. 2016. Network analysis reveals seasonal variation of co-occurrence correlations between Cyanobacteria and other bacterioplankton. *Science of The Total Environment* 573: 817-825. DOI:10.1016/j.scitotenv.2016.08.150
- ZHENG, T. L., W. LI & Y. LI. 2011. Advance in study on microbial control of harmful algae blooms-exploitation and research on marine algicidal bacteria. *Xiamen: Xiamen University*. 10: 1658-1668.
- ZHOU, J., M. L. RICHLIN, T. R. SEHEIN, D. M. KULIS, D. M. ANDERSON & Z. CAI. 2018. Microbial Community Structure and Associations During a Marine Dinoflagellate Bloom. *Frontiers in Microbiology* 9:1201. DOI:10.3389/fmicb.2018.01201