Hidrobiológica 2025, 35 (2): 139-153

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA Unidad Iztapalapa
Casa abierta al tiempo

HIDROBIOLÓGICA
http:/hidrobiologica.izt.uam.mx
ISSN: 2448-7333

OPEN ACCESS
Research Article
August, 2025

Los extractos crudos de fitoplancton del embalse Valle de Bravo, México producen toxicidad en embriones de *Danio rerio*

Crude extracts of phytoplankton from the Valle de Bravo reservoir, Mexico, produce toxicity in embryos of *Danio rerio*

Maricruz S. Quintero-Serrano, Fernando Martínez-Jerónimo y Miriam Hernández-Zamora*

Recibido: 31 de mayo de 2024. ***Aceptado:*** 13 de febrero de 2025. ***Publicado:*** agosto de 2025.

Laboratorio de Hidrobiología Experimental, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Prolongación Carpio y Plan de Ayala S/N, Col. Santo Tomás, Cd. De México, 11340, México

***Corresponding author:**
Miriam Hernández-Zamora: e-mail: mahernandezz@ipn.mx; miri.hernandez.zamora@hotmail.com

To quote as:
Quintero-Serrano, M. S., F. Martínez-Jerónimo & M. Hernández-Zamora. 2025. Los extractos crudos de fitoplancton del embalse Valle de Bravo, México producen toxicidad en embriones de *Danio rerio*. *Hidrobiológica* 35 (2): 139-153.

DOI:10.24275/PEOQ3887

RESUMEN

Antecedentes: El Sistema Cutzamala abastece de agua potable a una parte de la Zona Metropolitana del Valle de México, siendo el embalse de Valle de Bravo (VB) uno de los que principalmente aporta. Este embalse ha recibido impactos de actividades domésticas, agrícolas y turísticas, teniendo como consecuencia deterioro en la calidad del agua, favoreciendo la eutrofización y el desarrollo de Florecimientos Algales Nocivos (FANs), que son potencialmente dañinos para la biota acuática y salud humana. **Objetivos:** Evaluar el efecto de los extractos crudos de biomasa fitoplanctónica del embalse sobre las primeras etapas de vida de *Danio rerio*. **Métodos:** Las muestras de biomasa se colectaron en seis puntos durante marzo a diciembre de 2019, en los que de manera constante se registraron florecimientos permanentes dominados por cianobacterias. Los extractos crudos acuosos se obtuvieron por rompimiento celular y se emplearon para exponer a embriones de *D. rerio*, evaluando 0.01, 0.1, 1, 10 y 100 mg L^{-1} de biomasa fitoplanctónica. **Resultados:** La exposición a extractos crudos en embriones produjo efectos letales (coagulación y muerte), respuestas subletales (ausencia de pigmentación, edema en saco vitelino, cola curveada) y efectos teratogénicos. En la biomasa fitoplanctónica se identificaron cianotoxinas como anabaenopeptinas y microcistinas en diversas cantidades durante el periodo de colecta. **Conclusiones:** La presencia y frecuencia de los efectos observados en *D. rerio* estuvo relacionada con la concentración de microcistinas y la probable presencia de otros metabolitos secundarios de cianobacterias potencialmente tóxicas, presentes en VB. Los resultados alertan sobre los efectos dañinos que se pueden producir en la biota acuática después un florecimiento y de la ruptura de la biomasa cianobacterial y también sobre los riesgos potenciales a la salud humana cuando esta agua se potabiliza para consumo humano.

Palabras clave: Cianotoxinas, efectos letales, efectos subletales, Florecimientos Algales Nocivos (FANs), Florecimientos Cianobacteriales Nocivos (FCNs)

ABSTRACT

Background: The Cutzamala System supplies potable water to part of the Metropolitan Area of the Valley of Mexico, with the Valle de Bravo (VB) reservoir being one of the primary sources. This reservoir has received impacts from domestic, agricultural, and touristic activities, resulting in a deterioration in water quality, favoring eutrophication and the development of Harmful Algal Blooms (HABs), potentially harmful to aquatic biota and human health. **Goals:** Evaluate the effect of crude extracts of phytoplankton biomass from the VB reservoir on the first life stages of *Danio rerio*. **Methods:** Biomass samples were collected at six points from March to December 2019, where permanent blooms dominated by cyanobacteria were continuously recorded. The crude aqueous extracts were obtained by cell breakdown and were used to expose *D. rerio* embryos, evaluating the concentrations of 0.01, 0.1, 1, 10, and 100 mg L^{-1} of phytoplankton biomass. **Results:** Exposure to crude extracts on embryos produced lethal effects (coagulation and death), sublethal responses (absence of pigmentation, yolk sac edema, curved tail), and teratogenic effects. In the biomass samples, cyanotoxins such as anabaenopeptins and microcystins were identified in different concentrations during the sampling period. **Conclusions:** The presence and frequency of the effects observed in *D. rerio* were related to the concentration of microcystins and the probable presence of other potentially toxic secondary metabolites of cyanobacteria in the VB reservoir. The results warn about the harmful effects that can occur in aquatic biota after the breakdown of cyanobacterial biomass following a bloom and also advise about the potential risks to human health when this water is processed and used for human consumption.

Keywords: cyanotoxins, lethal effects, sublethal effects, Harmful Algal Blooms (HABs), Harmful Cyanobacterial Blooms (HCBs)

INTRODUCCIÓN

Derivado del incremento de contaminantes provenientes de fuentes naturales y/o antropogénicas, en los últimos años se ha favorecido el enriquecimiento de nutrientes minerales en el agua, especialmente compuestos de nitrógeno y fósforo, lo que ha ocasionado eutrofización de los cuerpos de agua, promoviendo el crecimiento acelerado del fitoplancton y especies vegetales que ocasionan el desarrollo de florecimientos algales en los que se encuentran presentes especies potencialmente toxigénicas, como algunas cianobacterias, además de macrófitas. Los florecimientos algales generan, entre otras cosas, disminución en la transparencia del agua, abatimiento del oxígeno disuelto y deterioro de la calidad química, incluyendo la adición de olores y sabores desagradables en el agua potable, además de la posible presencia de toxinas que afectan la salud humana. A todo lo anterior se suman los efectos a nivel estético (Dokulil & Teubner, 2011).

Los florecimientos algales nocivos (FANs), son eventos en los que se observa multiplicación acelerada y acumulación masiva de células del fitoplancton representado principalmente por microalgas, diatomeas, dinoflagelados y cianobacterias unicelulares, coloniales o filamentosas. Estos FANs forman capas densas de biomasa que dan lugar a natas espesas ("scums") en la superficie del agua (Pérez-Morales *et al.,* 2016), que después de un florecimiento se descomponen, liberándose así el contenido celular al agua. Cuando los florecimientos están dominados o formados exclusivamente por cianobacterias toxigénicas, se denominan como florecimientos cianobacteriales nocivos (FCNs) que bajo algunas condiciones ambientales no bien determinadas aún, permiten que se expresen genes en las cianobacterias para la síntesis y acumulación de cianotoxinas, así como otros metabolitos que pueden generan diferentes respuestas tóxicas en la biota acuática y en los humanos, además de producir estrés oxidativo a nivel celular (López-Cortés *et al.,* 2015).

Uno de los grupos de especies que forma parte de los FAN son las cianobacterias, que se desarrollan en cuerpos de agua con altos niveles de eutrofización; los géneros más representativos son *Microcystis, Anabaena, Nodularia, Phormidium, Planktothrix, Lyngbya,* y *Pseudoanabaena,* siendo algunas de ellas clasificadas como especies toxigénicas debido a la producción de compuestos bioactivos que pueden ocasionar daños en el ambiente, provocando impactos negativos en la cadena trófica y la dinámica de las poblaciones acuáticas, así como en los ecosistemas en general (Montvydienè *et al.* 2020), aunque también causan daños a la salud humana y animal (Pérez-Morales *et al.,* 2016).

Las cianotoxinas son clasificadas de acuerdo con su estructura química, mecanismo de toxicidad y órgano sobre el cual ejercen su efecto. Dentro de estas se encuentran las neurotoxinas, como la anatoxina-a, homoanatoxina-a, saxitoxina, entre otras, que pueden generar toxicidad letal aguda al provocar la transmisión de impulsos nerviosos que conducen a la parálisis muscular y fallas respiratorias (Lucena, 2008). Un segundo grupo son las hepatotoxinas, como las microcistinas LA, LR, RR y YR, cilindrospermopsinas y nodularinas, las cuales generan intoxicación y lesiones en el hígado causando incluso la muerte en horas o días (Roset *et al.,* 2001). Las citotoxinas, como las saxitoxinas y cilindrospermopsinas generan daño en corazón e hígado, sistema vascular, linfático, digestivo y glándulas adrenales (Falconer & Humpage, 2006). Y por último las dermotoxinas, como las apliasitoxinas y lingbiatoxinas, las cuales producen irritación en la piel (Lucena, 2008).

En los animales, así como en los humanos, la intoxicación por cianotoxinas puede producirse por el consumo de agua contaminada, por exposición directa, inhalación de aerosoles o ingesta de alimentos que bioacumularon estos metabolitos, ocasionando malestares gastrointestinales, reacciones alérgicas (como erupciones cutáneas), descamación, irritación de ojos y oídos, entre otros síntomas (Drobac *et al.,* 2013; Codd *et al.,* 2017; Svirc-ev *et al.,* 2017).

Uno de los problemas que enfrentan los cuerpos de agua a nivel mundial es el incremento de la eutrofización, siendo los lenticos los más afectados, que representan una fuente importante de agua potable y para actividades productivas, como la agricultura y ganadería (Ledesma *et al.,* 2013; Garita-Alvarado *et al*., 2023). Por esta razón la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2020) ha establecido como límite máximo 1 µg L^{-1} y 24 µg L^{-1} de microcistinas en agua para consumo humano y recreacional, respectivamente. Por su parte, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA, 2015 y 2019) señala un máximo permisible de 1.6 µg L^{-1} para microcistinas y 3.0 µg L^{-1} de cilindrospermopsinas en agua potable, mientras que para aguas de uso recreativo establece 8 µg L^{-1} de microcistinas y 15 µg L^{-1} de cilindrospermopsinas.

En México se tiene la Norma Oficial Mexicana (NOM-127-SSA1-2021) Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad de agua, donde se establece que el límite permisible de microcistinas es de 1 µg L^{-1} en agua para uso y consumo humano. Debido a que tres cuartas partes de las aguas continentales de México presentan algún grado de eutrofización y considerando que muchos de estos cuerpos son destinados a actividades de recreación o bien como fuente de agua para poblaciones aledañas, el desarrollo de florecimientos representa un riesgo para la biota acuática y para la salud humana (Pineda-Mendoza *et al.,* 2011).

El embalse de Valle de Bravo es fuente del 40% del agua del sistema Lerma-Cutzamala (integrado por 7 embalses interconectados), que suministra más de un tercio de agua potable a la Zona Metropolitana del Valle de México (IMTA, 2012). Pese a su importancia, desde 1980 el embalse ha presentado un aumento en los niveles de eutrofización provocados por descargas provenientes de los ríos Amanalco, Molino, González, Carrizal y Tizates, que contienen escorrentías y desechos agrícolas, así como aguas residuales de los desagües de la población de Valle de Bravo y Avándaro. Estas descargas no controladas favorecen los florecimientos de fitoplancton, dominando frecuentemente cianobacterias potencialmente tóxicas, las cuales, al entrar en un proceso de degradación, liberan al medio estos metabolitos causantes de daños a los organismos (Olvera, 1996; Ramírez-Zierold *et al.,* 2010; CONAGUA, 2012).

La evaluación de los efectos causados por la exposición a este tipo de compuestos bioactivos puede realizarse mediante bioensayos de toxicidad con organismos como el pez cebra *Danio rerio*. Los estadios tempranos del desarrollo (huevos, embriones y larvas) de esta especie son ampliamente utilizados en Ecotoxicología debido a su alta sensibilidad de respuesta a estresores químicos, debido a su corion transparente, que permite observar el desarrollo de los organismos, su fácil manejo y el amplio conocimiento de su biología (Nagel 2002; Meyers, 2018).

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto tóxico de los extractos crudos acuosos obtenidos a partir del rompimiento de la

biomasa fitoplanctónica colectada mensualmente durante diez meses en seis puntos de muestreo del embalse de Valle de Bravo, Estado de México, sobre las primeras etapas de vida del pez cebra (*Danio rerio*), con relación a la presencia de cianotoxinas en estos extractos.

MATERIALES Y MÉTODO

Sitio de estudio. El embalse de Valle de Bravo se localiza en el municipio de Valle de Bravo, al poniente del Estado de México entre los paralelos 19°23'05" y 19°05'30" y los meridianos 99°52'00" y 100°11'40" (IMTA, 2012). Su superficie es de 18.55 km^2 y cuenta con una capacidad de almacenamiento de 394.4 hm^3 y una profundidad media de 21.1 m y máxima de 38.6 m, con una variación de 4 a 8 m, siendo la cortina la zona de mayor profundidad (CONAGUA, 2012). El embalse se caracteriza por ser de tipo monomíctico cálido, que se encuentra termalmente estratificado de abril a octubre mientras que el periodo de mezcla comprende los meses de noviembre a febrero (Merino *et al.,* 2003).

Obtención de muestras de biomasa fitoplanctónica. Las muestras de biomasa fitoplanctónica fueron colectadas a nivel superficial en los meses de marzo a diciembre del 2019 en seis sitios de muestreo dentro del embalse de Valle de Bravo (Fig. 1). El sitio **1** (19° 12' 29.8" N, 100° 10' 47.4" O) se localizó en la cortina, los sitios **2** (19° 12' 24.0" N 100° 09' 37.6" O) y **4** (19° 11' 10.2" N 100° 09' 19.9" O) eran puntos intermedios dentro del embalse, el sitio **3** (19° 13' 08.0" N 100° 08' 09.0" O) y el sitio **6** (19° 10' 40.8" N 100° 07' 33.2" O) se encontraban aledaños a los ríos tributarios Amanalco, Tizates y Molino, y el sitio **5** (19° 11' 18.1" N 100° 08' 01.6" O) se seleccionó debido a su cercanía al poblado de Valle de Bravo.

En cada sitio de muestreo se filtraron entre 40 y 60 litros de agua superficial, empleando una red de plancton de 48 µm. Las muestras de biomasa se concentraron en 250 mL y fueron mantenidas a 4°C hasta su arribo al laboratorio. En el laboratorio cada muestra fue filtrada nuevamente a 48 µm para eliminar el exceso de agua y posibles restos de vegetación. La biomasa concentrada se colocó en charolas de aluminio, para obtener el peso húmedo, y después se colocaron en un

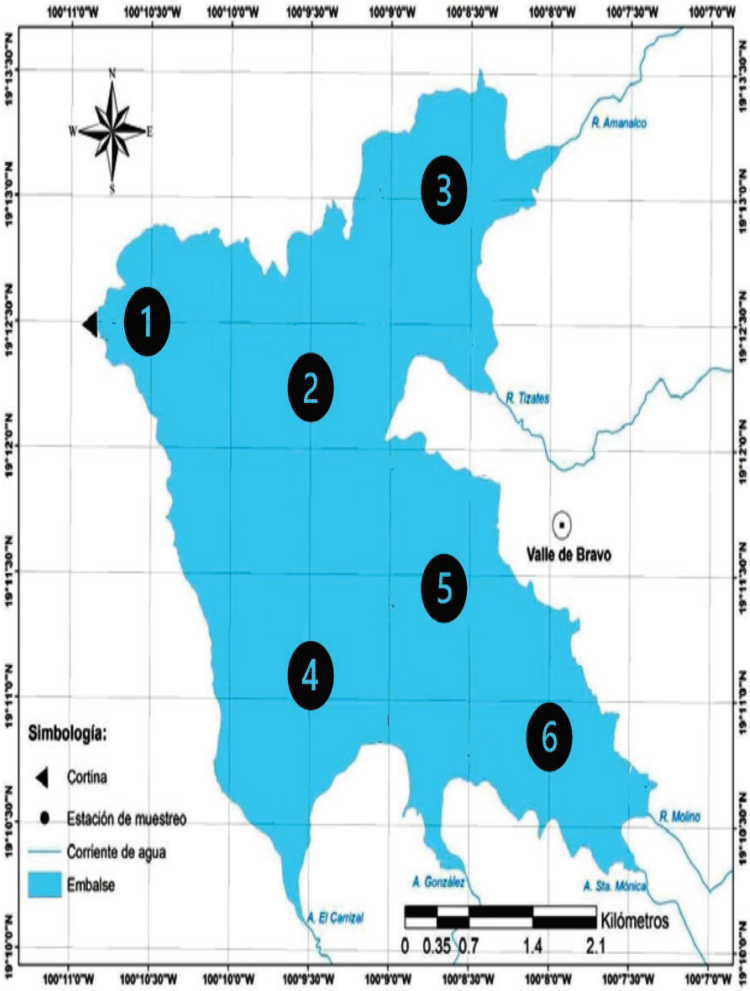

Figura 1. Mapa del embalse de Valle de Bravo, ubicación de estaciones de muestreo.1) Cortina del embalse, 2 y 4) Sitios intermedios, 3) Sitio aledaño a ríos tributarios (Amanalco, Tizates y Molino), 5) Pueblo de Valle de Bravo, 6) Sitio aledaño a ríos tributarios (Molino). (Modificado de CONAGUA, 2012).

horno Binder a 60ºC durante 24 h, para deshidratarlas y obtener el peso seco. Las muestras finalmente fueron conservadas en tubos tipo falcón en un ultracongelador Thermo Scientific a -40ºC hasta su posterior uso para la obtención de extractos crudos acuosos.

Extractos crudos acuosos de biomasa fitoplanctónica. Con base en la cantidad de biomasa colectada durante los meses de marzo a diciembre y los resultados correspondientes a su peso seco, para cada muestra se utilizaron 0.3 g de biomasa seca para la obtención de los extractos crudos acuosos, que fueron procesados de la siguiente manera: Se realizó el rompimiento celular en mortero con hielo seco; una vez que se obtuvo un polvo muy fino, se agregaron 15 mL de medio de dilución ISO (ISO, 2007) para la resuspensión de las muestras. Posteriormente se aplicaron tres ciclos de congelación (≈-78ºC) en un ultracongelador Thermo Scientific y descongelación en un baño seco Benchmark a 40ºC. Después de esto, las muestras fueron sonicadas a 40 kHz durante 10 minutos en un baño ultrasónico Scientific CS-UB-100. Finalmente las suspensiones fueron centrifugadas en el equipo Thermo Scientific Sorvall ST8 a 4500 rpm durante 5 minutos, se recuperaron los sobrenadantes y se filtraron consecutivamente con membranas Millipore® de nitrocelulosa de 5 µm, 3 µm y 0.45 µm de poro a fin de eliminar restos celulares y posibles microorganismos. Las muestras así procesadas fueron almacenadas en crioviales de 10 mL en ultracongelación hasta su uso en los bioensayos de toxicidad con *Danio rerio*.

Bioensayos de toxicidad con embriones y larvas de *Danio rerio.* Los huevos fertilizados de *Danio rerio* fueron obtenidos a partir de reproductores proporcionados por el Laboratorio de Hidrobiología Experimental de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. 24 horas previas al bioensayo, se instalaron acuarios de 40 L destinados a la reproducción con aireación, temperatura de 28°C y fotoperiodo de 16:8 h (luz: oscuridad). Los reproductores se colocaron en redes de maternidad en una proporción 2:1 (2 machos por 1 hembra). Por la mañana y en menos de una hora de reactivarse la iluminación en el área de desove, los reproductores fueron retirados de los acuarios y los huevos fueron recuperados del fondo y colocados en cristalizadores con medio de dilución ISO para comprobar su fecundación y viabilidad usando un estereomicroscopio Olympus modelo SZ2-LGB.

Tabla 1. Efectos evaluados en embriones y larvas de *Danio rerio* al ser expuestos a diferentes concentraciones de extractos crudos acuosos de biomasa fitoplanctónica de seis sitios de muestreo del embalse de Valle de Bravo.

	Tiempo de exposición (horas post-fertilización)			
	24	48	72	96
Efectos letales				
Coagulación	X			
Ausencia de somites	X			
Desprendimiento de la cola	X	X	X	X
Muerte del organismo	X	X	X	X
Efectos subletales				
Formación de edemas	X	X	X	X
Ausencia de pigmentación		X	X	
Cola curveada		X	X	X
Efectos teratogénicos	X	X	X	X

(Modificado de OECD, 2013)

Los bioensayos con extractos crudos acuosos se realizaron conforme al protocolo de la OECD 236 (2013) para evaluar los efectos letales y subletales en embriones y larvas de *D. rerio*. Se utilizaron placas de 24 pozos con capacidad de 2 mL cada uno, colocando un huevo fecundado (3-4 hpf) por pozo. Las soluciones de los extractos crudos fueron las equivalentes a la concentración de biomasa (peso seco) de 0.01, 0.1, 1, 10 y 100 mg L^{-1}, más un control negativo con medio de dilución ISO (ISO, 2007) y un control positivo con 3,4-dicloroanilina como tóxico de referencia para cada una de las muestras analizadas. Las placas se incubaron a 25°C en una cámara bioclimática Thermo Scientific modelo PR505755L con fotoperiodo de 16:8 (luz: oscuridad). En la Tabla 1 se enlistan los efectos evaluados cada 24 hpf hasta la conclusión de las pruebas (96 hpf).

Determinación de cianotoxinas intracelulares en la biomasa fitoplanctónica. Las muestras de fitoplancton del embalse de Valle de Bravo fueron procesadas por el equipo del Laboratorio de Hidrobiología Experimental. Esto consistió en una lisis celular de la biomasa para liberar las cianotoxinas intracelulares y aplicar extracción en fase sólida. Las cianotoxinas fueron analizadas en la Universidad de Montreal en la Facultad de Artes y Ciencias, Departamento de Química, complejo Científico para identificación y cuantificación de cilindrospermopsina (CYN), anatoxina-*a* (ANA-a), homoanatoxina-*a* (HANA-*a*), anabaenopeptina-A (AP-A), anabaenopeptina-B (AP-B) y las microcistinas dmMC-RR, dmMC-LR, MC-RR, MC-YR, MC-HtyR, MC-LR, MC-HilR, MC-VR, MC-LA, MC-LY, MC-LW, MC-LF. Las cianotoxinas fueron cuantificadas mediante la técnica de oxidación de Lemieux-von Rudloff para la producción de 2-metil-3-metoxy-4-ácido fenilbutirico (MMPB) (Wu *et al.,* 2009; Munoz *et al.*, 2017;) y parte de estos resultados son reportados en Martínez-Jerónimo *et al.* (2022).

Análisis estadísticos. Los resultados correspondientes al porcentaje de eclosión acumulada se analizaron con la prueba no paramétrica de Friedman ($P<0.05$), usando el software SigmaPlot para establecer diferencias significativas entre estos. Las gráficas correspondientes a porcentaje de eclosión, efectos letales y subletales, así como de cianotoxinas cuantificadas en los extractos crudos acuosos se elaboraron con el software GraphPad Prism 8.

RESULTADOS

Porcentaje de eclosión de huevos y larvas de *Danio rerio* expuestos a extractos crudos de biomasa fitoplanctónica. La eclosión en larvas de *Danio rerio* inició a partir de las 72 horas. La Fig. 2 muestra el porcentaje de eclosión acumulada al término del bioensayo (96 hpf) para las muestras provenientes de los 6 sitios y las diferentes concentraciones de biomasa fitoplanctónica en los diez meses de muestreo.

Los resultados de la exposición a los extractos obtenidos en el sitio 1, en donde se ubica la cortina del embalse, indican que en abril, oc-

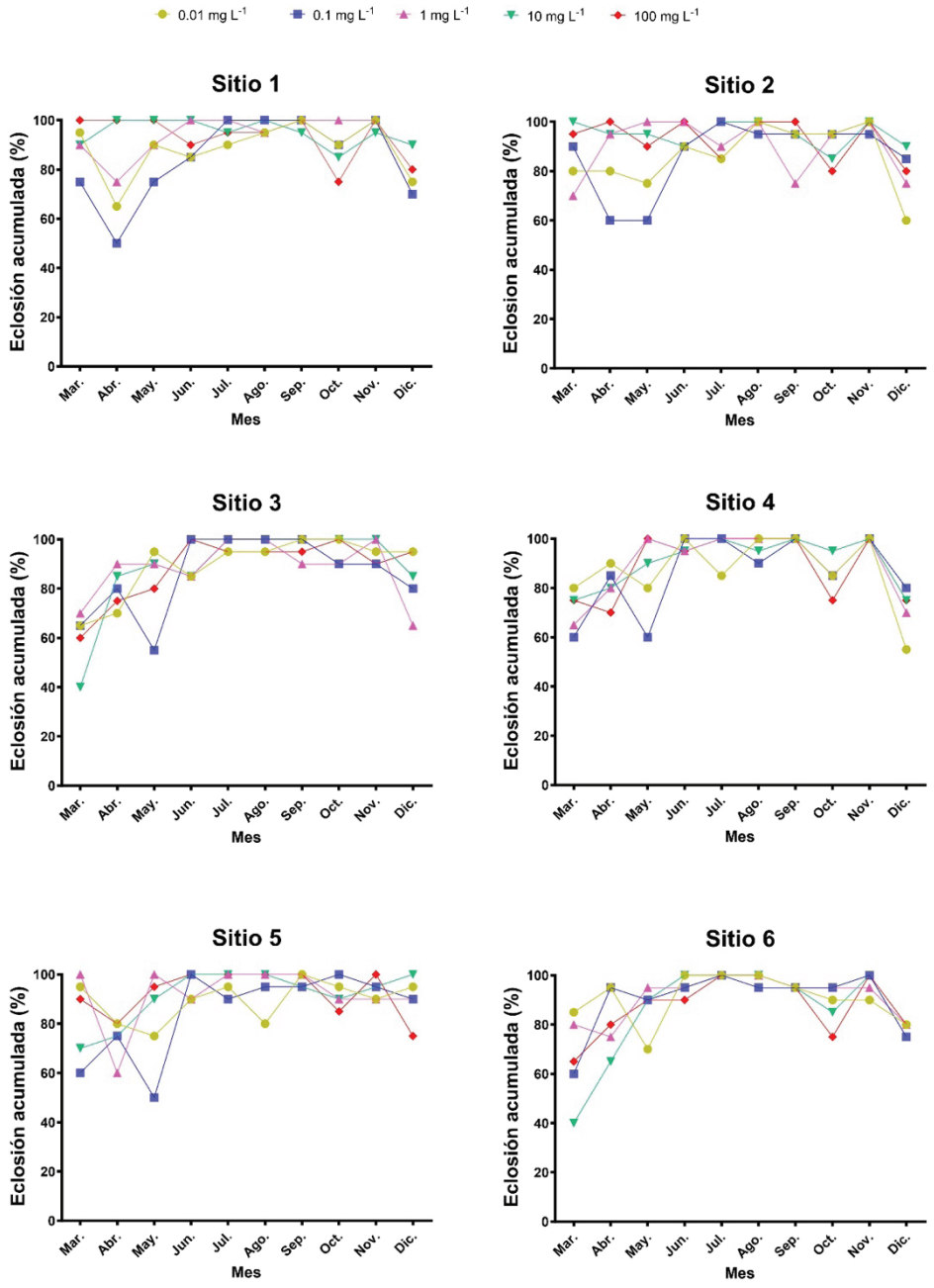

Figura 2. Eclosión acumulada (%) de larvas de *Danio rerio* a las 96 h de exposición a diferentes concentraciones de extractos crudos de biomasa fitoplanctónica (0.01, 0.1, 1, 10 y 100 mg L^{-1}) provenientes de 6 sitios de muestreo del embalse de Valle de Bravo a lo largo de diez meses. Valores promedio ± error estándar.

tubre y diciembre se registraron los menores porcentajes de eclosión (50, 75 y 70%, respectivamente) en la concentración de 0.1 y 100 mg L^{-1}, mientras que de mayo a agosto la eclosión fluctuó de 75 al 97%. En septiembre y noviembre se registró la mayor eclosión (95%). De acuerdo con la prueba de Friedman (P<0.005), los porcentajes de eclosión fueron significativamente diferentes entre cada mes (P=0.0379).

Respecto al sitio 2, en abril, mayo y diciembre se presentó la menor eclosión (60%), seguida del mes de marzo con 70% de eclosión. En el caso de octubre, septiembre, junio y julio, los porcentajes de eclosión fueron 80, 75 90 y 85%; mientras que los valores más altos (95%) se registraron en agosto y noviembre. La prueba de Friedman indicó diferencias significativas entre los porcentajes obtenidos cada mes (P=0.0197).

En el sitio 3 en marzo se registró 40% de eclosión acumulada en la concentración de 10 mg L^{-1} de biomasa fitoplanctónica, siendo el más bajo registrado durante todo el estudio. Los registros de manera creciente fueron para mayo (55%), diciembre (65%), abril (70%), junio (85%), septiembre, octubre y noviembre (90%), y finalmente en julio y agosto el porcentaje fue 95%. Nuevamente, se encontraron diferencias significativas entre los meses (P=0.0013).

Con respecto al sitio 4, en diciembre se registró el menor porcentaje de eclosión acumulada (55%), seguido de marzo y mayo (60%), abril (70%), octubre (75%), julio (85%), agosto (90%) y junio (95%). En septiembre y noviembre se registró el 100% de eclosión acumulada. La prueba de Friedman indicó diferencias significativas entre los porcentajes (P=0.001).

En el sitio 5, el menor porcentaje de eclosión acumulada correspondió al mes de mayo (50%), seguido de abril y marzo (60%), diciembre (75%), agosto (80%), octubre (85%) noviembre, junio y julio (90%) y septiembre (95%), siendo este último el más alto registrado para este sitio. De acuerdo con la prueba de Friedman, los resultados obtenidos entre los meses son significativamente diferentes (P=0.0545).

Finalmente, en el sitio 6, el menor porcentaje de eclosión se registró en marzo (40%), similar a lo registrado en el sitio 3. En los meses de abril, mayo, diciembre, octubre, junio, noviembre, septiembre y agosto los porcentajes de eclosión acumulada fueron 65, 70, 75, 75, 90, 90, 95 y 95 %, respectivamente, mientras que en julio hubo 100% de eclosión. La prueba de Friedman indicó que los resultados son significativamente diferentes entre todos los meses (P<0.001).

Los valores de porcentaje de eclosión obtenidos en los controles positivo y negativo cumplieron con los criterios de aceptación del bioensayo establecidos por el protocolo de la OECD (2013), por lo que los resultados obtenidos se consideran válidos.

Efectos letales, subletales y teratogénicos en embriones y larvas de *D. rerio.* La Fig. 3 muestra el total de efectos letales (huevos coagulados), subletales (presencia de edemas, modificación en el patrón de pigmentación y cola curveada) y teratogénicos expresados en porcentaje de embriones de *D. rerio* expuestos a las cinco concentraciones de extractos crudos acuosos de biomasa fitoplanctónica (0.01, 0.1, 1, 10 y 100 mg L^{-1}) de las seis estaciones de muestreo en el embalse de Valle de Bravo en los meses de marzo a diciembre.

El mes de abril presentó el mayor porcentaje de organismos coagulados a las 24 h en los seis sitios de muestreo del embalse. Los efectos teratogénicos que se registraron (región caudal no desarrollada o incompleta) se observaron principalmente en el mes de mayo (1.83%). Respecto a los efectos subletales, se observaron 1.83% de organismos con cola curveada en el mes de octubre; asimismo, se registró 1% de presencia de edemas en saco vitelino en el mes de marzo y mayor porcentaje de pigmentación reducida en el mes de mayo (5.83%).

Los resultados observados en la concentración de 0.1 mg L^{-1} fueron semejantes a los registrados a 0.01 mg L^{-1}. En abril se registró el mayor porcentaje de organismos coagulados (3.66%); la mayoría de los organismos con malformaciones (no desarrollaban la región caudal, impidiendo la ruptura del corion) se registró en mayo (1.33%). De efectos subletales, en el mes de octubre los individuos presentaron cola curveada en 1.33%, y la formación de edemas en 1%, mientras que en el mes de mayo la disminución en la pigmentación sólo se presentó en 3.16% de los organismos.

Tabla 2. Cianotoxinas intracelulares (MC: microcistinas y AP: anabaenopeptinas) registradas en los diferentes puntos de muestreo del embalse de Valle de Bravo durante el periodo de estudio. Se muestra también la suma de las diferentes microcistinas (MCs). Las concentraciones se expresan en µg L^{-1}.

Mes	Punto Muestreo	dmMC-LR	MC-HilR	MC- LA	MC- LF	MC- LR	MC- RR	MC-WR	MC- YR	MCs Totales	AP-A	AP-B
Mar.	1			0.003						0.003		
Abr.	1			0.108						0.108	0.214	0.172
May.	1			1.291		0.166			0.051	1.508	0.145	0.176
Jun.	1					0.009				0.009		0.022
Jul.	1		0.049			0.204			0.045	0.298	0.001	
Ago.	1	0.036	0.332	5.005		2.537	0.415	0.444	0.562	9.331	0.146	0.082
Sep.	1	0.096	1.145	45.527	0.049	7.208		1.610	1.527	57.161	0.330	0.254
Oct.	1			2.561		0.054			0.006	2.621	0.082	
Nov.	1											
Dic.	1			0.032						0.032		
Mar.	2			0.325						0.325	0.084	0.031
Abr.	2			0.133						0.133	0.082	0.102
May.	2			1.926		0.052	0.103			2.080	0.386	0.074
Jun.	2											
Jul.	2					0.011				0.011	0.001	0.026
Ago.	2					0.108			0.024	0.132	0.001	0.003
Sep.	2	0.102	1.198	49.101	0.032	7.667		1.159	1.411	60.669	0.227	0.194

Mes	Punto Muestreo	dmMC-LR	MC-HilR	MC- LA	MC- LF	MC- LR	MC- RR	MC-WR	MC- YR	MCs Totales	AP-A	AP-B
Oct.	2			0.834						0.834		
Nov.	2			0.219		0.065			0.021	0.305	0.001	0.008
Dic.	2											
Mar.	3										0.021	
Abr.	3										0.001	0.046
May.	3			0.255						0.255		0.038
Jun.	3											
Jul.	3			6.231		0.106				6.338		
Ago.	3			0.161		0.017		0.055	0.006	0.238	0.001	
Sep.	3			17.866		0.874			0.178	18.917		0.034
Oct.	3			0.473		0.020			0.009	0.501	0.070	0.003
Nov.	3			0.025						0.025	0.001	
Dic.	3											
Mar.	4			0.258						0.258	0.012	0.014
Abr.	4			0.079						0.079	0.001	0.050
May.	4			0.488						0.488		0.032
Jun.	4											
Jul.	4			7.978		0.090				8.068		0.022
Ago.	4			0.471		0.039			0.006	0.515	0.001	
Sep.	4		0.052	13.315		0.493			0.129	13.989		0.038
Oct.	4			2.770		0.003				2.772	0.035	
Nov.	4			0.215				0.007		0.222	0.002	
Dic.	4											
Mar.	5			0.261						0.261	0.064	0.044
Abr.	5			0.053						0.053		0.040
May.	5			1.630		0.092			0.044	1.767	0.001	0.129
Jun.	5											
Jul.	5			1.709		0.007				1.715		
Ago.	5			6.389		0.107				6.495		0.005
Sep.	5			28.002		1.135		0.286	0.287	29.709	0.107	0.056
Oct.	5			1.245					0.003	1.248	0.001	
Nov.	5			0.096		0.008				0.104	0.001	
Dic.	5			0.046						0.046	0.001	
Mar.	6			0.269						0.269		
Abr.	6										0.001	0.038
May.	6			0.039						0.039		0.052
Jun.	6			0.772						0.772		
Jul.	6			2.328		0.069				2.397		
Ago.	6			1.183		0.020			0.001	1.204		0.020
Sep.	6		0.062	24.693		0.814			0.201	25.770		0.037
Oct.	6											
Nov.	6			0.282		0.052				0.334	0.001	
Dic.	6			0.009						0.009		

La exposición de los embriones y larvas de *Danio rerio* a una concentración intermedia (1 mg L^{-1}) dio como resultado un 3.16% de organismos coagulados en el mes de abril. En los meses de julio y octubre los efectos teratogénicos consistieron principalmente en malformaciones en saco vitelino, región caudal y ojos en un porcentaje del 0.33%; los efectos subletales nuevamente se identificaron como curvatura en la cola en un 1.83% y edemas en un 2.16%, estos en el mes de octubre (Fig. 3).

En la concentración de 10 mg L^{-1} se observó que en el mes de abril el porcentaje de organismos coagulados a las 24 horas fue de 3.33%. Los efectos teratogénicos consistieron principalmente en anomalías en región caudal y zona pericárdica en un 0.5% en los meses de mayo y octubre. En octubre el porcentaje de organismos con cola curveada y edemas fue de 2.16 y 1.66% respectivamente, mientras que en agosto se observaron 2.16% de organismos con ausencia de pigmentación.

La exposición a la concentración más alta de extractos crudos de la biomasa fitoplanctónica produjo 2.83% de organismos coagulados a las 24 h. En el mes de junio se registró 0.5% de efectos teratogénicos (principalmente malformaciones en cola y saco vitelino). Durante el mes de mayo se registraron efectos subletales como cola curveada (1.66%) y edemas en el saco vitelino y región pericárdica (0.66%). El mayor porcentaje de ausencia de pigmentación en las larvas se presentó en agosto y noviembre.

Algunas imágenes de los efectos ocasionados por los extractos crudos a las 96 hpf de exposición en contraste con el control, se muestran en la Fig. 4.

Cianotoxinas en muestras de biomasa fitoplanctónica del embalse de Valle de Bravo. En la Tabla 2 se muestran los valores de las cianotoxinas intracelulares determinadas en la biomasa fitoplanctónica obtenida en los sitios de muestreo del embalse de Valle de Bravo. En el sitio 1 se aprecia que las cianotoxinas MC-LA, AP-A y AP-B se detectaron en la mayoría de los meses de marzo a diciembre. La microcistina LR (MC-LR) se registró de mayo a octubre. En septiembre la anabaenopeptina-a (AP-A) y anabaenopeptina-b (AP-B) tuvieron los valores más altos (0.330 y 0.254 µg L^{-1}). En abril la microcistina LA (MC-LA) tuvo un máximo de 0.108 µg L^{-1} y a partir de mayo los valores se incrementaron considerablemente mes con mes hasta alcanzar un valor máximo de 45.527 µg L^{-1} en el mes de septiembre; a partir de octubre la concentración de esta microcistina disminuye hasta llegar a valores de 0.032 µg L^{-1} en diciembre.

Las cianotoxinas MC-RR (0.415 µg L^{-1}), MC-LF (0.049 µg L^{-1}), MC-WR (0.444 y 1.610 µg L^{-1}) y dmMC-LR (0.036 y 0.096 µg L^{-1}) se detectaron solo en los meses de agosto y septiembre. En diciembre únicamente se registró la microcistina-LA.

En el sitio 2, se observa que las cianotoxinas dmMC-LR, MC-HilR, MC-LF, MC-RR y MC-YR solo se detectaron en un mes de muestreo con valores de 0.102, 1.198, 0.032, 0.103 y 1.159 µg L^{-1} respectivamente. En agosto las cianotoxinas con las concentraciones más altas fueron MC-LA, seguida de MC-LR, MC-WR, MC-YR y MC-HilR con valores respectivos de 45.527, 7.208, 1.610, 1.527 y 1.145 µg L^{-1}. Las anabaenopeptinas A y B (AP-A y AP-B) se cuantificaron en casi todos los meses, excepto en junio, octubre y diciembre. Durante el mes de diciembre no se detectó la presencia de cianotoxinas en la biomasa fitoplanctónica del embalse de Valle de Bravo.

En el sitio 3, se aprecia que las cianotoxinas dmMC-LR, MC-HilR, MC-LF y MC-RR no se detectaron en la biomasa fitoplanctónica, por el contrario las cianotoxinas MC-LA, MC-LR, AP-A, APB y MC-WR se detectaron en seis, cinco y cuatro y un mes de muestreo respectivamente; el valor más alto (17.86 µg L^{-1}) se cuantificó durante el mes de agosto en la microcistina (MC-LA). Para el mes de diciembre no se detectó la presencia de ninguna cianotoxina.

De manera general, en el sitio 4 (Tabla 2) durante el mes de septiembre se detectó la mayor cantidad y tipo de cianotoxinas, los valores fueron de 0.052, 13.315, 0.493, 0.129, 13.989 y 0.038 µg L^{-1} para MC-HilR, MC-LA, MC-LR, MC-YR y AP-B respectivamente. La cianotoxina que se detectó en la mayoría de los meses de muestreo fue MC-LA, con valores que oscilaron entre 0.079-13.315 µg L^{-1}, sin embargo, en la biomasa fitoplanctónica del embalse no fueron detectadas las cianotoxinas dmMC-LR, MC-LF y MC-RR; la anabaenopeptina A (AP-A) presentó los valores más bajos (0.001 µg L^{-1}) durante los meses muestreados.

En el sitio de muestreo 5 se aprecia que el valor más bajo (0.001 µg L^{-1}) de cianotoxinas se cuantificó en los meses de mayo, octubre, noviembre y diciembre para la anabaenopeptina (AP-A). Por el contrario, los valores más altos de cianotoxinas (28.002 y 6.389 µg L^{-1}) se detectaron en MC-LA durante los meses de agosto y septiembre respectivamente. La presencia de las cianotoxinas MC-WR, MC-YR, MC-LR y AP-B se detectó en uno, tres y seis meses de muestreo respectivamente.

La biomasa fitoplanctónica del embalse de VB en el sitio 6, indica la presencia de las cianotoxinas MC-HilR, MC-LA, MC-LR, MC-YR, AP-A y AP-B; los valores más altos se detectaron en la microcistina LA (24.693 y 2.328 µg L^{-1}) en los meses de septiembre y julio respectivamente. La menor cantidad de microcistinas totales se detectó en el mes de diciembre (0.009 µg L^{-1}) seguida del mes de mayo (0.030 µg L^{-1}). Las anabaenopeptinas A y B se cuantificaron en dos y cuatro meses de muestreo respectivamente. Al igual que en puntos de muestreo anteriores las cianotoxinas dmMC-LR, MC-LF, MC-RR y MC-WR no fueron detectadas en la biomasa fitoplanctónica del embalse.

Los valores de las cianotoxinas para septiembre fueron los más altos en todas las estaciones de muestreo del embalse de Valle de Bravo. Además, en este mes se presentó la mayor diversidad de cianotoxinas con las concentraciones mostradas en la Tabla 2. Los valores de microcistinas en algunos casos sobrepasan los límites establecidos por la OMS para agua potable (1 µg L^{-1}) e incluso para el agua usada con fines recreativos (24 µg L^{-1}).

DISCUSIÓN

La exposición de embriones de *D. rerio* a extractos crudos acuosos obtenidos a partir de biomasa fitoplanctónica de seis sitios del embalse de Valle de Bravo permitió evaluar los efectos producidos por el contenido celular masivo de todos los fitoplanctontes presentes. Esto es importante debido a que en ocasiones hay diferencia en la toxicidad que produce el extracto crudo de una cepa en específico, o de cianotoxinas purificadas o incluso también es diferente a la exposición directa de la biomasa fitoplanctónica, por lo que el realizar bioensayos con los extractos crudos acuosos de toda la biomasa permitió simular las condiciones naturales a las que podrían enfrentarse los organismos después de la degradación de un florecimiento algal o cianobacterial nocivo (López-Cortes *et al.,* 2015, Šulčius *et al.,* 2017). Los resultados

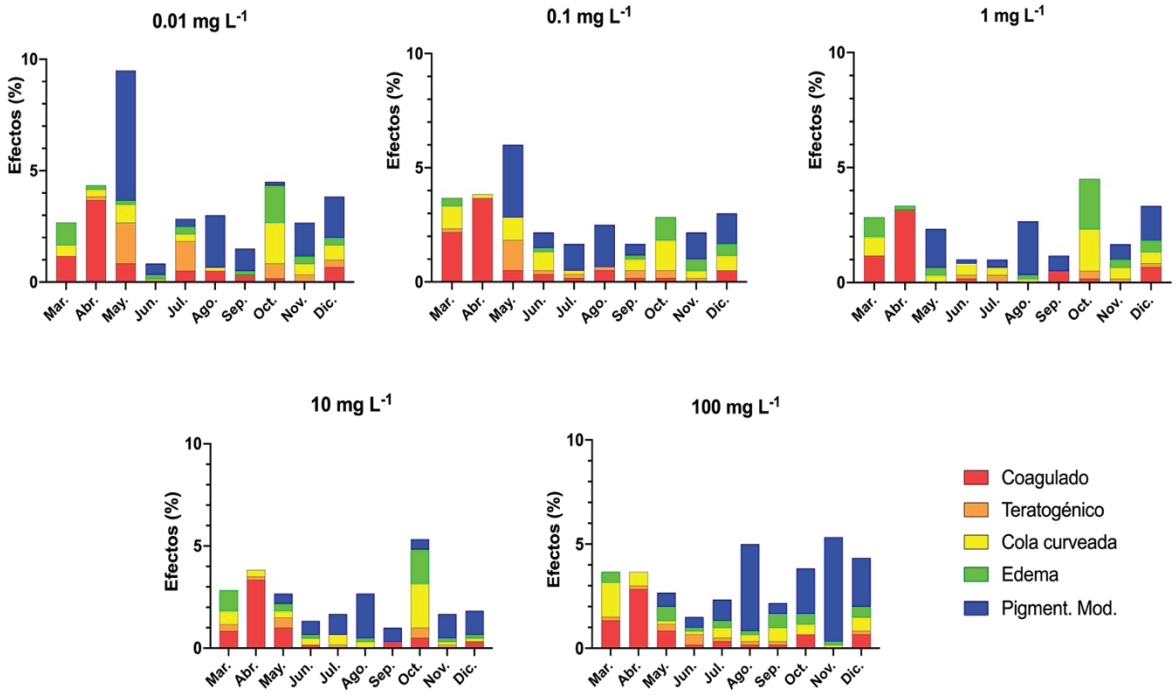

Figura 3. Porcentaje de efectos letales (embriones coagulados), subletales (cola curveada, edema y pigmentación modificada) y teratogénicos, registrados en embriones y larvas de *Danio rerio* expuestos a diferentes concentraciones de extractos crudos acuosos de biomasa fitoplanctónica colectada en seis estaciones de muestreo en el embalse de Valle de Bravo durante los meses de marzo a diciembre de 2019.

mostrados permitieron observar que estos extractos acuosos produjeron diferentes tipos de respuesta en *D. rerio*, incluyendo tanto efectos en la eclosión como daños en el desarrollo, que pudieron relacionarse con la presencia de cianotoxinas, cuya concentración varió a lo largo del periodo de observación y entre las estaciones de muestreo.

La tasa de eclosión de los huevos de *D. rerio* se inició a partir de las 72 horas. Se ha reportado que las larvas de *D. rerio* pueden eclosionar hasta los 5 días después de la fertilización, dependiendo de las condiciones a las que estén expuestos (OECD, 2013). Aun cuando Zhan *et al.* (2020), señalan que la exposición a la cianotoxina MC-LR puede acelerar la eclosión larvaria ya que promueve el desarrollo prematuro, en nuestro caso el inicio de la eclosión puede considerarse como normal.

Oberemm *et al*. (1997) expusieron embriones de pez cebra a la microscistina MC-LR (0.5, 5 y 50 µg L^{-1}) y a extractos crudos de biomasa provenientes de los lagos Müggelsee y Wannsee en Alemania, en los cuales se reportó la presencia de *Microcystis aeruginosa* y *Aphanizomenon flos-aquae*; ellos encontraron que la exposición a los extractos crudos ocasionó efectos negativos en los embriones, como desarrollo tardío, malformaciones, hemorragias en zona pericárdica, disminución en la circulación, edemas y cola curveada, por lo que los autores asocian los efectos negativos a las cianotoxinas y al incremento de las acciones sinérgicas entre las toxinas y otros metabolitos secundarios intracelulares. Estos efectos fueron similares a los observados en nuestro estudio.

Posteriormente Oberemm *et al.* (1999) evaluaron los efectos de las microcistinas -LR, -RR, -YR y saxitoxina (SXT) en concentraciones de 0.5, 5 y 50 µg L^{-1} en embriones de *D. rerio* y del anfibio *Ambystoma mexicanum* demostrando que la exposición a microcistinas no tuvo efectos sobre los organismos. Sin embargo, la MC-LR disminuyó la tasa de sobrevivencia, el desarrollo embrionario y el crecimiento de las larvas en concentraciones bajas (0.5 µg L^{-1}), resultado que es similar a lo encontrado en esta investigación. Aquí se detectó la presencia de las microcistinas MC-LR, MC-YR y MC-LA en los meses de marzo a mayo y en diciembre, en los cuales la tasa de eclosión estuvo más afectada, específicamente en las concentraciones más bajas aquí ensayadas (0.01 y 0.1 mg L^{-1}). De acuerdo con Li *et al.* (2011), la exposición a MC-LR purificada disminuyó la tasa de eclosión en *D. rerio,* lo cual coincide con lo reportado en esta investigación debido a que en los meses de junio a agosto se registró la presencia de MC-LR, que está asociada con la disminución en el porcentaje de eclosión acumulado.

La falta de relación de varios de los efectos aquí registrados con la concentración de biomasa fitoplanctónica ensayada, en la que se tenía predominio de cianobacterias (Martínez-Jerónimo, *et al.*, 2022), puede explicarse como la posible interacción de las cianotoxinas y otros metabolitos secundarios producidos tanto por las cianobacterias (Beversdorf *et al.*, 2018; Roegner *et al.*, 2019) como por las microalgas presentes. Esto pudo dar lugar a fenómenos de antagonismo entre diferentes moléculas con actividad biológica, produciendo resultados como los observados, debido a que en varios casos los mayores efectos se registraron en las menores concentraciones de biomasa fitoplanctónica del embalse VB.

Palíková *et al.* (2003, 2007) expusieron huevos de carpa común (*Cyprinus carpio*) a diferentes concentraciones de biomasa cianobacterial provenientes de lagos de República Checa, en los que se iden-

tificó a las cianobacterias *Aphanizomenon, Planktothrix, Microcystis y Anabaena flos-aquae*, como especies productoras de microcistinas, cilindrospermopsina, anatoxina y saxitoxina. Estos autores reportan disminución en el oxígeno disuelto en el medio, retraso en la tasa de eclosión, mortalidad y efectos subletales en los organismos expuestos a la concentración de 250 µg L^{-1}. Comparando con lo obtenido en nuestra investigación, la concentración utilizada por estos autores es igual a la aquí usada, y aquí documentamos diversos efectos subletales y teratogénicos, además de disminución en la pigmentación corporal y ocular.

En el embalse de Valle de Bravo se han registrado cantidades significativas de sólidos disueltos totales, incluyendo iones metálicos (Arias-Rodríguez *et al.,* 2020), los cuales en presencia del contenido celular liberado por la degradación bacteriana pueden incrementar los efectos negativos en los organismos expuestos. Wei *et al.* (2020) reportan el efecto conjunto de MC-LR y cobre en embriones de pez cebra, indicando que la exposición a ambos no afectó la eclosión, pero que el resultado se debió a un efecto de hormesis, es decir que las concentraciones bajas estimularon la eclosión de las larvas; esto favoreció la proliferación celular en concentraciones bajas, mientras que en concentraciones altas se observó una inhibición. En nuestra investigación se obtuvieron resultados contrarios a los mencionados, ya que a menores concentraciones de biomasa fitoplanctónica (0.01, 0.1 y 1 mg L^{-1}) se registraron porcentajes de eclosión bajos o nulos a las 72 horas principalmente en los sitios 1, 2 y 3, lo cual no sólo está relacionado con la presencia de florecimiento cianobacterial, sino que pudiera incluir además otros estresores químicos provenientes de los ríos tributarios al embalse de Valle de Bravo.

Los efectos subletales en *D. rerio* se presentaron principalmente en marzo, mayo, julio, agosto y octubre siendo los más representativos los edemas pericárdicos y cola curveada. Esto podría ser similar a lo reportado por Jonas *et al.* (2015), quienes evaluaron los efectos por exposición a biomasa fitoplanctónica y reportaron que estos efectos se asociaron principalmente a la presencia de cianotoxinas en los extractos crudos y su interacción con receptores neuronales o canales iónicos. Uno de los efectos más frecuentes a partir de mayo y que alcanzó un máximo en agosto, fue la disminución en los patrones normales de pigmentación observados a partir de las 48 y hasta las 96 h de incubación. Si bien los embriones de *D. rerio* despliegan estos patrones entre las 30 y 72 hpf (Raible *et al.,* 1992**)**, el desarrollo de los cromatóforos depende de células primordio de las células pigmentarias derivadas de la cresta neural, las cuales se desarrollan en el sistema nervioso periférico durante la embriogénesis. Las células pigmentarias tienen la capacidad de responder a las alteraciones ambientales, así como a los cambios fisiológicos y a diferentes patologías (Fujii, 1993; Parichy & Spiewak, 2015), por lo que se puede asumir que las alteraciones en pigmentación son consecuencia de la exposición a sustancias causantes de estrés químico en los extractos crudos evaluados, que muy probablemente sean las cianotoxinas identificadas.

Ghazali *et al.* (2009), Dao *et al.* (2013) y Jia *et al.* (2019) expusieron embriones de *D. rerio* a extractos crudos de biomasa fitoplanctónica de sitios de importancia económica, turística y para el abastecimiento del recurso hídrico, como el embalse Lalla Takerkoust en Marruecos, lago Dau-Tieng en Vietnam y el lago Taihu en China, respectivamente. Ellos encontraron alteraciones en la tasa de eclosión de los organismos, efectos subletales como edemas en zona pericárdica y en el saco vitelino, curvatura del eje espinal, disminución o ausencia de la pigmentación y malformaciones teratogénicas. Algunas cianotoxinas, como metabolitos secundarios contenidos en los extractos crudos, generan neurotoxicidad, afectando principalmente la actividad de la acetilcolinesterasa, la cual impacta de manera negativa en el desarrollo, fisiología y comportamiento de los peces. Una de estas toxinas presente en los extractos crudos aquí ensayados es la anabaenopeptina, que actúa como estresor químico del sistema nervioso. No obstante, Falfushynska *et al.* (2021) mencionan que este metabolito secundario no ocasiona efectos en *D. rerio*, ya que, al no ser dañina en concentraciones ambientalmente relevantes, su toxicidad puede ser potenciada por la presencia de otras cianotoxinas, como microcistinas o cilindrospermopsinas. En el caso de extractos acuosos de cepas toxigénicas de *Microcystis aeruginosa* se observó que otros metabolitos secundarios diferentes a las toxinas producen teratogénesis y daños morfológicos en *D. rerio* (López-Vargas *et al*., 2018).

Las cianotoxinas producen estrés oxidativo, apoptosis celular, daño en DNA (Žegura *et al.,* 2011, Nováková *et al.,* 2012), braquicardia y formación de edemas y hemorragias en región pericárdica (Wang *et al.,* 2020), inhiben los procesos de desintoxicación de xenobióticos, ocasionan degradación del citoesqueleto y generan neurotoxicidad y hepatotoxicidad (Fawell *et al*., 1993; Gehringer, 2004; Cao *et al*., 2019; Falfushynska *et al*., 2021). Todos estos son efectos que varían dependiendo de la concentración a la que se expongan los organismos. En nuestro caso se pudo documentar una gama amplia de respuestas, incluyendo algunas extremas como las mostradas en la Fig. 4, pese a que las cantidades de cianotoxinas en la mayoría de los casos tuvieron registros relativamente bajos (mg L^{-1}). Algunas de las toxinas reportadas son consideradas como muy tóxicas, y pueden producir efectos aún en relativa corta exposición, por lo que los resultados aquí mostrados reflejan plenamente las consecuencias potencialmente negativas para la biota acuática.

En el embalse de Valle de Bravo se registró la presencia de anabaenopeptinas A y B durante los meses de marzo a noviembre. Lenz *et al.* (2019) hacen mención que estas cianotoxinas son inhibidores de serina-proteasas encargadas de la regulación de factores de crecimiento y que se encuentran involucradas en procesos fisiológicos, así como de proteínas fosfatasas relacionadas con el desarrollo embrionario de los organismos, por lo que es posible que algunos de los efectos observados hayan sido consecuencia de la exposición a estas toxinas.

Uno de los efectos letales documentados en esta investigación fue la coagulación de los huevos a las 24 horas, así como el desarrollo tardío que condujo a la muerte de los embriones. Esto se observó en mayor proporción en las concentraciones de 0.01, 0.1 y 1 mg L^{-1} principalmente en abril y en particular en las estaciones 1 y 6. Honkanen *et al.* (1990), así como Dittmann *et al.* (2012) mencionan que la disminución en la tasa de eclosión y desarrollo de los organismos está relacionada con el efecto de la microcistina-LR y la nodularina, que inhiben la actividad de las fosfatasas 1 y 2A, implicadas en el desarrollo embrionario. Así mismo, Roegner *et al.* (2019) mencionan que la mortalidad a las 24 hpf está relacionada con la exposición a anatoxinas y otros metabolitos secundarios que afectan el desarrollo embrionario (Todd and Van Leeuween, 2002; Sisman *et al*., 2008).

De mayo a septiembre se incrementó el desarrollo de floraciones cianobacteriales nocivas relacionadas con un gran biovolumen cianobacteriano (Martínez-Jerónimo *et al*., 2022), lo cual coincide con las concentraciones de cianotoxinas registradas, que fueron significativa-

mente más altas que en los otros meses. Esta observación coincide con lo reportado por Martínez-Romero *et al.* (2002) y Alillo-Sánchez *et al.* (2014) quienes mencionan que la concentración de cianotoxinas dentro del embalse de Valle de Bravo se incrementó en junio. Cuando la profundidad del embalse disminuye en mayo y junio, podría favorecer el desarrollo de FCNs (Merino *et al.*, 2003). En contraste, en noviembre y diciembre los florecimientos fueron menores y también se redujo la concentración de cianotoxinas. Esto coincide con lo reportado por Figueroa-Sánchez *et al.* (2014), quienes registraron disminución en la cantidad de microcistinas de octubre a diciembre, mientras que Arias-Rodríguez *et al.* (2020) mencionan que en noviembre y diciembre observaron una mayor transparencia en el agua, comparado con los otros meses del año. Este fenómeno también está relacionado con el periodo de mezcla en el embalse, lo que pudo incrementar la calidad del agua. De acuerdo con la USEPA (2014) existe una serie de factores ambientales y de la calidad del agua que favorecen el desarrollo y la frecuencia de los FCNs y por tanto la diversidad y concentración de las diferentes cianotoxinas que pueden estar presentes en la columna de agua. Dentro de los parámetros, se considera la temperatura del agua, profundidad del cuerpo de agua, precipitación anual y época del año, siendo verano cuando se reporta una mayor abundancia de FCNs. También influyen, el pH, flujo de agua (es decir si se trata de un cuerpo lentico o lotico) y la disponibilidad de macronutrientes, como nitrógeno y fósforo.

En el año 2012, CONAGUA reportó la presencia de *Microcystis, Anabaena* y *Lyngbya* en el embalse de Valle de Bravo, que son algunas de las principales productoras de hepatotoxinas, neurotoxinas y dermatoxinas. Posteriormente Ramírez-García y Chicalote-Castillo (2021) implementaron en la cortina del embalse de Valle de Bravo (sitio 1) un sistema de humedales artificiales usando las macrófitas *Phragmites australis* y *Schoenoplectus* sp. con el propósito de monitorear la presencia y distribución de cianobacterias con potencial toxigénico y su relación con factores fisicoquímicos. Como resultado reportaron 9 especies de cianobacterias potencialmente tóxigénicas, entre las que destaca *Microcystis aeruginosa, Aphanizomenon yezoense, Pseudanabaena mucicola, Anabaena planctonica* y *Planktothrix agardhii*. En nuestro periodo de estudio se reportaron estas y otras especies toxigénicas con valores de biovolumen muy elevado (Martínez-Jerónimo *et al.*, 2022), lo que destaca su potencial toxigénico.

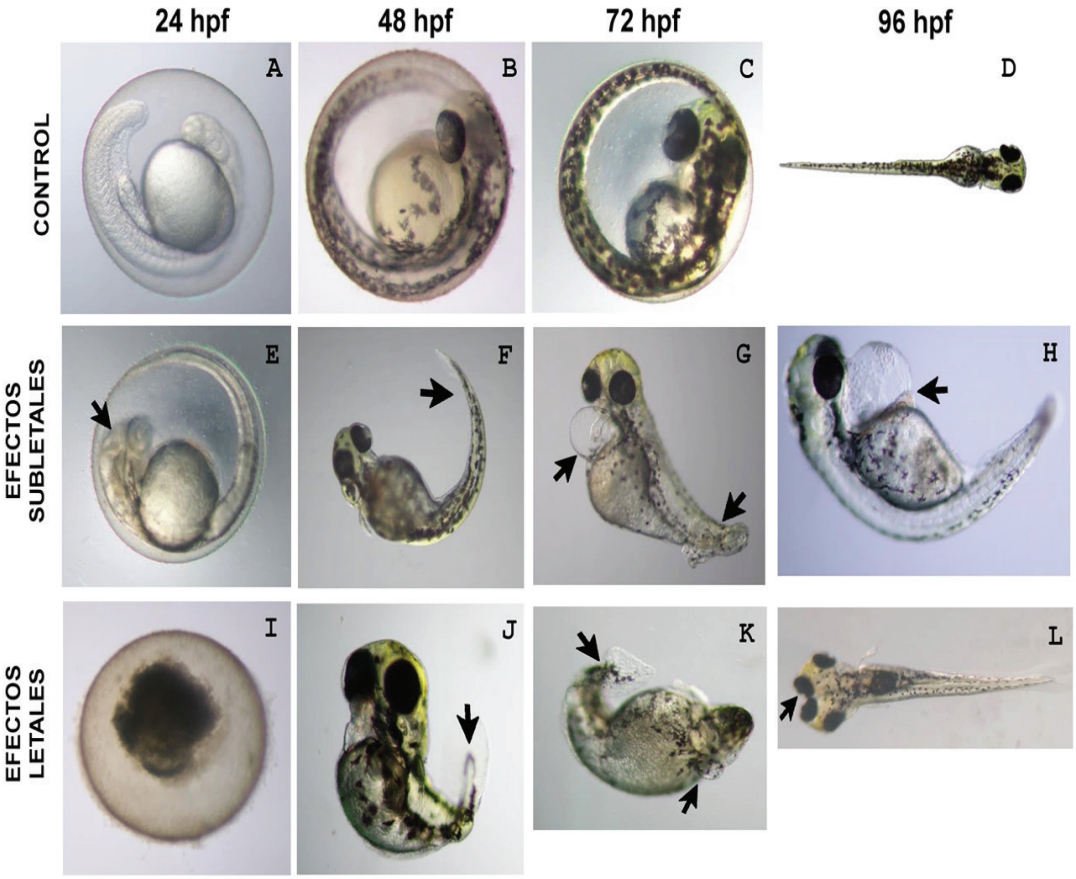

Figura 4. Embriones y larvas de *Danio rerio* después de ser expuestos a extractos crudos acuosos de biomasa fitoplanctónica del embalse de Valle de Bravo. (A) Embrión-24 hpf, (B) Embrión-48 hpf. (C) Larva-72 hpf. (D) Larva eclosionada-96 hpf. (E) Embrión con disminución en la pigmentación-48 hpf expuesto a 100 mg L^{-1} (F) Larva con cola curveada-72 hpf en 0.1 mg L^{-1} (G y H) Larvas con edema pericárdico y en saco vitelino-72 hpf en concentraciones 1 y 100 mg L^{-1} (I) Embrión coagulado-24 hpf expuesto a 100 mg L^{-1} (J) Larva con malformaciones en región caudal-72 hpf expuesta a 1 mg L^{-1} (K) Larva con malformación en región cefálica y caudal-96 hpf. (L) Larva con malformación en región cefálica-96 hpf, ambas observadas en la concentración 100 mg L^{-1}.

En el periodo de este estudio, Martínez-Jerónimo *et al*. (2022) registraron florecimientos a lo largo del año, identificando 75 especies fitoplanctónicas, pero con presencia principal de cianobacterias, clorofíceas y diatomeas, siendo siempre las cianobacterias el grupo dominante en términos de biomasa. Estos autores también determinaron que la máxima concentración total de microcistinas se registró de julio a septiembre, con un valor máximo de 71 µg L^{-1} que estuvo relacionada con un mayor biovolumen de las cianobacterias *M. smithii*, *M. aeruginosa*, *M. viridis*, *M. flos-aquae*, *Aphanocapsa planctonica*, y *Dolichospermum crassum*.

Un factor determinante en la presencia o ausencia de cianobacterias como grupo dominante en el fitoplancton en la columna de agua es la intensidad de la luz solar y las horas de iluminación. Estudios como los de Song *et al*. (2007), Everson *et al*. (2009), Kurtz *et al*. (2021) y Ren *et al*. (2021) demostraron que, en la zona superficial se encontró una menor concentración de cianotoxinas, a diferencia de la zona del hipolimnion en donde la concentración fue mayor. Si bien las cianotoxinas se encuentran distribuidas en toda la columna de agua, la concentración de las mismas estará relacionada con la temperatura del agua y la incidencia de luz. Asimismo, el incremento en la conductividad y turbidez asociada a la presencia de sólidos disueltos totales, así como la disminución de oxígeno disuelto, favorecen la presencia de las cianobacterias y sus correspondientes metabolitos. De acuerdo con los resultados obtenidos por Martínez-Jerónimo et al. (2022), en los meses de mayo a octubre se observó un incremento en estos parámetros, coincidiendo con que fueron los meses en que se reportó una mayor cantidad de efectos subletales en embriones y larvas de *D. rerio* en el presente estudio.

Los efectos letales y subletales aquí registrados ocurrieron en la mayoría de los casos en porcentajes relativamente bajos y sin aparente relación proporcional con las concentraciones de biomasa evaluados ni con los niveles de cianotoxinas detectados, aunque no se puede descartar el efecto de otros metabolitos con actividad biológica contenidos en el extracto crudo de la biomasa. La condición de eutrofización del embalse, con florecimientos permanentes dominados por cianobacterias, propiciaron que, en general, la calidad del agua durante casi todo el año fluctuó de mala a muy mala, excepto por abril (que fue regular) y sólo en diciembre fue buena (Martínez-Jerónimo *et al*., 2022). Sumando todos los factores anteriores, no se pueden descartar consecuencias negativas para la salud humana, pues este embalse suministra agua potable a través del Sistema Cutzamala a una parte del área metropolitana de la Ciudad de México, y está documentado que en los procesos convencionales de potabilización del agua las cianotoxinas no se eliminan (Smith *et al*., 2015), por lo que la presencia de estos metabolitos secundarios requiere la implementación de procesos avanzados tratamiento del agua para lograr su eliminación (Kulabhusan *et al*., 2024).

Las descargas de los ríos tributarios, que contienen agroquímicos y fertilizantes, se suman a los efluentes de la población y a las descargas de la actividad turística, en su conjunto aportan al embalse nutrientes minerales, agroquímicos y otros estresores químicos, como detergentes. En particular los aportes de fósforo promueven la condición eutrófica y el desarrollo permanente de FCNs. El monitoreo ambiental, y sobre todo la determinación de la riqueza específica en el fitoplancton permitiría identificar la presencia y frecuencia de ocurrencia de especies potencialmente tóxicas en este cuerpo de agua eutrofizado, y estimar la duración de los FCNs a fin de prevenir de riesgos potenciales a la población humana (Sha *et al.,* 2021).

En este estudio la presencia de cianobacterias toxigénicas, así como la síntesis y potencial liberación de cianotoxinas al medio, (forzada a partir del rompimiento de la biomasa), se relacionó con los resultados de la determinación y cuantificación de cianotoxinas, y fue la principal causa de los efectos tóxicos en los embriones de *D. rerio* aquí documentados. Estos datos permiten alertar sobre efectos potencialmente dañinos sobre la biota acuática local y desde luego también sobre el uso del recurso hídrico para el abastecimiento de agua potable para consumo humano, no sólo por la presencia confirmada de cianotoxinas sino también por los efectos tóxicos determinados en los estadios tempranos del desarrollo de *D. rerio*. Cabe mencionar que *Danio rerio* es un organismo utilizado en bioensayos toxicológicos no solo por su fácil reproducción y manejo, sino también por la similitud de su genoma con el genoma humano (de Souza Anselmo *et al*., 2018); sin embargo, la respuesta tóxica que se registró en los peces ante la exposición a los extractos crudos fitoplanctónicos no sería la misma que en los humanos. No obstante, nuestros hallazgos permiten demostrar que existe una respuesta biológica negativa producida por la presencia de toxinas en los FCNs en el embalse de Valle de Bravo.

La evaluación tóxica de los extractos crudos acuosos obtenidos de la biomasa fitoplanctónica colectada de marzo a diciembre de 2019, permitió comprobar daños en estadios tempranos del desarrollo de *D. rerio* que se relacionaron con la presencia de toxinas y otros metabolitos contenidos intracelularmente en los fitoplanctontes. A lo largo del periodo de estudio, el fitoplancton estuvo dominando por cianobacterias, varias de ellas identificadas por su potencial toxigénico. La identificación y cuantificación de cianotoxinas en muestras de agua del embalse confirmó el potencial toxigénico de las cianobacterias y se relacionó con las afectaciones observadas en la eclosión, así como efectos subletales, letales y teratogénicos en *D. rerio*.

Dada la importancia del embalse de Valle de Bravo para el suministro de agua potable para parte de la población del Área Metropolitana del Valle de México, se deben adoptar medidas que coadyuven a revertir el estado eutrófico del embalse, para evitar la proliferación de cianobacterias toxigénicas y la síntesis y liberación de cianotoxinas y otros metabolitos secundarios con actividad biológica.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Secretaría de Marina por su apoyo durante todo el periodo de muestreo dentro del embalse de Valle de Bravo. A la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) por la información de monitoreo ambiental proporcionada. Al anterior Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado a través del financiamiento del proyecto. A la Universidad de Montreal por el apoyo analítico a través del proyecto ATRAPP. Gracias al Instituto Politécnico Nacional por las becas escolares proporcionadas (BEIFI-IPN) y al Sistema de Estímulos al Desempeño de los investigadores (EDI). También al personal del Laboratorio de Hidrobiología Experimental de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional por su contribución en la realización de este proyecto.

REFERENCIAS

Alillo-Sánchez, J. L., M. L. Gaytán-Herrera, V. M. Martínez-Almeida & P. Ramírez-García. 2014. Microcystin-LR equivalents and their correlation with *Anabaena* Spp. in the main reservoir of a hydraulic system of Central Mexico. *Inland Waters* 4 (3): 327-336. DOI:10.5268/iw-4.3.573

Arias-Rodríguez, L. E., D. Zheng, R. Sepúlveda R, S.I. Martínez-Martínez & M. Disse M. 2020. Monitoring Water Quality of Valle de Bravo Reservoir, Mexico, Using Entire Lifespan of MERIS Data and Machine Learning Approaches. *Remote Sensing* 12: 1586. DOI:10.3390/rs12101586

Beversdorf, L.J., K. Rude, C.A. Weirich, S.L. Bartlett, M. Seaman, C. Kozik, P. Biese, T. Gosz, M.Suha, C. Stempa, C. Shaw, C. Hedman, J.J Piatt & T.R. Miller. 2018. Analysis of cyanobacterial metabolites in surface and raw drinking waters reveals more than microcystin. *Water Research* 140: 280-290. DOI:10.1016/j.watres.2018.04.032

Cao, Q., X. Wan, X. Shu & L. Xie. 2019. Bioaccumulation and detoxication of microcystin-LR in three submerge macrophytes: the important role of glutathione biosynthesis. *Chemosphere* 225: 935-942. DOI:10.1016/j.chemosphere.2019.03.055

Codd, G., J. Meriluoto & L. Spoof. 2017. Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis. 548 p. DOI:10.1002/978111906876

CONAGUA. (2012). Libro blanco CONAGUA-04: sustentabilidad del Sistema Cutzamala. México: Comisión Nacional del Agua. 160 p.

Dao, T., T. Tran, T. Pham, L. Do-Hong & P. Nguyen. 2013. Impacts of cyanobacterial toxins from Dau Tieng Reservoir, Vietnam, on the Early Life Stage of Zebrafish. *4th International Conference on Biology, Environment and Chemistry* 58(9): 41-46. DOI:10.7763/IPCBEE

de Souza Anselmo, C., V. Figueiredo Sardela, V. Pereira de Sousa & H. M. Gualberto Pereira. 2018. Zebrafish (*Danio rerio*): A valuable tool for predicting the metabolism of xenobiotics in humans?. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 212: 34-46. DOI: 10.1016/j.cbpc.2018.06.005

Dittmann, E., D.P. Fewer & B.A. Neilan, B. A. 2012. Cyanobacterial toxins: biosynthetic routes and evolutionary roots. *FEMS Microbiology Reviews* 37: 23-43 DOI: 10.1111/j.1574-6976.2012.12000.x

Dokulil, M. T. & K. Teubner. 2011. Eutrophication and Climate Change: Present Situation and Future Scenarios. *In*: Ansari A.A., S.S. Gill, G.R. Lanza & W. Rast (eds.). *Eutrophication: causes, consequences and control*. Publisher Springer Netherlands, pp 1-16.

Drobac, D., N. Tokodi, J. Simeunović, V. Baltić, D. Stanić & Z. Svirčev. 2013. Human Exposure to Cyanotoxins and their Effects on Health. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 64(2): 305–316. DOI:10.2478/10004-1254-64-2013-2320

Falconer, I. R. & A.R. Humpage. 2006. Cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water supplies: Cylindrospermopsins. *Environmental Toxicology* 21 (4): 299-304. DOI:10.1002/tox.20194

Everson, S., L. Fabbro, S. Kinnear, G. Eaglesham & P. Wright. 2009. Distribution of the cyanobacterial toxins cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin in a stratified lake in north-eastern New South Wales, Australia. *Marine and Freshwater Research* 60(1): 25-33. DOI: 10.1071/mf08115

Falfushynska, H., O. Horyn, I. Osypenko, P. Rzymski, L. Wejnerowski, M. K. Dziuba & I.M. Sokolova. 2021. Multibiomarker-based assessment of toxicity of central European strains of filamentous cyanobacteria *Aphanizomenon gracile* and *Raphidiopsis raciborskii* to zebrafish *Danio rerio. Water Research* 194: 116923. DOI:10.1016/j.watres.2021.116923

Fawell, J.K., J. Hart, H.A. James & W. Parr. 1993. Blue-green algae and their toxins-analysis, toxicity, treatment, and environmental control. *Water Supply* 11(3/4): 109-121.

Figueroa-Sánchez M. A., S. Nandini & S.S.S. Sarma. 2014. Zooplankton community structure in the presence of low levels of cyanotoxins: a case study in a high altitude tropical reservoir (Valle de Bravo, Mexico). *Journal of Limnology* 73(1): 157-166. DOI:10.4081/jlimnol.2014.784

Fujii, R. 1993. Cytophysiology of fish chromatophores. *International Review of Cytology* 143: 191-255.

Gehringer, M.M. 2004. Microcystin-LR and okadaic acid-induced cellular effects: a dualistc response. FEBS Letters 57 (1-3): 1-8. DOI:10.1016/s0014-5793(03)01447-9

Garita-Alvarado C.A., M.G Bojorge-García & E.A. Cantoral Uriza. 2023. Cyanotoxins bioaccumulation in freshwater ecosystems in Latin America: a review. *Hidrobiológica* 33 (3): 353-365. DOI:10.24275/CSUP3520

Ghazali, I. E., S. Saqrane, A.P. Carvalho, Y. Ouahid, B. Oudra, F. Fernandez Del Campo & V. Vasconcelos. 2009. Compensatory Growth Induced in Zebrafish Larvae after Pre-Exposure to a *Microcystis aeruginosa* Natural Bloom Extract Containing Microcystins. *International Journal of Molecular Sciences* 10: 133-146. DOI:10.3390/ijms10010133

Honkanen, R. E., J. Zwiller, R. E. Moore, S.L. Daily, B. S. Khatra, M. Dukelow & A. L. Boynton. 1990. Characterization of Microcystin-LR a Potent Inhibitor of Type 1 and Type 2A Protein Phosphatases. *The Journal of Biological Chemistry* 265(32). DOI:10.1016/S0021-9258(17)45384-1

Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA). 2012. Plan estratégico para la recuperación ambiental de la Cuenca Amanalco-Valle de Bravo: Actualización, pp. 210.

ISO. 2007. Water quality—determination of the acute toxicity of wastewater to zebrafish eggs (*Danio rerio*). International Standardization Organization, Geneva, pp 12.

Jia, Y., C. Schmid, A. Shuliakevich, M. Hammers-Wirtz, A. Gottschlich, T. aus der Beek, D. Yin, B. Qin, H. Zou, E. Dopp & H. Hollert. 2019. Toxicological and ecotoxicological evaluation of the water quality in a large and eutrophic freshwater lake of China. *Science of The Total Environment* 667: 809-820. DOI:10.1016/j.scitotenv.2019.02.435

Jonas, A., S. Scholz, E. Fetter, E. Sychrova, K. Novakova, J. Ortmann, M. Benisek, O. Adamovsky, J.P. Giesy & K. Hilscherova. 2015. Endocrine, teratogenic and neurotoxic effects of cyanobacteria detected by cellular *in vitro* and zebrafish embryos assays. *Chemosphere* 120: 321-327. DOI:10.1016/j.chemosphere.2014.07.074

Kulabhusan, P. K. & K. Campell. 2024. Physico-chemical treatments for the removal of cyanotoxins from drinking water: Current challenges and future trends. *Science of the Total Environment* 917: 170078. DOI:10.1016/j.scitotenv.2024.170078

Kurtz, T., T. Zeng & F. L. Rosario-Ortiz. 2021. Photodegradation of cyanotoxins in surface waters. *Water Research* 192: 116804. DOI:10.1016/j.watres.2021.116804

Ledesma, C., M. Bonansea, C. Rodríguez & A. Sánchez. 2013. Determinación de indicadores de eutrofización en el embalse Río Tercero, Córdoba (Argentina). *Revista Ciencia Agronómica* 44(3): 419-425.

Lenz, K. A., T.R. Miller & H. Ma. 2019. Anabaenopeptins and cyanopeptolins induce systemic toxicity effects in a model organism the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere* (214): 60-69. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.09.076

Li, G., J. Chen, P. Xie, Y. Jiang, L. Wu & X. Zhang. 2011. Protein expression profiling in the zebrafish (*Danio rerio*) embryos exposed to the microcystin-LR *Proteomics* 11(10): 2003-2018. DOI: 10.1002/pmic.201000442

López Cortés, D. J., J.J. Bustillos Guzmán, F. E. Hernández Sandoval, S. Chávez López, C.J. Band Schmidt & Núñez Vázquez E.J. 2015. Florecimientos algales nocivos: prevención, control y mitigación. *Recursos Naturales y Sociedad: Revista digital de divulgación científica* 1(4):35-49. DOI:10.18846/RENAYSOC.2015.01.01.01.0004

López-Vargas R., F. Martínez-Jerónimo, R. López-Santiago, R. Pineda-Mendoza & E. Ríos-Leal. 2018. La exposición a extractos crudos de cepas toxigénicas de *Microcystis aeruginosa* produce teratogénesis y efectos letales en embriones de *Danio rerio*. *In*: Galar Martínez, M., P. Ramírez Romero, E. Gasca Pérez, L. M. Gómez Oliván, J. L. Zavala Aguirre, M. A. Arzate Cárdenas & R. Rico Martínez (Eds.) Contribución al conocimiento de la ecotoxicología y química ambiental en México. Vol. 2. Instituto Politécnico Nacional (IPN), México. pp. 381-401.

Lucena, E. 2008. Aspectos sanitarios de las cianotoxinas. *Higiene y Sanidad Ambiental* 8: 291-302.

Martínez-Jerónimo, F., P. C. Antuna-González, M. Hernández-Zamora, L. Martínez-Jerónimo, G. Munoz, D.F. Simon & S. Sauvé. 2022. Year-long monitoring of phytoplankton community, toxigenic cyanobacteria, and total microcystins in a eutrophic tropical dam supplying the Mexico megacity. *Frontiers Environmental Science* 10: 984365. DOI:10.3389/fenvs.2022.984365

Martínez Romero, E., M.D. Martínez Salgado, M. Millán Cabrera & P. Ramírez García. 2002. Determinación de toxinas biológicas en una fuente de abastecimiento de agua dulce. *Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (AIDIS).*

Merino, M., E. Monroy, S. Castillo & J. Ramírez. 2003. Wind-driven upwelling indicated by hidrological variability in a tropical eutrophied reservoir, Valle de Bravo, Mexico En: 4th International Conference on Reservoir Limnology and Water Quality: 228-231, Institute of Hydrobiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Ceské Budìjovice, 389 p.

Meyers, J.R. 2018. Zebrafish: development of a vertebrate model organism. *Current Protocols* 16:1-19. DOI:10.1002/cpet.19

Montvydienė, D., S. Šulčius, Z. Jurgelėnė, T. Makaras, V. Kalcienė, R. Taraškevičius, M. Kazlauskas & N. Kazlauskienė. 2020. Contrasting Ecotoxic Effects of Landfill Leachate and Cyanobacterial Biomass on Aquatic Organisms. *Water, Air, & Soil Pollution* 231-323. DOI:10.1007/s11270-020-04684-x

Munoz, G., S. V. Duy, A. Roy-Lachapelle, B. Husk & S. Sauvé. 2017. Analysis of individual and total microcystins in surface water by on-line preconcentration and desalting coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal Chromatography A* 22; 1516: 9-20. DOI:10.1016/j.chroma.2017.07.096

Nagel, R. 2002. DarT: The embryo test with the Zebrafish *Danio rerio*-A general model in ecotoxicology and toxicology. *ALTEX,* 19 Suppl 1:38-48.

Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-2021, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua. Diario Oficial de la Federación. Disponible en línea en https://www.dof.gob.mx (consultado 13 enero 2025).

Nováková, K., L. Blahá & P. Babica. 2012. Tumor promoting effects of cyanobacterial extracts are potentiated by anthropogenic contaminants – Evidence from *in vitro* study. *Chemosphere* 89 (1):30-37. DOI:10.1016/j.chemosphere.2012.04.008

Oberemm, A., J. Fastner & C. E. W. Steinberg. 1997. Effects of microcystin-LR and cyanobacterial crude extracts on embryo-larval development of zebrafish *(Danio rerio). Water Research* 31(11): 2918–2921. DOI:10.1016/S0043-1354(97)00120-6

Oberemm, A., J. Becker, G.A. Codd & C. Steinberg. 1999. Effects of cyanobacterial toxins and aqueous crude extracts of cyanobacteria on the development of fish and amphibians. *Environmental Toxicology* 14: 77-88. DOI:10.1002/(SICI)1522-7278(199902)14:1<77:AID-TOX11>3.0.CO;2-F

OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). 2013. OECD Guidelines for the testing of chemicals 236 - Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test, pp 22.

Olvera, V.V. 1996. Limnología y manejo de la cuenca de la presa Valle de Bravo, México. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM, CDMX, México. 95 p.

Palíková, M., S. Navrátil, B. Maršálek & L. Bláha. 2003. Toxicity of Crude Extracts of Cyanobacteria for Embryos and Larvae of Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinary* Brno, 72: 437-443. DOI: 10.2754/avb200372030437

Palíková, M., R. Krejcí, K. Hilscherová, P. Babica, S. Navrátil, R. Kopp & L. Bláha. 2007. Effect of different cyanobacterial biomasses and their fractions with variable microcystin content on embryonal development of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquatic Toxicology*, 81, 312–318. DOI: 10.1016/j.aquatox.2007.01.001

Parichy, D. M.& J. E. Spiewak. 2015. Origins of adult pigmentation: Diversity in pigment stem cell lineages and implications for pattern evolution. *Pigment Cell and Melanoma Research* 28(1): 31-50. DOI: 10.1111/pcmr.12332

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 dulceacuícolas 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*. CICESE, pp. 408-421.

Pineda-Mendoza, R., F. Martínez-Jerónimo, G. Garduño-Solórzano G. & R. Olvera-Ramírez. 2011. Caracterización morfológica y molecular de cianobacterias filamentosas aisladas de florecimientos de tres lagos urbanos eutróficos de la Ciudad de México. *Polibotánica*, 31: 31-50.

Raible, D.W., A. Wood, W. Hodsdon, P.D. Henion, J.A. Weston & J.S Eisen. 1992. Segregation and early dispersal of neural crest cells in the embryonic zebrafish. *Developmental Dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists* 195 (1): 29-42. DOI: 10.1002/aja.1001950104

Ramírez-García, P & D. Chicalote-Castillo D. 2021. Changes in cyanobacterial density due to application of Artificial Floating Island model with macrophytes: an experimental case study in a tropical reservoir. *Journal of Limnology* 80(1): 1-16. DOI: 10.4081/jlimnol.2020.1959

Ramírez-Zierold, J. A., M. Merino-Ibarra, E. Monroy-Ríos, M. Olson, F.S. Castillo, M.E. Gallegos & G. Vilaclara. 2010. Changing water, phosphorus and nitrogen budgets for Valle de Bravo reservoir, water supply for Mexico City Metropolitan Area, *Lake and Reservoir Management* 26(1): 23-34. DOI:10.1080/07438140903539790

Ren, M., M. Zhang, F. Fan, J. Yang, Z. Yang, K. Chen, Y. Chuang Li & X. Shi. 2021. Difference in temporal and spatial distribution pattern of cyanobacteria between the sediment and water column in Lake Chaohu. *Environmental Pollution* 291: 118163. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.118163

Roegner, A., L.Truong, C. Weirich, M. Pírez-Schirmer, B. Brena, T.R. Miller & R. Tanguay. 2019. Combined *Danio rerio* embryo morbidity, mortality and photomotor response assay: A tool for developmental risk assessment from chronic cyanoHAB exposure. *Science of the Total Environment* 697, 134210. DOI:10.1016/j.scitotenv.2019.134210

Roset, J., S. Aguayo & M.J. Muñoz. 2001. Detección de cianobacterias y sus toxinas. Una revisión. *Revista de Toxicología* 18: 65-71.

Sha, J., H. Xiong, C. Li, Z. Lu, J. Zhang, H. Zhong, W. Zhang & B. Yan. 2021. Harmful algal blooms and their eco-environmental indication. *Chemosphere* 274. DOI:10.1016/j.chemosphere.2021.129912

Sisman, T., U. Incekara & Y.S.Yildiz. 2008. Determination of acute and early life stage toxicity of fat-plant effluent using zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology* 23:480-486. DOI:10.1002/tox.20366

Smith, D. R., K.W. King & M.R. Williams. 2015. What is causing the harmful algal blooms in Lake Erie?. *Journal Soil Water Conservation* 70 (2): 27–29. DOI:10.2489/jswc.70.2.27a.

Song, L., W. Chen, L. Peng, N. Wan, N. Gan & X. Zhang. 2007. Distribution and bioaccumulation of microcystins in water columns: A systematic investigation into the environmental fate and the risks associated with microcystins in Meiliang Bay, Lake Taihu. *Water Research* 41(13): 2853-2864. DOI:10.1016/j.watres.2007.02.013

Šulčius, S., D. Montvydienė, H. Mazur-Marzec, J. Kasperovičienė, R. Rulevičius & Ž. Cibulskaitė. 2017. The profound effect of harmful cyanobacterial blooms: from food web and management perspectives. *Science of the Total Environment* 609: 1443-1450. DOI:10.1016/j.scitotenv.2017.07.253

Svirčev, Z., D. Drobac, N. Tokodi, B. Mijović, G. A. Codd & J. Meriluoto. 2017. Toxicology of microcystins with reference to cases of human intoxications and epidemiological investigations of exposures to cyanobacteria and cyanotoxins. *Archives of Toxicology* 91**,** 621-650. DOI: 10.1007/s00204-016-1921-6

Todd, N.E & M. Van Leeuwen. 2002. Effects of sevin (Carbaryl insecticide) on early life stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 53:267-72. DOI: 10.1006/eesa.2002.2231

United States Environmental Protection Agency (USEPA). 2014. Cyanobacteria and Cyanotoxins: Information for Drinking Water Systems. Available online at: https://www.epa.gov/sites/default/files/201408/documents/cyanobacteria_factsheet.pdf (downloaded January 07, 2025)

United States Environmental Protection Agency (USEPA). 2015. Drinking Water Health Advisories for Two Cyanobacterial Toxins. Available online at: http://www.epa.gov/sites/defaulyt/files/2017-06/documents/cyanotoxins-fact_sheet-2015.pdf/ (downloaded January 19, 2024).

United States Environmental Protection Agency (USEPA). 2019. Recommended Human Health Recreational Ambient Water Quality Criteria or Swimming Advisories for *Microcystins* and *Cylindrospermopsin.* Health and Ecological Criteria Division Washington DC*,* 142 p.

Wang, L., Q. Wang, G. Xiao, G. Chen, L. Han & T. Hu. 2020. Adverse effect of cylindrospermopsin on embryonic development in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere* 241. DOI:10.1016/j.chemosphere.2019.125060

Wei, H., S. Wang, X.E Genbo, J. Liu, X. Li & Z. Wang. 2020. Synergistic toxicity of microcystin-LR and Cu to zebrafish (*Danio rerio*). *Science of the Total Environment* 713. DOI:10.1016/j.scitotenv.2019.136393

World Health Organization (WHO). 2020. Cyanobacterial toxins: microcystins Background document for development of WHO. Guidelines for drinking-water quality and guidelines for safe recreational water environments, 55 p.

Wu, X., B. Xiao, R. Li, Z. Wang, X. Chen & X. Chen. 2009. Rapid quantification of total microcystins in cyanobacterial samples by periodate-permanganate oxidation and reversed-phase liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 651 (2), 241-247. DOI:10.1016/j.aca.2009.08.026

Zhan C., F. Zhang, W. Liu & X. Zhang. 2020. Microcystin-LR promotes zebrafish (*Danio rerio*) oocyte (*in vivo*) maturation by activating ERK1/2-MPF signaling pathways, and cAMP is involved in this process. *Environmental Pollution* 259. DOI:10.1016/j.envpol.2019.113843

Žegura, B., G.Gajski G, A. Štraser & V. Garaj-Vrhovac V. 2011. Cylindrospermopsin induced DNA damage and alteration in the expression of genes involved in the response to DNA damage, apoptosis and oxidative stress. *Toxicon* 47(6-7):471-479. DOI:10.1016/j.toxicon.2011.08.005