

**UNIVERSIDAD CATÓLICA SEDES SAPIENTIAE**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA**



Evaluación de la toxicidad en alevines de “tilapia” *Oreochromis niloticus* L. expuestos a la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* (Kützing) procedentes del Humedal de Medio Mundo – Huaura

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AMBIENTAL**

**AUTORA**

**Karen Moscoso Camacho**

**ASESOR**

**Roger Manuel Mestas Valero**

Huaura, Perú

2021

# ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

ACTA N° 025 - 2021/UCSS/FIA/DI

Siendo las 12:00 p. m. del día 31 de agosto de 2021 - Universidad Católica Sedes Sapientiae, el Jurado de Tesis, integrado por:

- |                               |                 |
|-------------------------------|-----------------|
| 1. René Pinazo Herencia       | presidente      |
| 2. Juan José Monroy Ramos     | primer Miembro  |
| 3. Oliver Ríos Cahuaza        | segundo Miembro |
| 4. Roger Manuel Mestas Valero | asesor          |

Se reunieron para la sustentación de la tesis titulada **Evaluación de la toxicidad en alevines de "tilapia" *Oreochromis niloticus* L. expuestos a la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* (Kützing) procedentes del Humedal de Medio Mundo - Huaura** que presenta la bachiller en Ciencias Ambientales, **Karen Moscoso Camacho** cumpliendo así con los requerimientos exigidos por el reglamento para la modalidad de titulación; la presentación y sustentación de un trabajo de investigación original, para obtener el Título Profesional de **Ingeniero Ambiental**.

Terminada la sustentación y luego de deliberar, el Jurado acuerda:

APROBAR

DESAPROBAR

La tesis, con el calificativo de **BUENA** y eleva la presente Acta al Decanato de la Facultad de Ingeniería Agraria, a fin de que se declare **EXPEDITA** para conferirle el **TÍTULO** de **INGENIERO AMBIENTAL**.

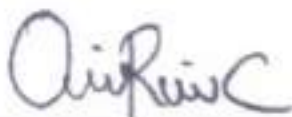
Lima, 31 de agosto de 2021.



René Pinazo Herencia  
PRESIDENTE



Juan José Monroy Ramos  
1° MIEMBRO



Oliver Ríos Cahuaza  
2° MIEMBRO



Roger Manuel Mestas Valero  
ASESOR

## **DEDICATORIA**

Dedicado a Dios y mi familia, especialmente a mis hijos Rodrigo y Luciana, por ser mi fortaleza e inspiración para poder cumplir todas mis metas.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios, todopoderoso, por permitirme culminar el proceso de investigación para poder obtener el título de ingeniera ambiental.

Agradezco a mi familia, mis padres Robert Hugo Moscoso Aranda e Yvonne Haydee Camacho Cervantes, mis hermanos Robert y Marcelo por estar apoyándome y dándome ánimos en todo momento durante el proceso de investigación.

Agradezco a mi tía Rosa Camacho Cervantes por siempre guiarme y apoyarme para poder fortalecer mis conocimientos.

Agradezco a mi esposo Rodolfo Antonio Goñi Malpartida y a mis suegros por apoyarme durante la fase experimental de mi trabajo de investigación.

Agradezco a mi asesor de tesis el Dr. Roger Mestas Valero y al profesor Biólogo Armando Chiclla Salazar, por su orientación, enseñanza y paciencia durante la elaboración de mi investigación.

Agradecimiento especial a los profesores de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, quienes me enseñaron todos los conocimientos teóricos y prácticos, permitiéndome elaborar y desarrollar mi tesis de investigación.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Índice general.....	iv
Índice de tablas .....	vii
Índice de figuras .....	viii
Índice de apéndices.....	x
Resumen .....	xi
Abstract.....	xii
Introducción.....	1
Objetivos.....	3
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO .....	4
1.1 Antecedentes.....	4
1.2 Bases teóricas especializadas .....	12
1.2.1 Cianobacterias .....	12
Tipos de cianobacterias.....	15
Descripción de Géneros del orden <i>Chroococcales</i> .....	16
- Especie <i>Microcystis aeruginosa</i> (Kützing) Kützing 1846 .....	17
Toxinas producidas por cianobacterias.....	19
Tipos de cianotoxinas, modos de acción y efectos.....	20
Microcistina.....	22
Implicancias eco toxicológicas de la toxina.....	23
1.2.2 “Tilapia” .....	24
Efectos tóxicos de la microcistina en “tilapia” ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	29
1.2.3 Humedal de Medio Mundo.....	31
CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS .....	34
2.1 Diseño de la investigación .....	34
2.1.1 Lugar y Fecha.....	34
2.2 Descripción de la investigación .....	35
2.2.1 Fase preliminar.....	35
2.2.2 Fase de Campo .....	36
a) Extracción de <i>Microcystis aeruginosa</i> en el Humedal de Medio Mundo .....	36

b) Obtención y adaptación en peceras de <i>Oreochromis niloticus</i> .....	36
2.2.3 Fase de laboratorio.....	37
a) Cultivo y Obtención de biomasa de <i>Microcystis aeruginosa</i> .....	37
Cinética poblacional de la <i>Microcystis aeruginosa</i> .....	38
b) Implementación y adaptación de los alevines de “tilapia” a condiciones de laboratorio.....	41
c) Incorporación de <i>Microcystis aeruginosa</i> en las unidades experimentales .....	42
2.3 Tratamientos .....	43
2.4 Unidades experimentales .....	43
2.5. Identificación de sus variables y su mensuración.....	44
2.6 Diseño estadístico .....	48
2.7 Análisis estadístico de los datos.....	48
CAPÍTULO III: RESULTADOS .....	52
3.1 Caracterización poblacional de <i>M.aeruginosa</i> .....	52
3.2 Variación del pH, OD y la toxina microcistina presentes en aguas .....	54
3.2.1 Variación de pH de las aguas después de los tratamientos .....	54
3.2.2 Variación de Oxígeno disuelto (OD) en las aguas después de los tratamientos .....	57
3.2.3 Variación de la concentración de las toxinas presentes en aguas.....	60
3.3 Variación de la concentración de toxina microcistina en diferentes órganos del pez.....	63
3.4 Mortandad de los alevines de “tilapia” producidas producida por exposición a <i>Microcystis aeruginosa</i> en los diferentes tratamientos.....	68
CAPÍTULO IV: DISCUSIONES .....	71
4.1 Caracterización poblacional de <i>Microcystis aeruginosa</i> .....	71
4.2 Variación del pH, OD y la toxina microcistina en los tratamientos.....	72
4.3 Mortandad de los alevines de “tilapia” producidas por la exposición de <i>Microcystis aeruginosa</i> y la toxina MC en los diferentes tratamientos.....	75
CAPITULO V: CONCLUSIONES .....	76
CAPITULO VI: RECOMENDACIONES .....	78
Referencias .....	79
Terminología .....	89
Apéndices .....	91

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> <i>Clasificación Taxonómica de la cianobacteria Microcystis aeruginosa</i> .....	18
<b>Tabla 2.</b> <i>Grupo de toxinas de cianobacterias, principales productores, principales efectos tóxicos y biotransformación</i> .....	20
<b>Tabla 3.</b> <i>Clasificación taxonómica de Oreochromis niloticus</i> .....	26
<b>Tabla 4.</b> <i>Requerimientos medioambientales para la crianza de “tilapia”</i> .....	28
<b>Tabla 5.</b> <i>Composición del medio de cultivo BG11</i> .....	37
<b>Tabla 6.</b> <i>Condiciones físicas para la adaptación de los alevines de “tilapia” a condiciones de laboratorio</i> .....	41
<b>Tabla 7.</b> <i>Descripción de los tratamientos y el control por dosis de Microcystis aeruginosa</i> ...43	
<b>Tabla 8.</b> <i>Identificación de variables y su mensuración</i> .....	44
<b>Tabla 9.</b> <i>Características de la cianobacteria Microcystis aeruginosa en el medio de cultivo BG11</i> .....	52
<b>Tabla 10.</b> <i>Variación del pH en distintos tratamientos. (Promedio <math>\pm</math> DS) T0: Tratamiento control, T1: Tratamiento 1, T2: Tratamiento 2, T3: Tratamiento 3</i> .....	54
<b>Tabla 11.</b> <i>Análisis de varianza de pH entre semanas y tratamientos</i> .....	55
<b>Tabla 12.</b> <i>Prueba de comparación de medias de la concentración de pH en los tratamientos</i> 55	
<b>Tabla 13.</b> <i>HSD Tukey entre los resultados de pH con los tratamientos</i> .....	56
<b>Tabla 14.</b> <i>Variación del OD en los distintos tratamientos y semanas. (Promedio <math>\pm</math> DS)</i> .....	57
<b>Tabla 15.</b> <i>Análisis de varianza de OD entre semana y tratamientos</i> .....	58

<b>Tabla 16.</b> <i>Prueba de comparación de medias de la concentración de OD en los tratamientos</i> .....	58
<b>Tabla 17.</b> <i>HSD Tukey entre los resultados de OD con los tratamientos</i> .....	59
<b>Tabla 18.</b> <i>Variación de toxina y poblaciones de M. aeruginosa según los tratamientos</i> .....	60
<b>Tabla 19.</b> <i>Análisis de ANOVA entre tratamientos y concentración de toxina en el agua</i> .....	61
<b>Tabla 20.</b> <i>Prueba de comparación de medias de la concentración de toxina en agua en los tratamientos</i> .....	61
<b>Tabla 21.</b> <i>HSD Tukey para la concentración de toxina en agua en los tratamientos</i> .....	62
<b>Tabla 22.</b> <i>Variación de la concentración de la toxina microcistina (MC ppb) en diferentes órganos según el peso y la talla del pez</i> .....	63
<b>Tabla 23.</b> <i>Análisis de ANOVA entre concentración de toxina en el músculo de cada pez y entre los tratamientos</i> .....	64
<b>Tabla 24.</b> <i>Prueba de comparación de medias de la concentración de toxina en músculo del pez en los tratamientos</i> .....	65
<b>Tabla 25.</b> <i>HSD Tukey para la concentración de toxina en músculo</i> .....	65
<b>Tabla 26.</b> <i>Análisis de ANOVA entre concentración de toxina en el hígado de cada pez y entre los tratamientos</i> .....	66
<b>Tabla 27.</b> <i>Prueba de comparación de medias de la concentración de toxina en hígado del pez en los tratamientos</i> .....	67
<b>Tabla 28.</b> <i>HSD Tukey para la concentración de toxina en hígado</i> .....	68
<b>Tabla 29.</b> <i>Porcentaje de mortandad de los alevines de “tilapia” en las cuatro semanas de exposición, n= 20. T1: Tratamiento 1, T2: Tratamiento 2, T3: Tratamiento 3</i> .....	69



<b>Tabla 30.</b> <i>Probabilidad relativa de los efectos agudos de la salud para aguas recreacionales</i> .....	93
<b>Tabla 31.</b> <i>Casos humanos de exposición a cianotoxinas</i> .....	94
<b>Tabla 32.</b> <i>Parámetros fisicoquímicos del agua del humedal de Medio Mundo</i> .....	95
<b>Tabla 33.</b> <i>Métodos de transporte de peces vivos</i> .....	96

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<i>Figura 1. Microcystis aeruginosa</i> Kützing. ....	17
<i>Figura 2.</i> Estructura general de las microcistinas. ....	23
<i>Figura 3.</i> Morfología externa de la “tilapia”. ....	27
<i>Figura 4.</i> Morfología interna de la “tilapia”. ....	28
<i>Figura 5.</i> Ubicación de los muestreos del efluente en el humedal Albuferas de Medio Mundo, Huaura-Lima. ....	35
<i>Figura 6.</i> Extracción de la muestra en el Humedal de Medio Mundo. ....	36
<i>Figura 7.</i> Cultivo de <i>Microcystis aeruginosa</i> . ....	38
<i>Figura 8.</i> Determinación de la cinética de crecimiento de las cianobacterias con la cámara de Sedgwick Rafter. ....	40
<i>Figura 9.</i> Acondicionamiento de los alevines de <i>Oreochromis niloticus</i> . ....	42
<i>Figura 10.</i> Vertimiento de <i>Microcystis aeruginosa</i> a cada pecera. ....	42
<i>Figura 11.</i> Evaluación de pH de cada pecera con las tiras reactivas y con el kit analizador de pH y cloro. ....	45
<i>Figura 12.</i> Evaluación de oxígeno disuelto (OD) de cada pecera con medidor portátil marca EZDO. ....	45
<i>Figura 13.</i> Evaluación de temperatura. ....	46
<i>Figura 14.</i> Diagrama del procedimiento de análisis de toxina en agua y órganos del pez. ....	47

<i>Figura 15.</i> Interpretación de resultados para el kit de tiras de microcistinas en ppb. ....	51
<i>Figura 16.</i> Curva de crecimiento promedio de <i>Microcystis aeruginosa</i> extraídas del humedal de Medio Mundo en medio BG11 (31 días de cultivo) X: Colonias de <i>Microcystis aeruginosa</i> (cel/ml), Y= Días transcurridos en el medio BG11.....	53
<i>Figura 17.</i> Porcentaje de mortandad de peces en cada semana y para T1, T2 y T3. ....	70
<i>Figura 18.</i> Microcystin strip test recreational water.. ....	91
<i>Figura 19.</i> Diagrama de dispersión y recta de regresión entre el número de colonias y días transcurridos ( $r= 0.9527$ ). Fuente: Elaboración propia. X: Colonias de <i>Microcystis aeruginosa</i> (cel/ml), Y= Días transcurridos en el medio BG11 .....	92
<i>Figura 20.</i> Método para transporte de peces vivos .....	96
<i>Figura 21.</i> Recolección de cianobacterias del Humedal de Medio Mundo.. ....	97
<i>Figura 22.</i> Identificación y cultivo de <i>Microcystis aeruginosa</i> . ....	97
<i>Figura 23.</i> Monitoreo semanal de las unidades experimentales. ....	98
<i>Figura 24.</i> Sacrificio de las “tilapias” después de 30 días de exposición a la toxina microcistina. Corte axial del pez “tilapia”.....	98
<i>Figura 25.</i> Resultados del Kit fresh water strip test para Microcistina evaluados en órganos (hígado y músculo) de cada pez “tilapia” y en agua de cada tratamiento. ....	99

## ÍNDICE DE APÉNDICES

	Pág.
Apéndice 1. Metodología para medir la toxina microcistinas con el test abraxis .....	91
Apéndice 2. Curva de dispersión y recta de regresión entre el número de colonias y días transcurridos. ....	92
Apéndice 3. Probabilidad de efectos agudos relacionados a cianobacterias. ....	93
Apéndice 4. Casos de intoxicación por presencia de la toxina microcistina .....	94
Apéndice 5. Parámetros fisicoquímicos del Humedal de Medio Mundo. ....	95
Apéndice 6. Método para transporte de peces vivos .....	96
Apéndice 7. Registro fotográfico de la investigación.....	97

## RESUMEN

Las floraciones de algas o cianobacterias de color verde azulado se visualizan con frecuencia en el Humedal de Medio Mundo, Huaura. Siendo la especie *Microcystis aeruginosa* Kützing, principal productor de microcistina, una de las cianobacterias reportadas en algunos estudios realizados en el Humedal. La presente investigación evaluó la toxicidad en los alevines de “tilapia” *Oreochromis niloticus* expuestos a la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* procedentes del humedal de Medio Mundo-Huaura, con el objetivo de identificar y evaluar los efectos que producen en el medio acuático y en el pez de estudio.

Esta investigación tuvo una duración de ocho meses, primero se extrajo la cianobacteria del Humedal de Medio Mundo y se cultivó en el medio BG11 por un periodo de 30 días. Para ello, se propuso trabajar con tres concentraciones diferentes de *Microcystis aeruginosa* ( $5,0 \times 10^6$  cel.ml<sup>-1</sup>,  $1,0 \times 10^7$  cel.ml<sup>-1</sup> y  $1,5 \times 10^7$  cel.ml<sup>-1</sup>), considerando dos repeticiones para cada tratamiento incluyendo el control por un periodo de exposición de cuatro semanas. Asimismo, cada tratamiento se aplicó en peceras de 50 L de agua y 20 peces de *Oreochromis niloticus*. Se evaluó semanalmente la variación de oxígeno disuelto, pH, temperatura y concentración de microcistina presente en el agua utilizando tiras reactivas de identificación de microcistina de la marca ABRAXIS, teniendo como valor máximo 10 ppb  $\approx$  10 µg/L. Al llegar a la cuarta semana, se analizaron las concentraciones de microcistina del hígado y tejido del pez, eligiendo tres peces al azar por cada tratamiento, obteniendo valores máximos de 5 ppb  $\approx$  5 µg/L, además, se identificó el porcentaje de mortandad por tratamiento, resultando 100 % de mortalidad para el tratamiento tres en la cuarta semana de exposición a la toxina. En base a los resultados obtenidos se pudo concluir que la toxina microcistina es bioacumulada en el hígado y musculo de la “tilapia”, obteniendo valores por encima de lo recomendado por la OMS que es 0.04 µg / kg, por lo que se corroboró la alta toxicidad de la microcistina al contacto con los peces.

**Palabras claves:** Humedal, “tilapia”, toxicidad, *Microcystis aeruginosa*, microcistina.

## ABSTRACT

The blue-green blooms of algae or cyanobacteria are frequently seen in the Medio Mundo Wetland, Huaura being the species *Microcystis aeruginosa* Kützing, the main producer of microcystin, one of the cyanobacteria reported in some studies carried out in the Wetland. This research evaluated the toxicity in alevine of “tilapia” *Oreochromis niloticus* exposed to the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* from the Medio Mundo-Huaura wetland, with the aim of identifying and evaluating the effects they produce in the aquatic environment and in the fish in study.

The investigation lasted eight months. First, the cyanobacterium was extracted from the Medio Mundo Wetland and cultured in the BG11 medium for a period of 30 days. For this, it was proposed to work with three different concentrations of *Microcystis aeruginosa aeruginosa* ( $5,0 \times 10^6$  cel.ml<sup>-1</sup>,  $1,0 \times 10^7$  cel.ml<sup>-1</sup> y  $1,5 \times 10^7$  cel.ml<sup>-1</sup>), considering two repetitions for each treatment including the control for an exposure period of four weeks, each treatment was applied in 50 L water tanks and 20 *Oreochromis niloticus* fish. The variation of dissolved oxygen, pH, temperature and concentration of microcystin present in the water was evaluated weekly, for this purpose, ABRAXIS brand microcystin identification reagent strips were used, with a maximum value of 10 ppb  $\approx 10 \mu\text{g} / \text{L}$ . At the fourth week, the microcystin concentrations of the liver and fish tissue were analyzed, choosing three fish at random for each treatment, obtaining maximum values of 5 ppb  $\approx 5 \mu\text{g} / \text{L}$ , in addition the percentage of mortality per treatment was identified, resulting 100 % mortality for treatment three in the fourth week of toxin exposure. Based on the results obtained, it was possible to conclude that the microcystin toxin is bioaccumulated in the liver and muscle of the “tilapia”, obtaining values above that recommended by the OMS, which is  $0,04 \mu\text{g} / \text{kg}$ , for which the high toxicity of microcystin on contact with fish.

Key words: Wetland, “tilapia”, toxicity, *Microcystis aeruginosa*, microcystin.

## INTRODUCCIÓN

Las toxinas producidas por algunas especies de cianobacterias y algas son sustancias generadas de manera natural, sin embargo, la actividad humana ha incrementado debido al exceso de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo, que descargan las industrias, ganaderías, aguas residuales, etc, produciendo la eutrofización de muchos cuerpos de agua, causando proliferación anormal de algas y cianobacterias que impactan negativamente sobre la calidad de agua potable y recreacional. Chorus *et al.* (2004) mencionan que las toxinas cianobacterianas en el agua dulce son las causantes de muerte de animales y de lesiones en humanos, habiendo así la necesidad de mayores investigaciones sobre las toxinas y los alérgenos producidos por cianobacterias y algas orientados a la evaluación integral de los riesgos que pueden producir estos organismos. Prieto (2006) menciona que, la presencia de floraciones cianobacterianas y sus riesgos para la salud humana, animal y equilibrio de los ecosistemas acuáticos es un asunto que ha cobrado interés debido al aumento de reportes de sucesos tóxicos asociados al cambio climático, sin embargo, a nivel local y del país, no existe una idea adecuada acerca del riesgo de contaminación por cianobacterias y sus toxinas.

Siromba (2015) menciona que, el afloramiento de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing 1846 es una de las más peligrosas debido a la producción de la toxina microcistina que genera efectos de inhibición de la capacidad fotosintética de otras especies de algas por el sombreado, la escasa disponibilidad de oxígeno en el agua y la disminución de la calidad del agua. Carvajal (2011) agrega que, los peces presentan intoxicación aguda en medios con microcistinas, ya que la toxina es caracterizada por generar un considerable daño al hígado, debido a las alteraciones del citoesqueleto, apoptosis y amplias necrosis de hepatocitos, que generan hemorragias intrahepáticas, generando la muerte debido al shock hipovolémico y congestión hepática.

Las Microcistinas son absorbidos por los peces mediante los opérculos branquiales o por el tejido intestinal, produciendo que las toxinas se transporten rápido mediante el flujo sanguíneo repartiéndose a los distintos órganos o tejidos; es por ello que se encuentra en los órganos más

irrigados como el hígado, riñón, intestino y opérculos una mayor distribución de microcistina. En diferentes ocasiones la mortandad de peces ha sido asociada a floraciones tóxicas de cianobacterias principalmente las que producen microcistinas las cuales son causantes de la enfermedad denominada “enfermedad hepática de Nepten” (Prieto *et al.*, 2008).

Ruiz y Zafra (2008) indican que, al evaluar los factores biológicos del humedal de medio mundo se visualizó mayor presencia de peces como lisa, mojarra y “tilapia”. Siendo las “tilapias” una especie introducida, pero de mucha relevancia para el humedal ya que su crianza es de manera controlada, pero utilizan el mismo medio acuático que las demás especies. En el estudio sobre el análisis físico del humedal de Medio Mundo identificaron que el agua del humedal tiene color aparente verde claro y amarillento, que deduce puede ser por causa del plancton, organismos microscópicos o por la descomposición de la biomasa vegetal, dejando en evidencia que existen microorganismos que necesitan ser estudiados para conocer su importancia y su efecto frente a los organismos presentes.

Chiclla y Sánchez (2018) investigaron el Humedal de medio mundo debido a que el cuerpo de agua estuvo presentando floraciones de cianobacterias. En el estudio, evaluaron la biomasa y sus toxinas mediante un análisis de fitoplancton y revelaron la presencia de formas coloniales (92 %) de la especie *Microcystis aeruginosa*, siendo una preocupación por las causas de envenenamiento de animales domésticos y de vida silvestre en el mundo.

En el Humedal de Medio Mundo se visualizó la aparición de floración de estas cianobacterias productoras de microcistina. Sin embargo, se desconoce el efecto que están causando y en qué concentraciones pueden generar riesgo. La presente investigación buscó evaluar la toxicidad y los cambios y/o alteraciones que pueden presentar las “tilapias” (*Oreochromis niloticus*) en laboratorio, expuestas a diferentes poblaciones de *Microcystis aeruginosa* productoras de la toxina microcistina, utilizando prueba de tira para agua dulce (fresh water strip test) para la cuantificación de microcistina en los órganos del pez y agua de estudio.



## OBJETIVOS

### Objetivo General:

Evaluar la toxicidad en alevines de “tilapia” *Oreochromis niloticus* L. expuestas a la toxina microcistina producida por *Microcystis aeruginosa* procedentes del humedal de Medio Mundo.

### Objetivos Específicos:

- Realizar la caracterización poblacional de *Microcystis aeruginosa* en el medio de cultivo BG11
- Determinar la variación del oxígeno disuelto (OD), pH y de la toxina microcistina presentes en las unidades experimentales.
- Evaluar la variación de la concentración de la toxina microcistina en tejido hepático y muscular de *Oreochromis niloticus*.
- Determinar la mortandad de los alevines de “tilapia” producidas por exposición *Microcystis aeruginosa* en los diferentes tratamientos.

## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes

Internacional

Abdel (2017) realizó una investigación cuyo objetivo fue determinar el efecto de exposición de microcistina en el comportamiento de los peces, tejidos, funciones hepáticas, enzimas antioxidantes y peroxidación de lípidos. La investigación fue realizada en la facultad de medicina de la Universidad de Alejandría, provincia de Matrouh, Egipto, tuvo un diseño experimental exploratorio de alcance explicativo, asimismo la población de estudio fue de 160 peces, teniendo una muestra de 40 peces en cada pecera de 60 L. Además, las técnicas de estudio fueron cuatro tratamientos (3 500 µg/g de microcistina, 500 µg/g de microcistina, inyección intraperitoneal de microcistina con una dosis de 0.1 ml por 200 µg/kg de peso corporal y el cuarto sirvió como control), todas las muestras fueron sacrificadas al final de la tercera semana de exposición. Es por ello por lo que, el autor utilizó los kits para pruebas de función hepática (alanina aminotransferasa [ALT] y aspartato aminotransferasa [AST]), kits para peróxido lipídico (malondialdehído [MDA]) y para biomarcadores de estrés oxidativo son glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reducido y catalasa (CAT) y para analizarlo estadísticamente utilizó la prueba re-test, análisis de varianza, test de duncan y correlación simple utilizando el programa SPSS. En los resultados demostró que en la histopatología de los peces hubo problemas de fragmentación, hialinización y necrosis de la musculatura subcutánea, especialmente para la dosis de 500 µg/g de toxina, concluyendo que, la microcistina era tóxica para la “tilapia” del Rio Nilo en diferentes rutas de exposición y diferentes dosis, teniendo una variación significativa ( $p < 0.05$ ) para el hígado que fue el órgano más dañado.

Schmidt (2013) en la investigación tuvo como objetivo analizar qué tipos de peces del lago de St. Marys contienen microcistina LR, la cual fue realizada en la ciudad de Ohio, USA. La población de estudio fueron 130 peces, teniendo una muestra de 26 peces en cada pecera. Además, las técnicas de estudio utilizadas fueron enfoques analíticos para la prueba de microcistinas en los tejidos de los 130 peces, utilizando el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) que es una herramienta útil para el análisis rápido de microcistinas en muestras de agua, así también usó cromatografía líquida de espectrometría de masa para el análisis en tejidos y para el diseño estadístico utilizó la prueba de medias de Fisher ( $p < 0.05$ ) con el programa estadístico de Minitab, para comparar a *Pomoxis nigromaculatus* (Lesueur, 1829) con *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) solo y con los resultados combinados de las cuatro especies restantes. En los resultados detectó que *pomoxis nigromaculatus* contiene microcistina a niveles por encima de  $70 \mu\text{g} / \text{kg}$ , deduciendo que esta especie puede ser más sensible a la acumulación de microcistinas que otras especies, además, visualizaron que había diferencia en el contenido de microcistina en los tejidos de los peces basado en especies, siendo el “pez negro” (*Pomoxis nigromaculatus*) y el “pez carpa” - *Cyprinus carpio* las únicas dos de las especies totales que dieron positivo para microcistina, los resultados del análisis estadístico arrojaron un p.valor  $< 0.05$  entre *pomoxis nigromaculatus* y las otras especies. Concluyendo que, puede haber una diferencia en el contenido de microcistina-LR en los tejidos de los peces según la especie.

Zambrozi (2012) en su investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos bioquímicos y genéticos de la *Microcystis aeruginosa* liofilizado en los peces neotropicales *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1847). La investigación se realizó en Brasil y tiene un enfoque mixto y alcance exploratorio. Asimismo, la población fue de 32 peces con una muestra de ocho peces por pecera, siendo cuatro peceras en total. Además, las técnicas de estudio que utilizó para las branquias y el hígado fue análisis de enzimas de biotransformación y defensas antioxidantes, sangre y células branquiales, para el análisis genético se determinó la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE). Para ello, los tratamientos se compararon mediante la prueba t de Student o la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, según la distribución de los datos (normalidad y homogeneidad de las varianzas) ( $p < 0.05$ ). En consecuencia, los resultados mostraron la activación de la vía de biotransformación debido al aumento de la CYP1A hepática

y de la glutatión S-transferasa (GST) branquial y hepática. La defensa antioxidante demostró ser muy afectada por la exposición a la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* que conduce a cambios, tanto en las branquias como en el hígado, en las actividades de la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR) y en el contenido de tripéptido glutatión (GSH). Además, no se detectó peroxidación de lípidos, pero se observó daño a la molécula de ADN en las células sanguíneas. Asimismo, los resultados de los parámetros físicos y químicos son para temperatura ( $21.79 \pm 1.43$  y  $21.54 \pm 1.96$  °C), pH ( $7.04 \pm 0.22$  y  $7.04 \pm 0.33$ ), conductividad ( $97.17 \pm 7.82$  y  $94.33 \pm 4.67$   $\mu\text{Scm}^{-1}$ ) y oxígeno disuelto ( $8.32 \pm 0.43$  y  $7.86 \pm 0.20$   $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ ). En conclusión, puede afirmar que la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* liofilizada es capaz de promover cambios en los parámetros bioquímicos y genéticos de *P. lineatus*.

Ibrahim *et al* (2011) realizaron una investigación que tuvo como objetivo principal evaluar experimentalmente las respuestas de *Oreochromis niloticus* en presencia de concentraciones variables de microcistina cruda extraídas de *Microcystis aeruginosa* localmente aisladas. La investigación fue en la ciudad de Tanta en Egipto y tuvo un diseño experimental con alcance explicativo. La población de estudio fue de 100 peces de “tilapia” y la muestra fue de 10 peces por pecera, así mismo, los peces fueron expuestos a tres concentraciones diferentes (100, 200 y 400  $\mu\text{g/ml}$ ) y estudió la fragmentación del ADN a través de un análisis electroforético. Además, el análisis estadístico fue mediante un análisis de varianza unidireccional (ANOVA), una prueba de rango múltiple para determinar las diferencias entre los tratamientos ( $p < 0.05$  y  $p < 0.01$ ) utilizando el programa estadístico SAS. En los resultados las muestras de pescado tratadas con toxina cruda de *Microcystis aeruginosa* para diferentes dosis observaron fragmentación de ADN, sobre todo las expuestas a concentraciones de 200 y 400  $\mu\text{g/ml}$  cuando compararon con el control. Por otro lado, el patrón de fragmentación del ADN aumentó con el tratamiento con el tiempo, también indicaron que el extracto de toxina fue capaz de inducir apoptosis de manera dependiente de la dosis, ya que evaluó en todos los tratamientos. Con respecto a los órganos, el hígado y el riñón fueron los más afectados, mientras que las branquias fueron las menos afectadas, teniendo una variación significativa para  $p < 0.05$  y no significativa para  $p < 0.01$ . Concluyendo que, la toxina microcistina produce efectos tóxicos adversos sobre el *Oreochromis*

*niloticus* en formas dependientes del tiempo y de la dosis. Por lo tanto, la vigilancia y la evaluación de la salud deben ser introducidas por las autoridades en todas partes donde se pueda sospechar exposición de esta cianobacteria.

Al-Kahtani (2008) tuvo como objetivo investigar los efectos de la microcistina producidos por la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* en el metabolismo de la “tilapia” recolectado de Al-Khadoud, Arabia Saudita. La investigación fue realizada en la universidad King Faisal de Arabia Saudita y tuvo un diseño experimental y alcance explicativo. La población fue de 40 peces en acuarios de 90 L, siendo tres peceras, utilizando 120 peces para la investigación. Por otro lado, la cepa de *Microcystis aeruginosa* fue cultivada en medio ASM<sup>-1</sup>, pH = 8.0, temperatura de 23 ± 2 °C, 22 μ E m<sup>-2</sup> seg<sup>-1</sup> de intensidad luminosa y fotoperiodo de 12 h, posterior a ello, al final de la fase de crecimiento exponencial, las células fueron concentradas por centrifugación y mantenidas en congelación y los estudios fueron realizados con peces “tilapia” con un peso medio de 50.62 ± 10.0 g, estos fueron alimentados con comida comercial para peces y aclimatados durante 10 días antes del comienzo de los experimentos. Asimismo, la técnica de estudio utilizada consistió en aplicarle una dosis de 50 ug/g de Microcistina/pez/día por un periodo de 10 días y se separaban grupos de cinco peces al azar para ser sacrificados cada dos días, luego evaluaron con el KIT ELISA. Por consiguiente, los resultados obtenidos demostraron que la acumulación de microcistina en hígado y músculo de peces “tilapia” tuvo diferentes concentraciones, asumiendo que algunas disminuciones en la concentración de microcistina en los tejidos podrían estar asociadas a la excreción de microcistina a través de las heces, teniendo como concentración más alta en hígado 0.720 μg /g y en músculo 0.005 μg /g. Concluyó que, la disminución de la concentración de microcistina en los tejidos también puede estar asociada a la excreción de microcistina a través de las heces, muchos estudios anteriores han detectado microcistina en músculo de pescado verificando niveles en músculo que no serían recomendados para el consumo humano.

Atencio *et al.* (2008) en una investigación tuvo como objetivo determinar si Microcistina-LR (MC-LR) y Microcistina-RR(MC-RR) inducen diferentes alteraciones en enzimas como la

fosfatasa ácida (ACP) y la fosfatasa alcalina (ALP) en diferentes cambios histopatológicos. La investigación fue realizada en Berlín, Alemania. La población de estudio fueron 24 peces y la muestra de ocho peces por pecera, utilizó 3 peceras haciendo un total de 24 unidades experimentales. Para la muestra de los peces “tilapia” *Oreochromis* sp ha sido expuesto a una única inyección intraperitoneal de los patrones puros (MC-LR y MC-RR) a una dosis de 500 µg / kg en 0.5 ml de solución de NaCl al 0.9 % (p / v) utilizando una de las peceras como control con 0.5 ml de solución de NaCl al 0.9 % (p / v). Además, el instrumento utilizado fue cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) para hacer la medición de concentración de toxina y para el análisis estadístico de los pesos de los órganos y las actividades enzimáticas fueron a través de un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) representando la media ± error estándar (EE) de ocho animales por grupo, mientras que, las diferencias en los valores medios entre los grupos de animales fueron evaluados mediante la prueba de Tukey considerando  $p < 0.05$ . Como resultado, los peces presentaron daño en el hígado (esteatosis, microvesicular, núcleos picnóticos, megalocitos y necrosis), asumiendo que el aumento del peso del hígado en el pescado pudo haber sido causado por hinchazón hepatocelular en el riñón, ya que el aumento podría ser el resultado de la congestión y el edema del tejido intersticial. Además, el contenido de proteínas del hígado y riñón disminuyó significativamente en comparación con los peces de control, siendo los niveles de significancia observados para la actividad de fosfatasa en el hígado, riñón, y branquias de los peces a  $p < 0.05$  en comparación con los valores del grupo de control. Concluyendo que, MC-LR causó daños generales más graves en el hígado, mientras que el efecto de MC-RR fue más severo en el riñón.

Chellappa *et al.* (2008) realizaron una investigación que tuvieron como objetivo estudiar la eutrofización en los ecosistemas de agua dulce tropicales y la consiguiente formación de floraciones de cianobacterias y daños económicos a la pesca y efectos nocivos para la salud pública. La investigación fue llevada a cabo en el embalse Marechal Dutra, Acari, noreste de Brasil. Utilizaron las muestras de Seston para identificar y cuantificar la toxina en agua y el método de cromatografía líquida de alta eficacia (high performance liquid chromatography HPLC) estándar para cuantificar la toxina en el hígado de los peces muertos. El análisis estadístico fue análisis de varianza unidireccional (ANOVA) entre las variables físicas y

químicas ( $p < 0.05$ ), posteriormente midió la temperatura, pH, oxígeno disuelto y conductividad eléctrica del agua mediante un kit multiparámetro y analizaron los nutrientes inorgánicos como nitrato, fosfato y amoníaco considerando época húmeda y seca. Los resultados indicaron que las floraciones tóxicas de *Cylindrospermopsis raciborskii* y *Microcystis aeruginosa* persistieron durante dos semanas y representaron según el ANOVA el 90 % de los conjuntos de especies de fitoplancton. Los peces letalmente afectados fueron *Oreochromis niloticus*, *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840), *Cichla monoculus* (Spix & Agassiz, 1831), *Prochilodus brevis* (Steindachner, 1875), *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) y *Leporinus friderici* (Bloch, 1794). Los niveles de microcistina variaron de 0.07 a 8.73  $\mu\text{g/L}$  en las muestras de seston y de 0.01 a 2.59  $\mu\text{g/g}$  en las muestras de hígado de los peces durante el período de floración. La investigación concluyó que las prácticas de acuicultura, el uso inadecuado de alimentos para peces, la instalación de muchas jaulas para peces en las regiones poco profundas del embalse y la densidad de población inadecuada de peces en las jaulas conducen a la eutrofización de las aguas y la floración de fitoplancton dañina. Como consecuencia, las floraciones tóxicas provocan la muerte de peces, la contaminación del agua potable y efectos nocivos para la salud pública.

Prieto (2006) en su investigación evaluó las respuestas diferenciales de estrés oxidativo a microcistinas LR y RR en peces “tilapia” expuestos intraperitonealmente (*Oreochromis sp.*). La investigación se realizó en la Universidad de Sevilla, España. La población fue de 24 peces, distribuidos en tres peceras con ocho peces en cada una de las peceras de 96 L. Además, las técnicas que se utilizaron fue HPCL, los productos de la peroxidación lipídica se cuantificaron mediante el ácido tiobarbitúrico (TBA). Asimismo, los peces se inyectaron por vía intraperitoneal (i.p.) con una dosis única de 500 g / kg de MC-LR o 500 g / kg MC-RR y sacrificados después de 7 días. Posteriormente, todos los resultados se sometieron a un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y representan la media  $\pm$  S.E. de ocho animales por grupo, estas diferencias en los valores medios entre los grupos fueron evaluados por la prueba de Tukey y se consideraron estadísticamente diferente de  $p < 0.05$ . En los resultados el oxígeno disuelto tuvo valores entre 6.5 y 7.5 mg / L, pH  $7.6 \pm 0.2$ , conductividad 292 S / cm,  $\text{Ca}^{2+}$  0.60 mM / L y  $\text{Mg}^{2+}$  0.3 mM / L. Además, los resultados muestran que la exposición a las microcistinas induce

respuestas adaptativas como el aumento de las actividades enzimáticas antioxidantes, principalmente las de SOD y CAT, así como en los valores de peroxidación lipídica (LPO) hígado fue el más órgano afectado por MC-LR. Sin embargo, MC-RR no afectó este parámetro en el hígado de los peces expuestos. En comparación con el grupo control hay una diferencia significativa de  $p < 0.05$ . El autor concluyó que, MC-LR tiene mayor afección al hígado, riñón y branquias que el MC-RR, jugando un papel importante el estrés oxidativo.

Zhao, *et al.* (2006) en la investigación tuvieron como objetivo evaluar el efecto tóxico crónico de la ingesta dietética de cianobacterias sobre el crecimiento, la utilización del alimento y la acumulación de microcistinas en la “tilapia del Nilo” (*Oreochromis niloticus* L.). La investigación fue realizada en Hubei, China. Tuvo como población de estudio a 900 peces, y la muestra de 30 peces por cada pecera siendo 30 peceras en estudio. Las técnicas de estudio fueron a través de formulación de seis dietas isonitrogenadas e isocalóricas para incluir diferentes contenidos de cianobacterias, siendo la ingesta dietética por “tilapia” de 150 a 600  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal, aumentando de 0 a 5460.06  $\text{ng}/\text{g}$  de dieta, teniendo una prueba de crecimiento de 12 semanas en un sistema de flujo continuo para peso inicial (peso: 5.6 g), posterior a ello, realizó el análisis estadístico mediante el ANOVA. En los resultados, los parámetros físicos para el oxígeno disuelto tuvo valores menores a 5  $\text{mg}/\text{L}$ , nitrógeno amoniacal tuvo valores menores a 0.05  $\text{mg}/\text{L}$  y el pH se mantuvo en 7, en el análisis estadístico no hubo diferencias significativas en la mortalidad y la alimentación eficiente entre los peces alimentados con diferentes dietas ( $p > 0.05$ ). Además, observaron que las microcistinas fueron acumuladas principalmente en el hígado (10.76  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) y en el músculo (3.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) del pescado excediendo el límite superior de la ingesta diaria tolerable (TDI) de microcistinas sugeridas por la OMS (0.04  $\mu\text{g} / \text{kg}$  de peso corporal / día). Concluyeron que, la “tilapia del Nilo” alimentada con cianobacterias tóxicas es no apta para la alimentación humana.

Jos (2005) tuvo como objetivo investigar los efectos de la toxina microcistina LR en células de cianobacterias tóxicas. La investigación fue realizada en Sevilla, España bajo condiciones de laboratorio. El estudio tuvo un enfoque mixto, un diseño experimental y un alcance relacional.



La población de estudio fue 40 peces y la muestra estuvo constituida por ocho peces por cada pecera, siendo cinco peceras en total, realizó la exposición de toxinas de microcistina (MC-LR) por alimentación con células cianobacterianas de 60.0  $\mu\text{g}$  de MC-LR/pez/día por dos periodos de tiempo diferente (14 y 21 días) y dos tipos de administración de toxinas (aplastados y células de cianobacterias no trituradas), además, utilizó el instrumento de HPCL (cromatografía líquida de alto rendimiento) para cuantificar la toxina. Para el análisis estadístico en las diferencias entre los datos de los tipos de administración de células cianobacterianas durante 21 días fueron analizados mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA), utilizó la prueba t de student de dos colas no apareadas con un nivel significativo de  $p < 0.05$ . Los resultados mostraron que cuando los peces fueron expuestos a células cianobacterianas (60  $\mu\text{g}$  de MC-LR /pez/día) el sistema de defensa antioxidante fue alterado, el tiempo de exposición aumentó significativamente en la peroxidación lipídica en el hígado ( $p < 0.01$ ), riñón ( $p < 0.01$ ) y branquias ( $p < 0.05$ ) en peces sometidos a las cianobacterias trituradas (experimento 2). El hígado fue el órgano más afectado. Concluyó que el estrés oxidativo jugaba un papel importante en la toxicidad inducida por MC-LR en “tilapia”. Estos resultados junto con los informes de que los peces pueden acumular microcistinas significan que las floraciones de las cianobacterias son un problema sanitario y medioambiental.

Soares (2004) en la investigación tuvo como objetivo entender la acumulación y depuración de microcistinas en “tilapia” *rendalli* - *Coptodon rendalli* (Boulenger, 1897) en tres experimentos. La investigación fue realizada en Río de Janeiro, Brasil, bajo condiciones de laboratorio, tuvo población de estudio de 40 peces y la muestra estuvo constituida por ocho peces que fueron incluidas en cada pecera, siendo cinco peceras en total. Además, los experimentos simulaban la dieta de los peces durante una floración de *Microcystis aeruginosa* en tres situaciones diferentes, en el primero cada pez recibió diariamente, durante 15 días, alimento para peces más células tóxicas de *M. aeruginosa* (20.4  $\mu\text{g}$  MCYST /pez/día) en los siguientes 15 días se les alimentó sin células tóxicas. En el segundo experimento, los peces fueron alimentados solo con células tóxicas durante 28 días (14.6  $\mu\text{g}$  de MCYST/pez/día) y en el tercer experimento, durante 42 días, los peces fueron alimentados con alimento para peces más células tóxicas (29.2  $\mu\text{g}$  de MCYST/pez/día) previamente interrumpidas (para simular una floración senescente) fueron tres

dietas (20.4 µg; 14.6 µg y 29.2 µg de *Microcystis aeruginosa* (MCYSTs) diferentes durante 15 días. Para la cuantificación de la toxina utilizó el KIT ELISA y para el análisis estadístico se utilizó ANOVA, demostrándose que en los tres experimentos alcanzaron concentraciones ( $0.29 \pm 0.09$  y  $0.24 \pm 0.12 \mu\text{g} / \text{kg}$ ) que representa una ingesta de estas toxinas por encima del límite tolerable para los humanos. Los resultados de la investigación evidencian que, la mayor concentración de microcistina en el hígado fue de 2.8 µg/g, donde sólo tenían células tóxicas como fuente de alimentación, en el músculo observó la mayor concentración en el periodo de depuración 0.6 µg/g, en este periodo observaron la eliminación de toxina a través de las heces (0.07 µg/g). Concluyó que, la especie “tilapia rendalli” fue capaz de acumular MCYST teniendo diferencia significativa entre los tratamiento  $p < 0.05$ , se pudo estimar que el pescado excretó en el período de depuración aproximadamente 0.06% de la cantidad total estimada de MCYST ingeridos en el período de acumulación. Por lo tanto, la aparición de proliferación de cianobacterias tóxicas en estanques de acuicultura podría representar un riesgo para la calidad del pescado y para los consumidores.

## **1.2. Bases teóricas especializadas**

### **1.2.1. Cianobacterias**

Las cianobacterias, también llamadas cianofíceas, cianoprocariontes o algas verdes azul, son un grupo de organismos fotosintéticos procariontes que se encuentran presentes en la Tierra desde hace más de 3.5 millones de años. Estos organismos incluyen 150 géneros y más de 2 000 especies aproximadamente, presentando una amplia diversidad morfológica, debido a que pueden ser coloniales, unicelulares o filamentosas (Asencio, 2015).

Las aguas superficiales de todo el planeta están sufriendo un deterioro progresivo, siendo una de las causas la eutrofización, que ocurre por el incremento de nutrientes como fosfatos y nitrógeno, propiciando a la proliferación incontrolada de cianobacterias, sin embargo, las cianofíceas tienen ventajas frente a otros organismos ya que mantienen su tasa de crecimiento, regulan su flotabilidad por medio de las vesículas de gas, producen compuestos volátiles que

genera sabor y olor desagradable a las aguas y sintetizan metabolitos secundarios con propiedades tóxicas que producen efectos agudos y crónicos para los organismos que los rodean como bacterias, plantas, animales y humanos (Briand *et al.*, 2003).

Pardo (2017) indica que los factores que influyen para el desarrollo de las cianobacterias son las condiciones de luz-energía, capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico, temperatura (20-25 °C), pH (6 – 9), precipitación baja, agua estancada, poco viento y baja tasa de filtración por el zooplancton.

Las bacterias y los protozoos en el agua pueden producir toxinas que pueden producir enfermedades incluso la muerte. Las toxinas producidas en lagos, ríos y embalses por las cianobacterias incluyen a las *Anabaena*, *Mycrocistis* y *Nodularia*, las cuales son las principales en haber generado efectos adversos en la salud de las personas en el mundo (Stanley, 2007). Además, las cianobacterias pueden generar otros metabolitos como el 2-metilisoborneol (MIB) y la geosmina que generan olores y sabores desagradables al agua, siendo perjudiciales para el ambiente acuático (Herrera *et al.*, 2015).

### **Factores de crecimiento para las cianobacterias**

#### 1) Disponibilidad de Luz

Es el factor que limita los cultivos foto autótrofo de las cianobacterias. Pueden ser administrados al medio de cultivo todos los nutrientes inorgánicos incluyendo el CO<sub>2</sub>, para que no limiten el crecimiento. Sin embargo, la luz debe ser suministrado de manera continua, ya que la energía radiante no es acumulable, estas especies en condiciones de laboratorio de manera controlada desarrollan mejor cuando se le suministra un periodo de luz/oscuridad diario (Chico, 2010).

## 2) Salinidad

Es uno de los factores que tiene influencia alta para el desarrollo de las microalgas y en la producción de lípidos para la generación de biodiesel u otros derivados (Carvajal, 2011). La tasa de crecimiento es significativamente inferior a alta salinidad que, a baja salinidad, indicando que la salinidad cuando presenta valores extremos no favorece el desarrollo de afloramiento, por lo tanto tampoco aumenta la concentración de cianotoxinas (Brennan, 2010).

## 3) pH

Gran parte de las especies que realizan el equilibrio químico del dióxido de carbono están influenciadas por el pH del medio acuático, influyendo en la alcalinidad del lugar, así como en la forma química en que se encuentran algunos nutrientes y micronutrientes (Martínez, 2018).

## 4) Oxígeno

La concentración elevada de oxígeno disuelto puede impedir la fijación de carbono que realiza la enzima RUBISCO, es por ello que es un parámetro que se debe controlar en el cultivo de microalgas. La inhibición se ve favorecida por un déficit de CO<sub>2</sub> y por altas temperaturas (Crettaz, 2018).

## 5) Temperatura

Una de las especies dominantes en varios de los ecosistemas acuáticos son las cianobacterias debido a su tolerancia en un amplio rango de temperatura, los valores de temperatura para generar una tasa máxima de crecimiento se encuentran entre los rangos de 25 y 30 °C, cuando se tiene valores por encima del rango de temperatura óptima genera una disminución abrupta de la tasa de crecimiento (Martínez, 2018).

## 6) Disponibilidad de nutrientes

Se requiere alrededor de 20 elementos químicos para la formación de nueva biomasa de algas eucariotas y cianobacterias, algunos de ellos estrictamente necesarios (H, C, O y N) y otros en proporciones pequeñas (P, S, K, Na, Ca, Mg y Cl). Teniendo como elementos limitantes del crecimiento del fitoplancton al N, P, Fe (Carvajal, 2011).

### **Tipos de cianobacterias**

A nivel taxonómico presenta tres órdenes que cuenta la gran diversidad morfológica y fisiológica.

- Chroococcales, cianobacterias con formas unicelulares y coloniales envueltas en una capa mucilaginosa; no tiene heterocistos, por lo que son incapaces de fijar nitrógeno o solo pueden fijar nitrógeno en la noche, su reproducción es por fisión binaria o múltiple, beocitos o exosporas; la división celular es en uno, dos, tres o más planos según el género de la especie. Presenta tres géneros *Coelosphaerium*, *Microcystis* y *Woronichinia* (Parra y Almanza, 2010).
- Oscillatoriales, son cianobacterias con filamentos que no tienen células diferentes, filamentos uniseriados y sin ramificación; carentes de heterocistos y acinetos. Presenta cinco géneros *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis* y *Raphidiopsis* (Vidal y Pérez, 2009)
- Nostocales, son cianobacterias filamentosas con células diferenciadas, uniseriado o multiseriado. Los heterocistos pertenecen a las células diferenciadas, les permite fijar nitrógeno atmosférico y acinetos, células resistentes, más grandes que las vegetativas y son formados en condiciones no favorables. Presenta dos géneros *Limnothrix* y *Planktothrix* (Chico, 2010).

## **Descripción de Géneros del orden *Chroococcales***

### **Género *Coelosphaerium***

Cianobacterias unicelulares, con células agrupadas en colonias mucilaginosas de forma esférica u ovoide, en ocasiones compuestas por subcolonias. El mucílago es incoloro y homogéneo, difícilmente distinguible al microscopio. Presenta células esféricas, generalmente sin vesículas de gas salvo en las especies *C. dubium* y *C. natans*. Las células se organizan de forma irregular, con tendencia a formar una capa más densa en la periferia de la colonia. La división celular se produce en dos planos perpendiculares entre sí y a la superficie de la colonia. La reproducción se produce mediante desintegración de la colonia y liberación de subcolonias (Gómez y Quesada, 2011).

### **Género *Woronichinia***

Colonias microscópicas más o menos esféricas, habitualmente compuestas por sub-colonias. Las colonias de su especie tipo, *Woronichinia naegeliana*, presentan una forma arriñonada característica. Las colonias están envueltas por un mucílago fino, que forma pedúnculos en el centro de la colonia (Aguilera y Echenique, 2018)

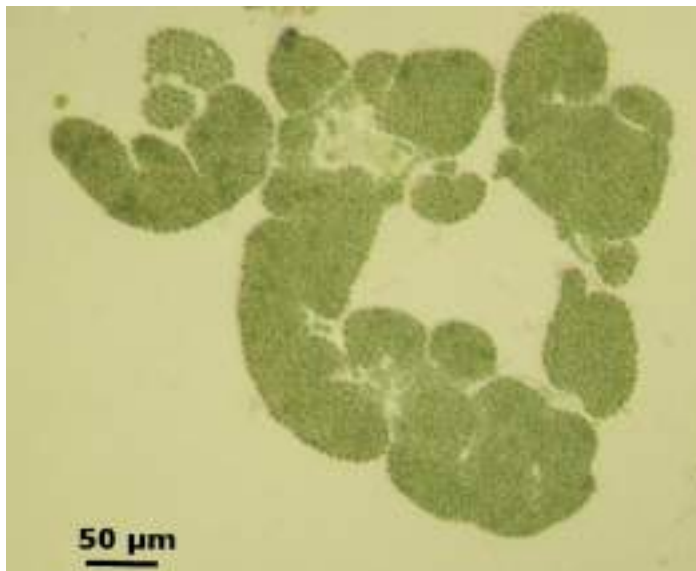
Las células tienen formas desde sub-esféricas ligeramente elongadas a ovaladas u ovoides. La división celular se produce en dos planos perpendiculares entre sí y a la superficie de la colonia. En las colonias maduras, las células se agrupan formando una densa capa en la periferia de la colonia (Gómez y Quesada, 2011).

### **Género *Microcystis***

El género *Microcystis* son colonias con formas esféricas e irregulares, microscópicas y macroscópicas, flotantes, tienen un mucílago común, un poco homogéneo y fino. Presenta una división celular en tres planos perpendiculares entre sí, lo que proporciona a la colonia una marcada tridimensional (Gómez y Quesada, 2011).

- **Especie *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing 1846**

En la Figura 1 y Tabla 1 se presenta a la cianobacteria *Microcystis aeruginosa*, vive en agua dulce y tiene capacidad de formar floraciones algales nocivas de importancia económica y ecológica, ya que producen neurotoxinas y hepatotoxinas peptídicas, como microcistina y cianopeptolina. Estas cianobacterias se caracterizan por tener células pequeñas que carecen de vainas individuales, por lo general se organizan en colonias que comienzan en forma esférica, pero pierden su coherencia y se forman irregularmente con el tiempo, sus vesículas proporcionan la flotabilidad necesaria para que permanezcan a un nivel dentro de la columna de agua y obtener niveles óptimos de luz y dióxido de carbono para un crecimiento rápido (Oberholster *et al.*, 2014).



*Figura 1. Microcystis aeruginosa Kützing. Fuente: Algae Base (2018).*

## Tabla 1

### Clasificación Taxonómica de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa*

---

Taxonomía de <i>Microcystis Aeruginosa</i>	
Imperio:	Prokaryota
Reino:	Eubacteria
Subreino:	Negibacteria
Filo:	Cyanobacteria
Clase:	Cyanophyceae
Subclase:	Oscillatoriophyceae
Orden:	Chroococcales
Familia:	Microcystaceae

---

*Fuente:* Algae Base (2018).

García (2005) agrega que los ecosistemas eutróficos han demostrado un número creciente de blooms de cianobacterias tóxicas, así como la *Microcystis aeruginosa*. La morfología, la composición química y la toxicidad de las cianobacterias interfieren de manera negativa con la alimentación, nutrición, supervivencia, reproducción y crecimiento de las especies de cladóceros, por ello se han realizado estudios sobre los efectos agudos de *Microcystis aeruginosa* en poblaciones aisladas de lagos a exposición de abundantes cianobacterias.

Chen *et al* (2010) mencionan que *M. aeruginosa* podría sobrevivir y crecer en un amplio rango de temperatura de 15 a 40 °C con el óptimo de 25 a 30 °C; más allá de los 45 °C dejó de crecer y murió gradualmente. El pH varió de 6.5 a 9.5 favoreciendo el crecimiento y el óptimo fue de 8.0 a 9.0. Además, Huang y chen (2013) recomiendan que uno de los parámetros más importantes para el crecimiento de las cianobacterias es el oxígeno disuelto, este parámetro varía ya que la fotosíntesis de la *Microcystis aeruginosa* produce oxígeno, la respiración consume



oxígeno y la muerte descompone oxígeno. Indicando que según la cantidad algal que haya en el cuerpo de agua va a variar la cantidad de oxígeno disuelto.

Por otro lado, Wu *et al* (2011) en su investigación afirman que la comida para peces puede estimular significativamente el crecimiento de las algas. La densidad de las células de las algas aumentó drásticamente con el estrecho rango de dosis de alimento para peces de 0–0.2 g. Además, la liberación inicial de nutrientes de la comida para peces crea ambientes adversos como baja disponibilidad de oxígeno y pH reducido.

### **Toxinas producidas por cianobacterias**

Las cianobacterias son productoras de una alta variedad de metabolitos secundarios, algunos de ellos generan toxicidad en animales humanos, denominados cianotoxinas. Se cuenta con muchos registros de casos de toxicidad y mortandad de animales como efecto de estas toxinas en el ganado vacuno. Ciertos científicos como Fialkowsak y Pajdak-Stos (2002), Cantoral *et al* (2017) y Lucena (2008) tienen evidencias que las cianotoxinas pueden estar asociadas como un mecanismo de defensa contra los depredadores para impedir que compitan las algas del fitoplancton o plantas, sin embargo, algunos autores proponen que las toxinas no tienen función específica conocida (Briand *et al.*, 2003).

Muchas de las cianotoxinas se encuentran en la parte interna de la célula, son liberadas al medio por lisis o ruptura celular, esto ocurre en el proceso de senescencia natural o por consecuencia de algún factor ambiental (Chorus y Bartram, 2001). Por ejemplo, los eventos de floración cianobacteriana duran pocos días, pero en la etapa final del afloramiento, cuando las células empiezan a desaparecer, se puede cuantificar valores máximos de cianotoxinas que están disueltos en el medio acuático. Por tal razón, algunos métodos para remover cianobacterias que propongan la muerte celular pueden ser adversos porque favorecerían a que las toxinas se liberen en el medio acuático (Prieto *et al.* 2008)

Las cianotoxinas cuando han sido liberadas al medio acuático tienen una persistencia variable, pueden ser algunos días o incluso meses, luego de ser eliminadas por medio de fotólisis o biodegradadas por bacterias. Las microcistinas pueden tener una destrucción fotoquímica de hasta el 40 % en un día en condiciones de alta radiación solar, ya que se acelera la degradación por la presencia de pigmentos de la célula que son solubles en agua y de ácidos húmicos (Chorus y Bartram, 2001).

### **Tipos de cianotoxinas, modos de acción y efectos**

Las cianobacterias generan un grupo diverso de sustancias naturales, denominados cianotoxinas, debido a que provienen de medios acuáticos, la mayor parte de las toxinas producen más daño a los animales terrestres que a los animales acuáticos (Briand *et al.*, 2003), ya que los animales de medio acuático suelen presentar adaptaciones permitiéndoles sobrevivir en presencia de las toxinas, sin embargo, se convierten en especies bioacumuladoras de las toxinas.

Las cianotoxinas se clasifican en función de los efectos tóxicos que producen (Tabla 2) (ver Apéndice 3)

- **Dermatotoxinas:** aplisiatoxinas, lipopolisacáridos, lyngbyatoxina-a,
- **Neurotoxinas:** -a, anatoxina-a(s), saxitoxinas, anatoxina-a, homoanatoxina
- **Hepatotoxinas:** nodularina, microcistinas, cilindrospermopsina.

### **Tabla 2**

*Grupo de toxinas de cianobacterias, principales productores, principales efectos tóxicos y biotransformación*

<b>Grupo de toxinas</b>	<b>Agente Productor (género)</b>	<b>Mecanismos y Efectos</b>	<b>Biotransformación</b>
Anatoxinas	<i>Anabaena</i>	Inhibición de la actividad acetilcolinesterasa	Citocromo P-450 Glutación-S-Transferasa (GST)

Anatoxin-a(s)	<i>Anabaena</i>	Unión irreversible a los receptores nicotínicos de acetilcolina	Citocromo P-450 GST
	<i>Aphanizomenon</i>		
	<i>Cylindrospermopsis</i>		
	<i>Planktothrix</i>		
	<i>Oscillatoria</i>		
Cilindrospermopsinas	<i>Microcystis</i>	Inhibición síntesis de proteínas Daño citogenético en el ADN	Citocromo P-450
	<i>Cylindrospermopsis</i>		
	<i>Aphanizomenon</i>		
	<i>Umezakia</i>		
	<i>Raphidiopsis</i>		
Lipopolisacáridos	<i>Anabaena</i>	Irritante potencial, afectando a los tejidos expuestos	Vía alternativa de desacetilación lisosomal
	<i>Lyngbya</i>		
	<i>Anabaena</i>		
	<i>Anacystis</i>		
	<i>Microcystis</i>		
Microcistinas	<i>Nodularia</i>	Inhibición de las fosfatasa de proteínas (PP1 y PP2A) Estrés oxidativo	GST
	<i>Microcystis</i>		
	<i>Anabaena</i>		
	<i>Planktothrix</i>		
	<i>Nostoc</i>		
Nodularinas	<i>Anabaenopsis</i>	Inhibición de las fosfatasa de proteínas (PP1 y PP2A)	GST
	<i>Hapalosiphon</i>		
Saxitoxinas	<i>Nodularia</i>	Unión y bloqueo de canales de sodio en células nerviosas	GST
	Dinoflagelados ( <i>Protogonyaulax</i> , <i>Alexandrium</i> ,		
	<i>Gymnodinium</i> , <i>Pyrodinium</i> )		
	Cianobacterias ( <i>Aphanizomenon</i> , <i>Anabaena</i> ,		
	<i>Lyngbya</i> , <i>Cylindrospermopsis</i> )		

Fuente: Prieto (2006).

Según los mecanismos y efectos (Tabla 2), las microcistinas actúan mediante la inhibición de las proteinfosfatasas 1 y 2A (PP1 Y PP2A), ya que el residuo de la cisteína 273 de la subunidad catalítica PP1 se une covalentemente al grupo carbonilo de Mdha de la microcistina, al introducir el Adda en la parte hidrofóbica del sitio catalítico de la enzima es la que la vuelve inactiva. Además, pueden generar especies reactivas de oxígeno (ERO'S) y por ello generar estrés oxidativo (Arzate, 2008).

Cameán (2006) al aislar y caracterizar diversas toxinas producidas por cianobacterias cuyos efectos tóxicos principales son: neurotóxicos, hepatotóxico y dermatotóxicos, demuestra que las hepatotoxinas que afectan principalmente al hígado, actúan a través de la inhibición de proteínas fosfatadas, estrés oxidativo y ácido araquidónico.

### **Microcistina**

Carvajal (2011) menciona que, la producción de microcistina está dada por una variedad de especies de cianobacterias planctónicas, como el género *Microcystis* que incluye a *Microcystis ichthyoblabe*, *Microcystis viridis*, *Microcystis aeruginosa* y *Microcystis botrys*, por otro lado el género *Planktothrix* que incluye a *Planktothrix Mougeotii*, *Planktothrix argardhii* y *Planktothrix rubescens*, además del género *Anabaena* como *Anabaena circinalis*, *Anabaena flos-aquae*, , *Anabaena lemmermannii* y otros como *Snowella lacustris* y *Nostoc sp.* Sin embargo, las más estudiadas y frecuentes son las especies *Microcystis aeruginosa* y *Planktothrix*

La toxina microcistina proviene de familias de más de 80 heptapéptidos cíclicos, actúa generando un colapso en toda la estructura tisular hepática, hemorragia intrahepática y necrosis. Para el caso de la microcistina LR (MCLR) a concentraciones de 10 µM generan daños en el proceso celular de las células HaCaT (queratinocitos humanos), obteniendo un potencial queratinotóxica (Carvajal, 2011).

Las microcistinas son péptidos monocíclicos pequeños muy estables, de siete aminoácidos, unidos por enlaces peptídicos con estructura general, Ciclo (-D-Ala1-L-X2-D-MeAsp3-L-Z4-Adda5-D-Glu6-Mdha7) (Figura 2); donde X e Y representan posiciones ocupadas por L-aminoácidos variables; con un peso molecular de aproximadamente 1 000 Da, el cual varía según su estructura. Además, contienen dos D-aminoácidos convencionales en las posiciones uno y seis; ácido Deritro-β-metilaspártico en posición tres y en posición siete usualmente Nmetildehidroalanina. El β-aminoácido Adda (ácido 3-amino-9-metoxi-2, 6,8- trimetil-10-fenildeca-4,6-dienoico), único y característico de las MCs y NODs, está asociado a la toxicidad in vivo de la molécula (Figura 2) (Pírez, 2019)

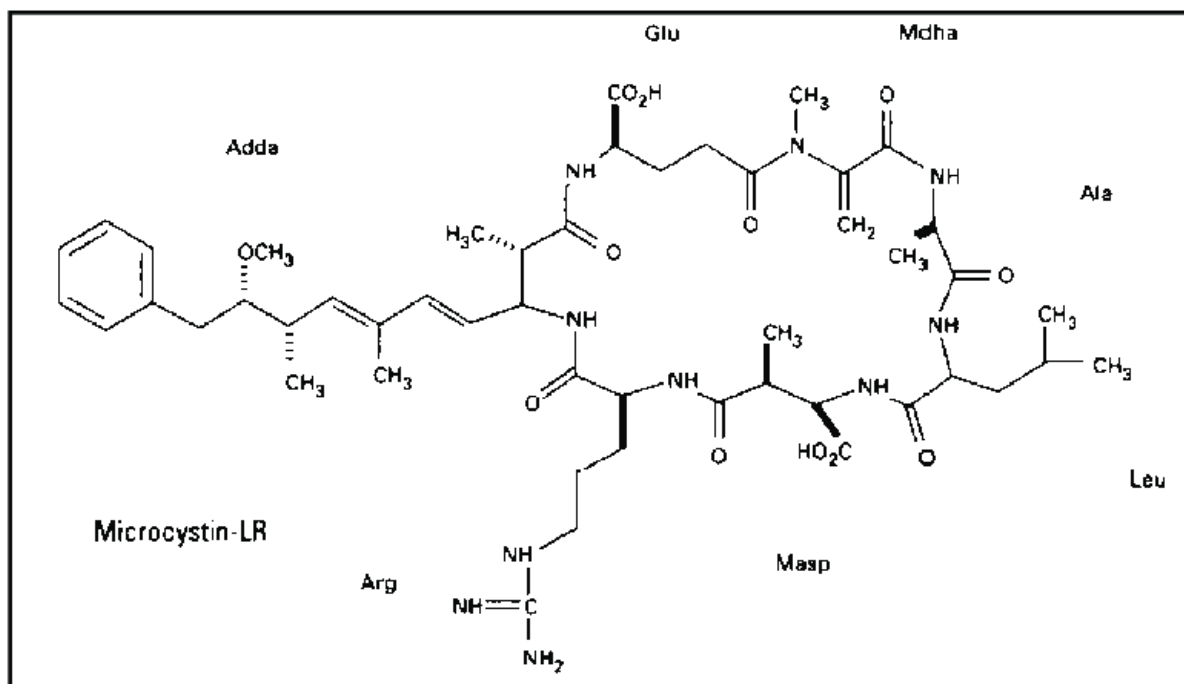


Figura 2. Estructura general de las microcistinas. Fuente: Pírez (2019).

### Implicancias eco toxicológicas de la toxina

Los efectos de intoxicación aguda en presencia de la toxina microcistinas se basa por generar un alto daño al hígado, generando alteraciones del citoesqueleto, apoptosis y amplias necrosis de hepatocitos, que generan sangrado intrahepático y posterior a ella, la muerte debido a congestión en el hígado y choque hipovolémico (Carvajal, 2011). Además, Tencalla (1994)

encontró en su investigación que la microcistina genera daño hepático masivo con 550 µg/kg de la toxina, ya que para una trucha de 60 g esto equivale a ingerir 0.1 a 0.4 g de peso húmedo de algas siendo propensos a intoxicaciones agudas.

Botana (2014) indica que los síntomas por intoxicación de microcistina en las personas son diarrea, vómito, piroercción y debilidad, generando daños al hígado, necrosis al citoesqueleto y cambios en la sangre, como consecuencia de todo el peso del hígado puede aumentar hasta el 100 % de su tamaño real.

Prieto *et al.* (2008) mencionan que las microcistinas son la causa de haber originado intoxicaciones letales en animales y en humanos (ver Apéndice 4), están consideradas como un problema ecotoxicológico, ambiental y principalmente sanitario, destacando su posible actividad carcinógena. En ese sentido, la OMS ha establecido una ingesta diaria tolerable (IDT) provisional de 0,04 µg/kg/día equivalente de microcistina, en relación con este valor guía se considera que por consumo de alimentos puede haber exposición a microcistina del 20 % por bioacumulación en algunos tejidos de plantas, moluscos y pescados, ya que las cianobacterias están consideradas en la dieta de muchos peces cíclidos tropicales y ciprínidos.

Según Repetto (2012), los humanos están expuestos a las microcistinas mediante el consumo de músculo de animales (ganado, peces y moluscos) que hayan estado en contacto con aguas con presencia de cianobacterias. Además, señala que las microcistinas se pueden bioacumular en músculos y diversos órganos de los peces.

### **1.2.2. “Tilapia”**

Las “tilapias” son peces endémicos originarios de África y el Cercano Oriente, es uno de los peces más utilizados para realizar acuicultura contribuyen productivamente al 35 % del total de

peces. La especie *Oreochromis niloticus* contribuye al 80 % de productividad, seguido de *Oreochromis mossambicus* con el 5 % (Rosales, 2009). Se clasifican en:

*Oreochromis aureus* “Tilapia azul” (Steindachner, 1864)

Es una especie planctívora, originaria de Camerún, Egipto, Israel, Jordania, entre otras zonas tropicales y subtropicales de África y el Oriente Medio. Se hizo una especie popular para el consumo por lo que se ha introducido en diferentes partes del mundo debido a que es de crecimiento rápido y tolerantes a variación de parámetros físicos y químicos, temperatura entre 28 y 36 °C, pH entre 7.5 y 9 y aguas con concentraciones de oxígeno entre 5 a 8 mg/L lo que permite que se puedan manejar los parámetros de cultivo (Zafra *et al.*, 2019).

*Oreochromis mossambicus* “Tilapia del Mozambique” (Peters, 1852)

La “tilapia de Mozambique” crece en agua que varía de ácida (pH de 5) a alcalina (pH de 9). La “tilapia de Mozambique” es también la que más tolera ambientes salinos, a diferencia de otras “tilapias” utilizadas para cultivo, se pueden aclimatar fácilmente al agua de mar sin diluir. Sin embargo, la viabilidad de los huevos y los alevines se reduce en gran medida en el agua marina. Además, la “tilapia” puede sobrevivir a niveles bajos de oxígeno disuelto <2 mg/L) y altos niveles de amoníaco (50 mg/L) durante períodos más largos que la mayoría de los otros peces (Cabi, 2019).

*Oreochromis niloticus* “Tilapia del Nilo” (Linnaeus, 1758)

La “tilapia” (Tabla 3) habita en aguas someras debido a que es una especie tropical, el rango de temperatura letal para la especie son menor a 11-12 °C y mayor a 42 °C, mientras que, el rango ideal es de 31-36 °C. Esta especie consume plantas acuáticas, fitoplancton, perifiton, fauna béntica, pequeños invertebrados, desechos y capas bacterianas (detritus). Tiene un periodo de incubación de 1 – 2 semanas, tiene que considerarse la temperatura cuando se liberan los alevines. Además, la especie genera una cantidad de huevos en proporción a cuánto pesa la hembra, por ejemplo, si la hembra pesa 100 g desovarará alrededor de 100 huevos, mientras que,

una hembra que pesa 600 g y 1 000 g puede generar entre 1 000 y 15 000 huevos (Organización de las naciones unidas para la agricultura y alimentación [FAO], 2018).

### Tabla 3

#### Clasificación taxonómica de *Oreochromis niloticus*

Taxonomía de <i>Oreochromis niloticus</i>	
Reino:	Animalia
Filo:	Chordata
Clase:	Aptinopterygii
Subclase:	Neopterygii
Infra clase:	Teleostei
Superorden:	Acanthopterygii
Orden:	Perciformes
Familia:	Cichlidae
Género:	<i>Oreochromis</i>
Especie:	<i>O. niloticus</i> (L,1758)

Fuente: Cabrera (2019).

#### Características morfológicas de las “tilapias”

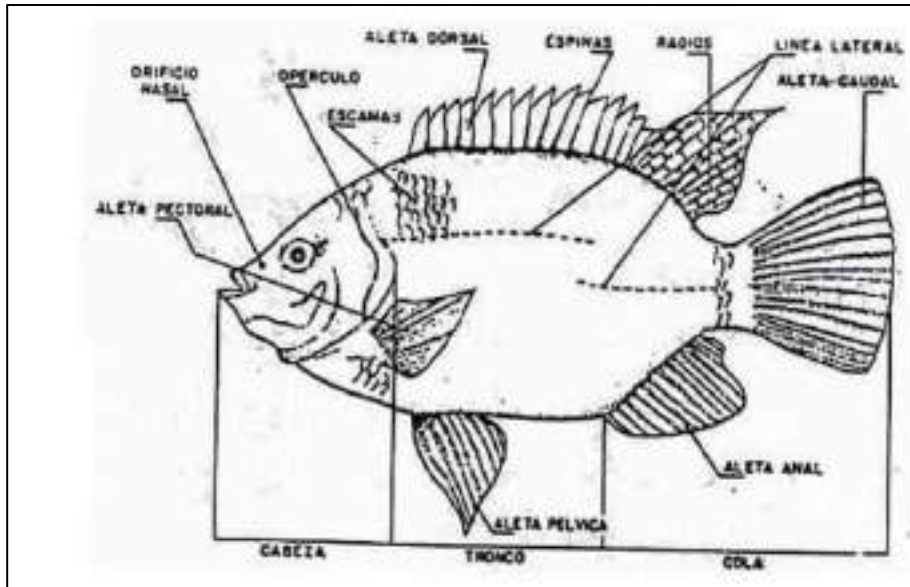
En la Figura 3 se puede observar la morfología externa de la “tilapia” que tiene un solo orificio nasal a cada lado de la cabeza, ya que sirve como entrada y salida de la cavidad nasal.

Saavedra (2006, p.5) refieren:

El cuerpo de la “tilapia” es generalmente comprimido y discoidal, raramente alargado, la boca es protráctil, generalmente ancha, para su locomoción poseen aletas pares e impares, las aletas pares las constituyen las pectorales y las ventrales; las impares están constituidas por las aletas



dorsales, la caudal y la anal. La parte anterior de la aleta dorsal y anal es corta, consta de varias espinas y la parte terminal de radios suaves, disponiendo sus aletas dorsales en forma de cresta. La aleta caudal es redonda, trunca y raramente cortada, como en todos los peces, esta aleta le sirve para mantener el equilibrio del cuerpo durante la natación y al lanzarse en el agua.



*Figura 3. Morfología externa de la “tilapia”. Fuente: Rosales (2009).*

La morfología interna de la “tilapia” se presenta en la Figura 4 detallando cada una de sus partes.

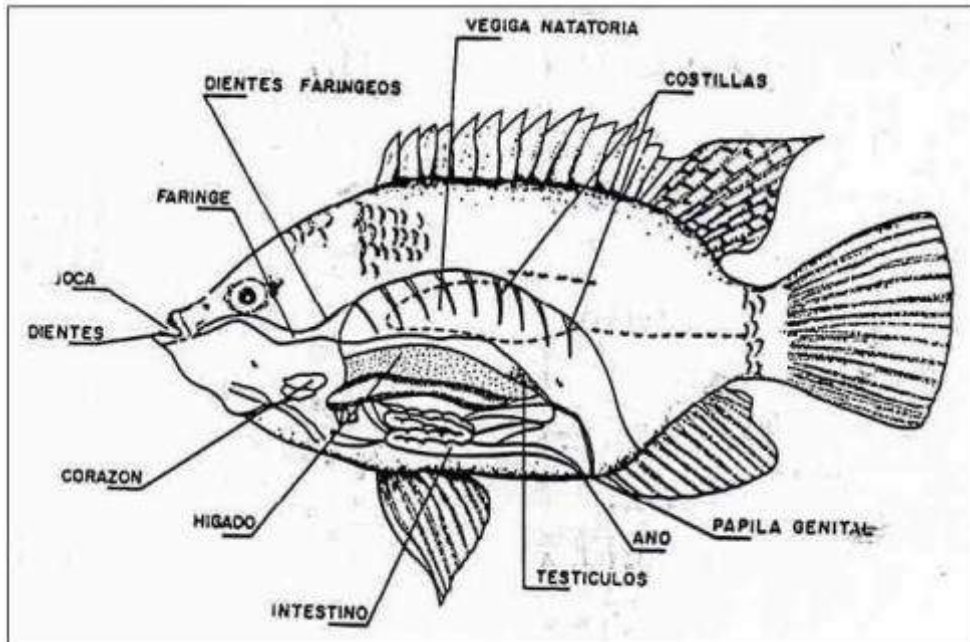


Figura 4. Morfología interna de la “tilapia”. Fuente: Rosales (2009).

Luchini (2006) explica que las “tilapias” *Oreochromis niloticus*, destacan por su crecimiento rápido, reproducción más tardía y posibilidad de originar una elevada generación de alevinos a diferencia de otros peces. Para hacer una buena crianza se debe tener en cuenta factores como calidad de agua de cultivo, rango térmico, oxígeno disuelto, pH, entre otros parámetros (Tabla 4).

**Tabla 4**

*Requerimientos medioambientales para la crianza de “tilapia”*

Requerimiento	Característica
Calidad de agua de cultivo	Es una especie con altos límites tolerables, puede vivir en ambientes ácidos y alcalinos, aguas salobres y saladas, además tolera ambientes con presencia de amoníaco
Rango térmico	Tiene un rango óptimo entre 27 °C y 32 °C, cuando está por debajo o encima del rango óptimo el apetito y crecimiento del pez disminuye. En temperaturas de 8 – 10°C son letales para los peces.

Oxígeno disuelto	Tolera rangos bajos de oxígeno disuelto, el rango oscila entre 4 -8.5 mg/l. Se menciona que el aumento de concentración de oxígeno disuelto en el agua mejora el crecimiento y conversión de “tilapia”
pH	La especie sobrevive en aguas de bajo, sin embargo, el rango aceptable oscila entre 6.5 – 8.5. En aguas de pH 3 se ha constatado la muerte total sobreviviendo entre 1 y 3 días
Turbidez	Según la lectura de Disco Secchi se debe mantener 30 cm de visibilidad
Luminosidad	Es importante tener radiación solar ya que influye en el proceso de fotosíntesis, originando la producción primaria (cantidad de plantas verdes en un periodo de tiempo)
Altitud	850 – 20 000 m.s.n.m
Nitritos y nitratos	0.1 mg/L y 1.5 – 2.0 mg/L respectivamente

---

*Fuente:* (Saavedra, 2006) y (Luchini, 2006)

Bautista (2011) resalta los factores a tenerse en cuenta para realizar crianza de “tilapia” y cumplir con sus exigencias necesarias como son turbiedad, color, olor y sabor, temperatura, amonio, nitratos y nitritos; agregando que es importante considerar la calidad del agua en la que se cultivan a estas especies ya que los problemas de contaminación actuales, ante un exceso de nutrientes podría generar eutrofización de cianobacterias toxicas que pueden afectar a los organismos con alteraciones genéticas, siendo susceptibles a enfermedades y bioconcentración de plaguicidas y metales pesados.

### **Efectos tóxicos de la microcistina en “tilapia” *Oreochromis niloticus***

Las microcistinas afectan a la subunidad- $\beta$  de la ATP sintasa resulta ser diana de unión de la MC-LR lo que causa apoptosis mitocondrial a altas concentraciones. Junto a estos mecanismos, el estrés oxidativo juega un papel muy significativo en la patogenicidad de estas toxinas,

detectándose un aumento en la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) y de la peroxidación lipídica (LPO) en diferentes órganos, así como cambios en la actividad de diversas enzimas antioxidantes, tales como Superóxido dismutasa (SOD), Catalasa (CAT) Glutación peroxidasa (GSH-Px), Glutación reductasa (GR). Se ha demostrado asimismo la alteración de los niveles de Glutación reducido (GSH) en roedores y peces por acción de las MC. Prieto *et al.* (2008) indica que la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) para peces es mayor en comparación con mamíferos roedores, esto se debe a que los efectos en peces no sólo son hepatotóxicas, sino que pueden afectar a más de un órgano, pueden constituir parte de la dieta de algunas especies de peces como ciclídeos y ciprínidos tropicales, causando inhibición de las fosfatasa de proteína tipo 1 y 2A, lo que causa un aumento en la fosforilación de las proteínas celulares que activa la cascada, desencadenando el proceso de apoptosis con el consecuente daño celular. Paván *et al.* (2011) reveló en su investigación que a concentraciones más bajas de microcistina se producía más apoptosis que necrosis y a concentraciones más altas se produjo más necrosis que apoptosis en los peces *Oreochromis niloticus*.

En estudios de *Oreochromis niloticus* a nivel de laboratorio, administradas por vía intraperitoneal con niveles puros de MC-LR y MC-RR se observó que las lesiones histopatológicas son cualitativamente similares para ambos congéneres, sin embargo, predomina los daños hepáticos para las MC-LR y los renales cuando se administra MC-RR. Para las *Oreochromis niloticus* bajo exposiciones subcrónicas de MC-LR provenientes de floraciones naturales de cianobacterias administradas junto con la comida racional del pez, simulando la vía natural de exposición, produjeron alteraciones histopatológicas en hígado, riñón, y en menor medida en branquias y en células de la mucosa intestinal (Molina, 2005). En branquias observaron hiperemia generalizada y en intestino hiperplasia y células picnóticas (Atencio *et al.*, 2008).

Maridueña (2011) al estudiar las muertes masivas de peces según los parámetros ambientales, biológicos, identificación de especies y la histopatología de peces, verifica que se presentan muertes masivas debido a la presencia de microcistinas a altas concentraciones.

Sánchez *et al.* (2018) indica que la “tilapia” (*Oreochromis niloticus*), es una especie cosmopolita que ha sido reportada en ecosistemas muy eutrofizados con presencia de cianobacterias que contaminan y presentan riesgos para su salud y de los seres que lo consumen. Maridueña (2011) y Sánchez *et al.* (2018) investigaron las muertes masivas de peces analizando parámetros ambientales, biológicos, identificación de especies y su histopatología, concluyendo que se presentan muertes masivas de peces debido a la presencia de microcistinas en altas concentraciones, generando alto riesgo para la población acuática. Además, Malbrouck y Kestemont (2005) mencionan que, en la etapa más joven de los peces, es decir los alevines son más sensibles a compuesto tóxicos en comparación con los jóvenes y adultos, esto es probable a su delgada capa epitelial, superficie corporal grande y a las perturbaciones en su desarrollo que originan la muerte.

Las Microcistinas son absorbidos por los peces mediante los opérculos branquiales o por el tejido intestinal, produciendo que las toxinas se transporten rápido mediante el flujo sanguíneo repartiéndose a los distintos órganos o tejidos; es por ello que se encuentra en los órganos más irrigados como el hígado, riñón, intestino y opérculos una mayor distribución de microcistina (Prieto *et al.* 2008).

### **1.2.3. Humedal de Medio Mundo**

El área de conservación regional (ACR) albuferas de medio mundo, se ubica en el distrito de Vegueta, provincia de Huaura, departamento de Lima, Perú. A una altura de 12 m.s.n.m. y en el kilómetro 177 de la Panamericana Norte. Tiene un área de 687.71 ha, siendo 206.10 ha cuerpo de agua y 66.50 ha pantano. Sus medidas son de 5.775 km de largo y de 165 a 525 m de ancho (Gobierno regional de Lima [GORE-LIMA], 2014).

Mediante la Estrategia Nacional de los Humedales se ha aprobado la clasificación de humedales en tres grupos: humedales costeros, andinos y amazónicos, los humedales son un ecosistema importante a nivel de la localidad ya que sirve como reserva de agua dulce, así mismo alberga especies en peligro de extinción o amenazadas, presenta recursos naturales para extracción como juncos y totorales, por otro lado tiene servicios eco sistémicos como proveer agua, recarga y descarga de acuíferos, estabilización de la línea costa, retención de sedimentos, control de inundaciones, retiene nutrientes, proporciona recursos hidrobiológicos y transporte por el medio acuático, estabiliza los microclimas y posee un alto valor cultural siendo un espacio de recreación y turismo para las personas (Ministerio del ambiente [MINAM], 2015).

Quiroz (2019) menciona que los resultados de la variabilidad de las características fisicoquímicas de la columna de agua, fue muy similar en los 3 niveles de muestreo, clasificando al Humedal de medio mundo en estado eutrófico en las 6 fechas que han sido evaluadas (ver Apéndice 5).

Prado (2018) reporta que las actividades económicas que se realizan en el Humedal de medio mundo son: pesca artesanal, cultivo y extracción de junco y totora y el turismo. Sin embargo, la avicultura desarrollada por la empresa Redondos S.A. representa una amenaza respecto a la sanidad del humedal, debido a que recibe infiltraciones de agua que provienen de la granja de dicha empresa, aumentando la carga orgánica del humedal, por lo tanto influye en el aumento de nutrientes acelerando el crecimiento algal en el cuerpo de agua significando un riesgo para la salud pública de los visitantes, aves migratorias y aves residentes del humedal, porque podrían presentar enfermedades por las toxinas que generan las especies.

Benites *et al.* (2013) en su investigación concluyeron que el humedal de Medio Mundo se encontraba en proceso de eutrofización originado por las heces y restos de la alimentación suplementada no captadas por la crianza de peces, descarga de desagües agrícolas, presencia de animales alrededor de la laguna y por contaminación de las actividades turísticas. Además,

Álvarez (2016) en su investigación obtuvo resultados que constatan la contaminación por detergentes (originadas por las actividades de lavado en los canales de abastecimiento de agua del humedal), cuyas concentraciones fueron elevadas.

## CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Diseño de la investigación

La presente investigación tiene un enfoque cuantitativo porque realizó varios procesos que generaron datos y que fueron analizados para probar la hipótesis formulada. Además, presenta un diseño de tipo experimental debido a que se trabajó con tratamientos a diferentes concentraciones de la cianobacteria, con un alcance exploratorio para poder identificar si genera toxicidad, tal como describe Hernández *et al.* (2010).

#### 2.1.1. Lugar y fecha

Las muestras de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* empleadas en la presente investigación se extrajeron del Humedal de Medio Mundo, distrito de Vegueta, Provincia de Huaura, Departamento de Lima (Figura 5). Los análisis y tratamientos se realizaron en el laboratorio de Microbiología y Biotecnología de la Universidad Católica Sedes Sapientiae-Sede Lima. La investigación tuvo una duración de ocho meses desde enero 2018 hasta setiembre del 2018.

El Humedal de Medio Mundo se ubica en el distrito de Vegueta, provincia de Huaura, departamento de Lima, a unos 172 kilómetros al norte de Lima. El espejo de agua del humedal es de aproximadamente siete kilómetros de largo por 500 metros de ancho, tiene una profundidad máxima de cinco metros. Está separada del mar por 250 metros y sus coordenadas son: 10° 55' 14" y 77° 41' 25".



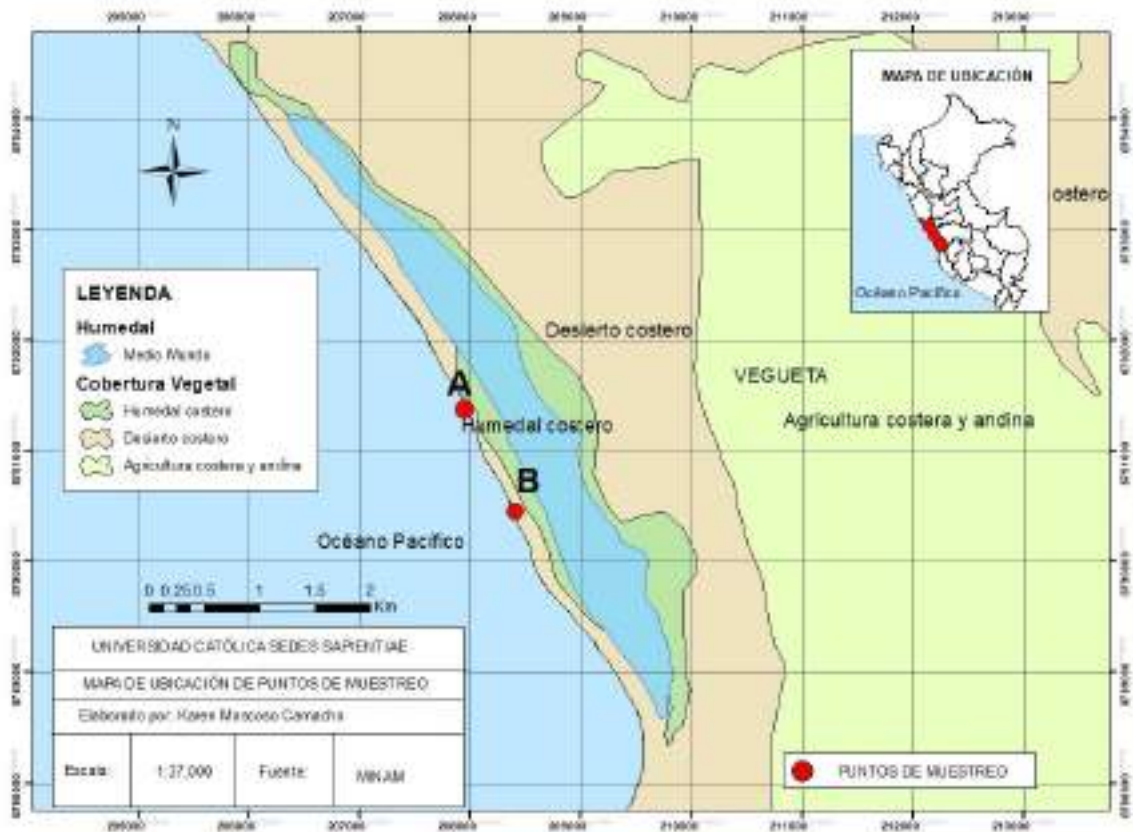


Figura 5. Ubicación de los muestreos del efluente en el humedal Albuferas de Medio Mundo, Huaura-Lima. Fuente: Elaboración propia.

## 2.2. Descripción de la investigación

### 2.2.1. Fase preliminar

Comprendió actividades como:

- Revisión de la información sobre floraciones algales en el Humedal de Medio Mundo.
- Adquisición de alevines de “tilapia” para su acondicionamiento y aclimatación.
- Elaboración del mapa base de ubicación de los puntos de muestreo.
- Adquisición el Kit Fresh water strip test para microcistina y de los materiales a utilizar.

## 2.2.2. Fase de campo

### a) Extracción de *Microcystis aeruginosa* en el Humedal de Medio Mundo

En la Figura 6 se muestra la extracción de las muestras de agua con contenido de *Microcystis aeruginosa* realizado el 04 de febrero del 2018, utilizando un tamiz de 400 mesh  $\approx$  37 micras. Posteriormente, se colocó el contenido en frascos de vidrio en una caja térmica (cooler) a 4 °C para ser trasladados y estudiados en el laboratorio, según metodología trabajada por (Ministerio del ambiente [MINAM], 2014; Chiclla y Sánchez, 2018).



*Figura 6.* Extracción de la muestra en el Humedal de Medio Mundo. *Fuente:* Elaboración propia a partir de Chiclla y Sánchez (2018).

### b) Obtención y adaptación en peceras de *Oreochromis niloticus*

Se obtuvo un millar de alevines de “tilapia” provenientes de criaderos de la ciudad de Tingo María, Provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco. Los peces fueron trasladados en bolsas inyectadas de oxígeno con aislamiento teniendo en cuenta la guía de métodos para transporte de peces vivos (Organización de las naciones unidas para la agricultura y alimentación [FAO], 2019) (ver Apéndice 6) este procedimiento estuvo a cargo del mismo

criadero, los alevinos se recogieron en el terminal de Lima. En la investigación se utilizó 160 alevines de “tilapia”.

### 2.2.3. Fase de laboratorio

#### a) Cultivo y Obtención de biomasa de *Microcystis aeruginosa*

Para obtener la biomasa se realizó el cultivo en tubos de ensayo conteniendo medio de cultivo BG11 (Tabla 5). El medio de cultivo fue esterilizado usando un autoclave de 15 lb/in<sup>2</sup> (1,1 kg/cm<sup>2</sup>) /120°C durante 15 minutos. Posteriormente, se escaló en matraces de 250 ml, y de esa manera llegar a un volumen de 1 L, a condiciones de pH 8, 1100 Lux de iluminación y a 25 °C de temperatura constante (Figura 7) (Martínez, 2018), (Mazur y plinski, 2001).

**Tabla 5**

*Composición del medio de cultivo BG11*

COMPUESTO	CONCENTRACION
NaNO <sub>3</sub>	1500 mg.L <sup>-1</sup>
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 3HO	40 mg.L <sup>-1</sup>
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	75 mg.L <sup>-1</sup>
CaCl <sub>2</sub> 2 H <sub>2</sub> O	36 mg.L <sup>-1</sup>
Ácido cítrico	6 mg.L <sup>-1</sup>
Citrato férrico-amoniaco	6 mg.L <sup>-1</sup>
Na <sub>2</sub> -EDTA	1.0 mg.L <sup>-1</sup>
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (H <sub>2</sub> O)	20 mg.L <sup>-1</sup>
Solución de Micronutrientes	1.0 ml

*Fuente: Park et al. (2004).*



Figura 7. Cultivo de *Microcystis aeruginosa*. Fuente: Elaboración propia.

### **Cinética poblacional de la *Microcystis aeruginosa***

Se determinó el crecimiento poblacional de las cianobacterias mediante conteo de colonias cada 24 horas durante 30 días, para registrar la cinética de crecimiento de la cianobacteria. Para uniformizar las muestras se agitaron con el Vortex, y se realizó el conteo colocando 1.0 ml del cultivo en la cámara Sedwick Rafter para seguir con el conteo respectivo (Figura 8).

Tasa de crecimiento (Sánchez, 2014):

Es un índice que indica cuánto está aumentando o disminuyendo la población en un tiempo determinado (Instituto nacional de estadística y censos [INEC], 2018), para la estimación de la tasa de crecimiento se asumió la dinámica del cultivo mediante la ecuación:

$$\ln N_t = a + bt$$

Que es equivalente a la siguiente expresión:

$$N_t = N_0 e^{\mu t}$$

Donde:

Nt: Población final

No: Población inicial

e: Constante neperiano

$\mu$ : Tasa de crecimiento exponencial

t: Tiempo

- Tiempo de duplicidad (T) (Martínez, 2018):

Sirve para calcular cuánto tiempo le toma a la población duplicarse según la tasa actual de crecimiento (INEC, 2018).

$$T = \frac{\ln(2)}{r}$$

Donde

r: tasa de crecimiento exponencial

- Capacidad de Carga (K) (Sánchez, 2014):

Es el tamaño máximo que puede alcanzar una población para mantenerse en el tiempo (Fandos, 2015)

$$Nt = \frac{K}{1 - \left(1 - \frac{K}{N0}\right) - \mu t}$$

Donde:

Nt: es la población en el tiempo t

$\mu_{max}$  : tasa máxima de crecimiento

K: la capacidad de carga del cultivo.



*Figura 8.* Determinación de la cinética de crecimiento de las cianobacterias con la cámara de Sedgwick Rafter. *Fuente:* Elaboración propia a partir de Martínez (2018).

## **b) Decloración de agua para las peceras**

El agua potable proveniente de las viviendas y/o instituciones pasan por tratamientos físicos y químicos para que el agua sea apropiado para el consumo humano, sin embargo al tener químicos desinfectantes como el cloro, resulta perjudicial por ser tóxico para los peces, es por ello que se recomienda eliminar este compuesto para acuarios o criaderos (Industrias canarias del acuario sociedad anónima [ICASA], 2017). Teniendo en cuenta lo descrito, para la investigación se utilizó un anticloro de la marca aquamaker, para que precipite y disuelva rápidamente el cloro del agua que se utilizó en las peceras.

Se llenaron las peceras con agua potable proveniente de la universidad y se aplicó una gota de anticloro por cada tres litros de agua siguiendo la metodología de (Arboleda, 2006). Se dejó reposar por 10 minutos y posteriormente se adicionaron los peces.

**c) Implementación y adaptación de los alevines de “tilapia” a condiciones de laboratorio**

Por cada unidad experimental fueron colocados 20 alevinos en una pecera de vidrio (60 cm x 40 cm x 30 cm) que contenían 50 L de agua de clorada con un tiempo de adaptación de 15 días (Tabla 6). Para la presente investigación se utilizaron 8 peceras de vidrio con condiciones físicas para su adaptación (Figura 9).

**Tabla 6**

*Condiciones físicas para la adaptación de los alevines de “tilapia” a condiciones de laboratorio*

	Instrumento	Medida
Nº de peces por pecera	Redes de pesca	20 unidades
Pecera	Vidrio de 60 cm x 40 cm x 30 cm	50 L
Aireación	Bombas aireadoras marca Big Boy	3 500 CC/min, potencia de 5.5 W
Fotoperiodo	Luz artificial (Foco)	12 hrs luz por 12 hrs sin luz
Temperatura	Calentadores marca Dolphin de 50 watts	30 °C

*Fuente:* Elaboración propia.



Figura 9. Acondicionamiento de los alevines de *Oreochromis niloticus*. Fuente: Elaboración propia.

**d) Incorporación de *Microcystis aeruginosa* en las unidades experimentales**

Teniendo los valores indicados para cada tratamiento ( $5 \times 10^6$ ,  $1.0$  y  $1.5 \times 10^7$  cel.ml<sup>-1</sup> de *Microcystis aeruginosa*), se adiciona el contenido de las botellas en cada pecera (Figura 10), midiendo la temperatura, pH y oxígeno disuelto.



Figura 10. Vertimiento de *Microcystis aeruginosa* a cada pecera. Fuente: Elaboración propia.



### 2.3. Tratamientos

Los tratamientos realizados se detallan en la Tabla 7. Los peces (n=20) se mantuvieron en acuarios de capacidad de 50 L tanto para el T1, T2, T3 como para el control (T0) durante 30 días y fueron alimentadas con una ración comercial de acuerdo a su biomasa.

**Tabla 7**

*Descripción de los tratamientos y el control por dosis de Microcystis aeruginosa*

Tratamiento	Descripción
T1	$5.0 \times 10^6$ cel.ml <sup>-1</sup> de <i>M. aeruginosa</i> en 50 L de agua de clorada + 20 peces <i>O. niloticus</i>
T2	$1.0 \times 10^7$ cel.ml <sup>-1</sup> de <i>M. aeruginosa</i> en 50 L de agua de clorada + 20 peces <i>O. niloticus</i>
T3	$1.5 \times 10^7$ cel.ml <sup>-1</sup> de <i>M. aeruginosa</i> en 50 L de agua de clorada + 20 peces <i>O. niloticus</i>
T0	50 L de agua de clorada + 20 peces <i>O. niloticus</i> (Testigo)

*Fuente:* Elaboración propia a partir de Kamogae *et al.* (2008).

### 2.4. Unidades experimentales

En la presente investigación se consideraron un total de cuatro tratamientos incluido el control con dos repeticiones haciendo un total de ocho unidades experimentales, las cuales estuvieron conformadas por una pecera vidriada conteniendo 20 alevinos de “tilapia” con un peso promedio de  $50 \pm 10$  g en 50 L de agua con poblaciones de *Microcystis aeruginosa*.

## 2.5. Identificación de sus variables y su mensuración

La identificación de las variables del estudio y su mensuración correspondiente se detalla en la Tabla 8.

**Tabla 8**

*Identificación de variables y su mensuración*

			<b>Instrumentos</b>	<b>Unidad de medida</b>	<b>Metodología-Referencia</b>
<b>Variable Independiente (VI)</b>	Poblaciones de cianobacterias	Conteo de colonias	Cámara de sedwick Rafter	Cel/ml	(Universidad Nacional Mayor de San marcos [UNMSM], 2014)
		Mortandad en “tilapia”	Nº de muertos / concentración de toxina	%	(Instituto Nacional de estadística e informática [INEI], 2000)
<b>Variable Dependiente (VD)</b>	Toxicidad en “tilapia”	Afección de la toxina en órganos	Kit fresh water strip test	Ppb	Abraxis(2019)
		Parámetros fisicoquímicos del agua:	Tiras reactivas	Rango	Aznar (2000)
			Medidor portatil	mg/ L	
		Termometro	°C		

*Fuente:* Elaboración propia.

### **Análisis de los parámetros fisicoquímicos**

Se realizó la evaluación de parámetros fisicoquímicos del agua en cada pecera determinando el pH, OD y Temperatura (Aznar, 2000).

Para medir el pH se utilizaron las tiras reactivas (Figura 11), se separó una tira reactiva y se humedeció ligeramente la tira en el líquido (1 a 10 segundos), se retiró la tira del líquido y se comparó el color que resulta en la tira con la gráfica que proporciona el fabricante para averiguar el valor.



*Figura 11.* Evaluación de pH de cada pecera con las tiras reactivas y con el kit analizador de pH y cloro. *Fuente:* Elaboración propia.

Para medir el oxígeno disuelto se usó el medidor portátil marca EZDO (Figura 12), que es un sistema fácil de intercambio de módulos de sensores para medir diferentes parámetros, muestra el valor de medición actual automáticamente al insertar el sensor al agua.



*Figura 12.* Evaluación de oxígeno disuelto (OD) de cada pecera con medidor portátil marca EZDO. *Fuente:* Elaboración propia.

Para medir la temperatura se utilizó un termómetro marca BOECO especial para piscinas o peceras (Figura 13). Se colocó por 3 minutos y se visualizó la medida en grados centígrados.



*Figura 13.* Evaluación de temperatura. *Fuente:* Elaboración propia.

## Análisis de la toxina en agua y diferentes órganos

En la Figura 14 se muestra la metodología del Kit de tiras para medir microcistina en agua y órganos del pez.

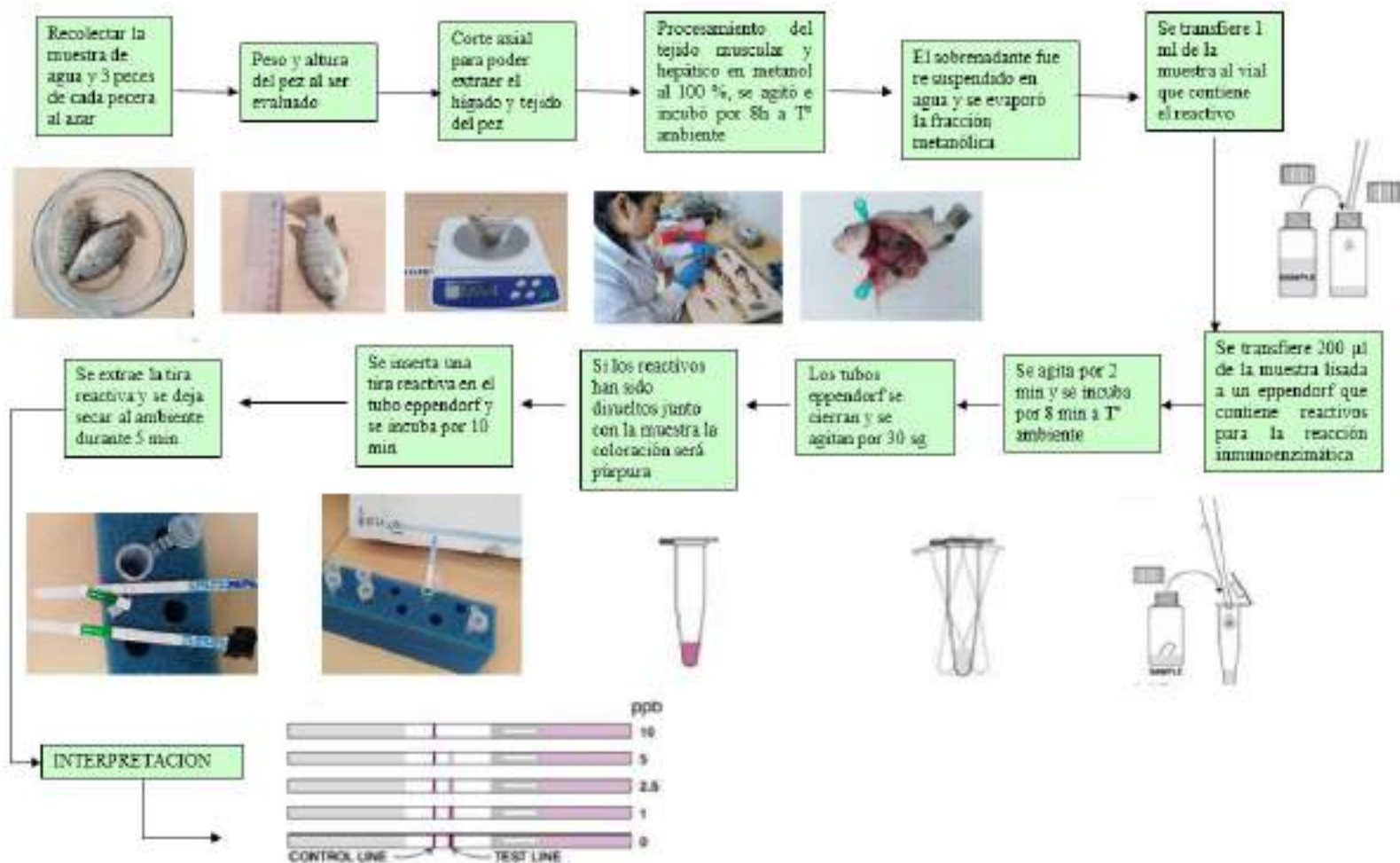


Figura 14. Diagrama del procedimiento de análisis de toxina en agua y órganos del pez. Fuente: Elaboración propia a partir de Abraxis (2019) (ver Apéndice 7).

## 2.6. Diseño estadístico

Se usó un diseño completamente al azar (DCA), en donde los alevines de *Oreochromis niloticus* fueron sometidas a la actividad toxigénica de las poblaciones de *Microcystis aeruginosa* obtenida de un afloramiento del Humedal de Medio Mundo y cultivadas en laboratorio. Además, se tuvo un control que fue incluido como tratamiento conteniendo agua declorada sin presencia de la cianobacteria.

## 2.7 Modelo estadístico

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$$

Donde:

$i$  = Concentración de *Microcystis aeruginosa*

$j$  = Repeticiones

$y_{ij}$  = Evaluación de la toxicidad en “tilapia” con la  $i$ -ésima concentración de *Microcystis aeruginosa* en la  $j$ -ésima repetición

$\mu$  = Efecto de la media general de la toxicidad en “tilapia”

$\tau_i$  = Efecto de la  $i$ -ésima concentración de *Microcystis aeruginosa*

$e_{ij}$  = Efecto del error experimental de la toxicidad en “tilapia” con la  $i$ -ésima concentración de *Microcystis aeruginosa* en la  $j$ -ésima repetición.

## 2.8. Análisis estadístico de los datos

Los datos obtenidos se trasladaron al programa Microsoft Excel para realizar las tablas y gráficos, y de esa manera poder observar el dinamismo de los parámetros analizados en la investigación.

Los datos vaciados en el programa se exportaron al paquete estadístico SPSS v. 22, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de medias de Tukey donde se evaluó los tratamientos

versus los parámetros de OD, pH, concentración de toxinas en aguas y órganos, con un nivel de significancia de ( $p < 0,05$ ).

## **2.9. Materiales**

### **2.9.1. Material biológico**

- Alevines de *Oreochromis niloticus*
- Cianobacteria *Mycrocystis aeruginosa*

### **2.9.2. Medios de cultivo**

- $\text{NaNO}_3$ ,  $1500 \text{ mg.L}^{-1}$
- $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $40 \text{ mg.L}^{-1}$
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $75 \text{ mg.L}^{-1}$
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ,  $36 \text{ mg.L}^{-1}$
- Ácido cítrico,  $6 \text{ mg.L}^{-1}$
- Citrato férrico-amoniaco,  $6 \text{ mg.L}^{-1}$
- $\text{Na}_2\text{-EDTA}$   $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$
- $\text{Na}_2\text{CO}_3 (\text{H}_2\text{O})$   $20 \text{ mg.L}^{-1}$
- Solución de Micronutrientes 1,0 ml

### **2.9.3 Reactivos**

- Metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) al 100 %

### **2.9.4 Equipos**

- Tamiz de 400 micras
- Vortex
- Microscopio

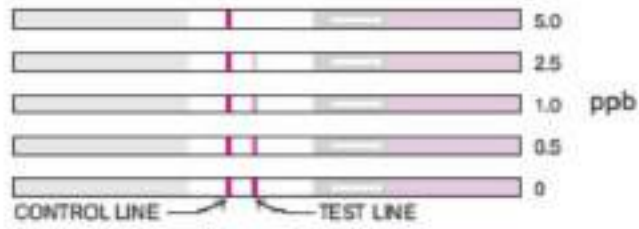
- Centrifuga
- Cooler
- Medido portatil de OD marca EZDO
- Tiras reactivas de pH
- Termómetro de agua marca Boeco
- Cámara sedwick rafter

### **2.9.5 Otros materiales**

- Peceras de vidrio de 60 cm x 40 cm x 30 cm
- Bombas aireadoras de la marca Big Boy (3 500 CC/min, potencia de 5.5 W)
- Calentadores de 30 Watts
- Kit Fresh Water Strip Test para microcistina

La prueba se basa en el reconocimiento de microcistinas, nodularinas y sus congéneres por anticuerpos. La reacción anticuerpo- antígeno ocurre formando una línea visible en el área de “prueba”, la cuantificación se hace comparando la intensidad de la línea de prueba con la línea de control y con la tabla proporcionada para aproximar la cantidad de toxina presente en las muestras de agua. La tira detectará microcistinas y nodularinas de 1 ng/ml a más, en este nivel la línea de prueba presenta una intensidad moderada, a más de 5 ng/ml la línea de prueba no es visible (Figura 15) (ver Apéndice 1).





**TEST INTERPRETATION**

<b><i>Control Line</i></b>	<b><i>Test Line</i></b>	<b><i>Interpretation</i></b>
No control line present	No test line present	Invalid result
Control line present	No test line present	>5 ng/ml (ppb)
Control line present	Moderate intensity test line present	Between 0 and 5 ng/ml (ppb)

*Figura 15.* Interpretación de resultados para el kit de tiras de microcistinas en ppb. *Fuente:* Abraxis (2019).

## CAPÍTULO III: RESULTADOS

### 3.1. Caracterización poblacional de *Microcystis aeruginosa*

Las cianobacterias extraídas del humedal de Medio Mundo fueron identificadas como *Microcystis aeruginosa* (Kützing), las cuales han presentado formas coloniales, con células redondeadas, distribuidas de forma irregular en un mucilago común. La Tabla 9 refiere las dimensiones, forma y volumen de la colonia de *Microcystis aeruginosa*.

**Tabla 9**

*Características de la cianobacteria Microcystis aeruginosa en el medio de cultivo BG11*

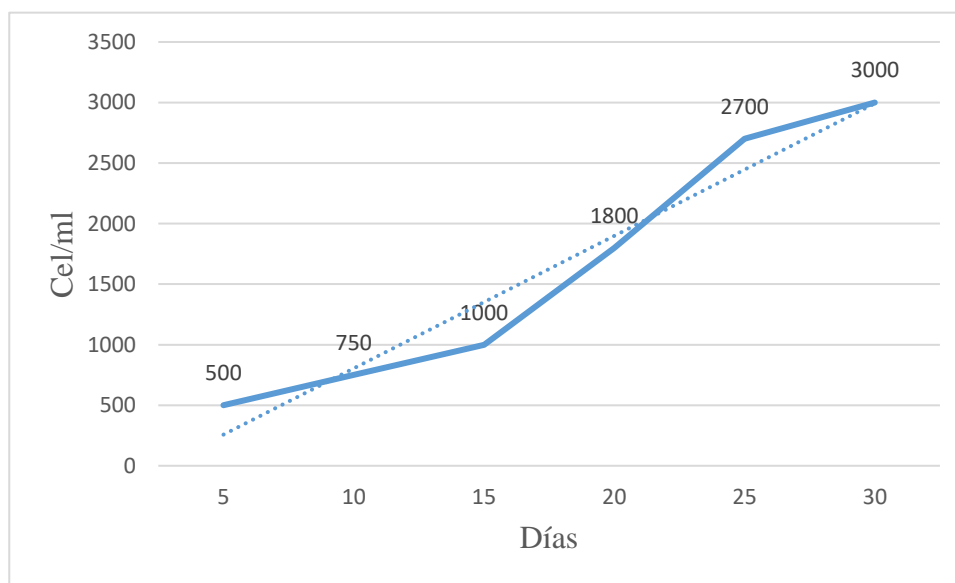
	Forma	Esférica a subsférica
Características Geométricas	Diámetro ( $\mu\text{m}$ )	$123 \pm 11.21$
	Volumen ( $\mu\text{m}^3$ )	$259.57 \pm 25.55$
Parámetros cinéticos de crecimiento	$r$ (días <sup>-1</sup> )	0.133
	$K$ (colonias/días)	499.9
	$T_2$ (días)	5.211

*Fuente:* Elaboración propia.

Mediante las fórmulas se obtuvo los valores de los parámetros cinéticos de crecimiento de las cianobacterias *Microcystis aeruginosa* (Kützinger) aislada del humedal Medio Mundo, tales como: tasa de crecimiento ( $r$ ), tiempo de duplicación ( $T_2$ ) y la capacidad de carga ( $K$ ).

El conteo de colonias fue hasta el día 30, mostró un aumento del número de colonias/ml en el tiempo, además se determinó la tasa de crecimiento de manera constante. Se observa una buena correlación lineal, con un nivel de confianza al 95 % ( $R= 0.9527$ ) indicando una producción constante y permanente durante la fase logarítmica del cultivo (ver Apéndice 2).

Se obtuvo la fase exponencial con una duración de 15 días siendo el inicio a partir del día 5. El valor de  $k$  correspondió a 499.9 colonias/día, el tiempo de duplicación es de 5.211 días, periodo donde el número de células se duplica (Figura 16).



*Figura 16.* Curva de crecimiento promedio de *Microcystis aeruginosa* extraídas del humedal de Medio Mundo en medio BG11 (31 días de cultivo) X: Colonias de *Microcystis aeruginosa* (cel/ml), Y= Días transcurridos en el medio BG11. Fuente: Elaboración propia.

### 3.2. Variación del pH, OD y la toxina microcistina presentes en aguas

#### 3.2.1. Variación de pH de las aguas después de los tratamientos

La Tabla 10 muestra los valores promedios de pH para cada tratamiento en cada semana de evaluación, teniendo un valor mínimo de pH en el T3 en la semana 4 con  $6.1 \pm 0.5$ , ligeramente ácido y un valor máximo en el T2 de la semana 3 con  $7.8 \pm 0.6$  siendo ligeramente alcalino. La Tabla 11 muestra resultados del análisis de varianza de pH entre tratamientos y semanas de exposición a la toxina microcistina y las Tablas 12 y 13 muestran el análisis de media de Tukey.

**Tabla 10**

*Variación del pH en distintos tratamientos. (Promedio  $\pm$  DS) T0: Tratamiento control, T1: Tratamiento 1, T2: Tratamiento 2, T3: Tratamiento 3*

TRATAMIENTO	SEMANA	pH
T0	1	$7.8 \pm 0.2$
	2	$7.8 \pm 0.3$
	3	$7.8 \pm 0.5$
	4	$7 \pm 0.9$
T1	1	$6.8 \pm 0.3$
	2	$7.8 \pm 0.5$
	3	$7.8 \pm 0.4$
	4	$6.4 \pm 0.5$
T2	1	$6.8 \pm 0.3$
	2	$6.8 \pm 0.6$
	3	$7.8 \pm 0.6$
	4	$6.3 \pm 0.4$
T3	1	$7.8 \pm 0.5$
	2	$7.8 \pm 0.3$
	3	$7.8 \pm 0.4$
	4	$6.1 \pm 0.5$

*Fuente:* Elaboración propia.

**Tabla 11***Análisis de varianza de pH entre semanas y tratamientos*

<b>Pruebas de efectos inter-sujetos</b>					
Variable dependiente: pH					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	18.808	15	1.254	125.387	0.000
Interceptación	2492.642	1	2492.642	249264.187	0.000
TRATAMIENTOS	3.711	3	1.237	123.687	0.000
SEMANA	11.766	3	3.922	392.187	0.000
TRATAMIENTOS * SEMANA	3.332	9	0.370	37.021	0.000
Error	0.320	32	0.010		
Total	2511.770	48			
Total corregido	19.128	47			

a. R al cuadrado = 0.983 (R al cuadrado ajustada =0.975)

*Fuente:* Elaboración propia

El análisis de varianza (ANOVA) ( $p < 0.05$ ) de los valores de pH medidos semanalmente en todos los tratamientos muestra una variación significativa en todos los periodos analizados.

**Tabla 12***Prueba de comparación de medias de pH con los tratamientos*

<b>Comparaciones múltiples</b>						
Variable dependiente: PH						
HSD Tukey						
(I)	(J)	Diferencia de medias (I-J)		Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
TRATAMIENTOS	TRATAMIENTOS		Error estándar		Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TRATAMIENTO 1	0.6500*	0.04082	0.000	0.5394	0.7606
	TRATAMIENTO 2	0.6250*	0.04082	0.000	0.5144	0.7356
	TRATAMIENTO 3	0.2000*	0.04082	0.000	0.0894	0.3106
	CONTROL	-0.6500*	0.04082	0.000	-0.7606	-0.5394

TRATAMIENTO 1	TRATAMIENTO 2	-0.0250	0.04082	0.927	-0.1356	0.0856
	TRATAMIENTO 3	-0.4500*	0.04082	0.000	-0.5606	-0.3394
TRATAMIENTO 2	CONTROL	-0.6250*	0.04082	0.000	-0.7356	-0.5144
	TRATAMIENTO 1	0.0250	0.04082	0.927	-0.0856	0.1356
	TRATAMIENTO 3	-0.4250*	0.04082	0.000	-0.5356	-0.3144
TRATAMIENTO 3	CONTROL	-0.2000*	0.04082	0.000	-0.3106	-0.0894
	TRATAMIENTO 1	0.4500*	0.04082	0.000	0.3394	0.5606
	TRATAMIENTO 2	0.4250*	0.04082	0.000	0.3144	0.5356

Fuente: Elaboración propia

El análisis de prueba de medias de Tukey indica que existe diferencia significativa en los resultados de pH en casi todos los tratamientos, a excepción del T1 y T2 que no tiene diferencia significativa ( $p > 0.05$ ).

**Tabla 13**

*HSD TUKEY entre los resultados de pH y los tratamientos*

		PH		
HSD Tukey <sup>a,b</sup>		Subconjunto		
TRATAMIENTOS	N	1	2	3
TRATAMIENTO 1	12	6.9250		
TRATAMIENTO 2	12	6.9500		
TRATAMIENTO 3	12		7.3750	
CONTROL	12			7.5750
Sig.		0.927	1.000	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .010.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12.000.

b. Alfa = .05.

Fuente: Elaboración propia.

Según los resultados de análisis de medias muestra que el T1 y T2 no difieren significativamente entre ellos ( $p.\text{valor} = 0.927$ ), mientras que el T3 y T0 difieren de los anteriores.

### 3.2.2. Variación de Oxígeno disuelto (OD) en las aguas después de los tratamientos

La Tabla 14 muestra los valores promedios de oxígeno disuelto en cada tratamiento en las 4 semanas de exposición de la cianobacteria, teniendo un valor máximo en el T1 en la semana 4 con  $4.44 \pm 0.5$  mg/L y presentando un valor mínimo de  $4.02 \pm 0.3$  mg/L en la semana 1. La Tabla 15 muestra el análisis de varianza de oxígeno disuelto medido en cada tratamiento en las cuatro semanas de exposición a la toxina microcistina. Las Tablas 16 y 17 muestran el análisis de prueba de medias de Tukey.

**Tabla 14**

*Variación del OD en los distintos tratamientos y semanas. (Promedio  $\pm$  DS)*

*T0: Tratamiento control, T1: Tratamiento 1, T2: Tratamiento 2, T3: Tratamiento 3*

TRATAMIENTO	SEMANA	OD mg/L
T0	1	$4.1 \pm 0.4$
	2	$4.04 \pm 0.5$
	3	$4.03 \pm 0.9$
	4	$4.2 \pm 0.6$
T1	1	$4.02 \pm 0.3$
	2	$4.04 \pm 0.5$
	3	$4.2 \pm 0.6$
	4	$4.44 \pm 0.5$
T2	1	$4.11 \pm 0.7$
	2	$4.09 \pm 0.8$
	3	$4.12 \pm 0.6$
	4	$4.1 \pm 0.3$
T3	1	$4.41 \pm 0.5$
	2	$4.31 \pm 0.6$
	3	$4.43 \pm 0.5$
	4	$4.42 \pm 0.8$

*Fuente:* Elaboración propia.

**Tabla 15***Análisis de varianza de OD entre semana y tratamientos*

<b>Pruebas de efectos inter-sujetos</b>					
Variable dependiente: OD					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	1.238	15	0.083	42.173	0.000
Interceptación	851.767	1	851.767	435408.307	0.000
TRATAMIENTOS	0.752	3	0.251	128.128	0.000
SEMANA	0.109	3	0.036	18.658	0.000
TRATAMIENTOS * SEMANA	0.376	9	0.042	21.359	0.000
Error	0.063	32	0.002		
Total	853.068	48			
Total corregido	1.300	47			

a. R al cuadrado =0.952 (R al cuadrado ajustada = 0.929)

*Fuente:* Elaboración propia

El análisis de varianza (ANOVA) de los valores de OD medidos semanalmente en todos los tratamientos muestra una variación significativa ( $p < 0.05$ ) en todos los periodos analizados.

**Tabla 16***Prueba de medias de Tukey para resultados de OD en los tratamientos*

<b>Comparaciones múltiples</b>						
Variable dependiente: OD						
HSD Tukey						
(I)	(J)	Diferencia de		95 % de intervalo de confianza		
TRATAMIENTOS	TRATAMIENTOS	medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TRATAMIENTO 1	-.08250	0.04557	0.282	-0.2042	0.0392
	TRATAMIENTO 2	-.06750	0.04557	0.457	-0.1892	0.0542
	TRATAMIENTO 3	-.33000*	0.04557	0.000	-0.4517	-0.2083
TRATAMIENTO 1	CONTROL	.08250	0.04557	0.282	-0.0392	0.2042
	TRATAMIENTO 2	.01500	0.04557	0.988	-0.1067	0.1367
	TRATAMIENTO 3	-.24750*	0.04557	0.000	-0.3692	-0.1258
TRATAMIENTO 2	CONTROL	.06750	0.04557	0.457	-0.0542	0.1892



	TRATAMIENTO 1	-.01500	0.04557	0.988	-0.1367	0.1067
	TRATAMIENTO 3	-.26250*	0.04557	0.000	-0.3842	-0.1408
TRATAMIENTO 3	CONTROL	.33000*	0.04557	0.000	0.2083	0.4517
	TRATAMIENTO 1	.24750*	0.04557	0.000	0.1258	0.3692
	TRATAMIENTO 2	.26250*	0.04557	0.000	0.1408	0.3842

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

*Fuente:* Elaboración propia.

El análisis de prueba de medias de Tukey indica que existe diferencia significativa en los resultados de OD de T3 con todos los tratamiento, mientras que los demás no tienen diferencia significativa entre ellos ( $p > 0.05$ ).

**Tabla 17**

*HSD Tukey para OD*

		<b>OD</b>	
HSD Tukey <sup>a</sup>			
		Subconjunto para alfa = 0.05	
TRATAMIENTOS	N	1	2
CONTROL	12	4.0925	
TRATAMIENTO 2	12	4.1600	
TRATAMIENTO 1	12	4.1750	
TRATAMIENTO 3	12		4.4225
Sig.		0.282	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12,000.

*Fuente:* Elaboración propia.

Según los resultados del análisis de medias para los tratamientos T0, T1 y T2 no difieren significativamente entre ellos, sin embargo, el T3 difiere con los demás tratamientos.

### 3.2.3. Variación de la concentración de las toxinas en el agua de peceras

La Tabla 18 muestra la cantidad de toxina medida por el kit Fresh water strip test para cada tratamiento en las cuatro semanas de exposición, teniendo como concentración máxima para el T1 y T2 de la toxina en la semana 4 con 10 ppb, para el T3 tuvo concentración máxima en las semanas 3 y 4 con 10 ppb, que es el valor máximo que representa la prueba. La Tabla 19 muestra el análisis de varianza de la toxina microcistina presente en el agua. Las Tablas 20 y 21 muestran el análisis de medias de Tukey.

**Tabla 18**

*Variación de toxina y poblaciones de M. aeruginosa según los tratamientos*

TRATAMIENTO	<i>Microcystis aeruginosa (Cel/ml)</i>	SEMANA	Toxina ppb
T0	No presenta	1,2,3 y 4	0
		1	0
T1	5 x 10 <sup>6</sup>	2	0
		3	5
		4	10
		1	0
T2	1.0 x 10 <sup>7</sup>	2	5
		3	5
		4	10
		1	0
T3	1.5 x 10 <sup>7</sup>	2	5
		3	10
		4	10
		1	0

Fuente: *Elaboración propia. Dónde: ppb: partes por billón, T1: Tratamiento 1, T2: Tratamiento 2, T3: Tratamiento 3*

**Tabla 19***Análisis de ANOVA entre tratamientos y concentración de toxina en el agua*

<b>Pruebas de efectos Inter sujetos</b>					
Variable dependiente: TOXINA AGUA					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	262.500 <sup>a</sup>	3	87.500	6.655	0.001
Interceptación	675.000	1	675.000	51.340	0.000
TRATAMIENTOS	262.500	3	87.500	6.655	0.001
Error	578.500	44	13.148		
Total	1516.000	48			
Total corregido	841.000	47			

a. R al cuadrado = 0.312 (R al cuadrado ajustada = 0.265)

*Fuente:* Elaboración propia

El análisis de varianza (ANOVA) de los valores de concentración de toxina Microcistina en agua medidos semanalmente en todos los tratamientos muestra una variación significativa ( $p < 0.05$ ) en todos los periodos analizados.

**Tabla 20***Pruebas de medias de Tukey para concentración de toxina en agua en los tratamientos*

<b>Comparaciones múltiples</b>						
Variable dependiente: TOXINA AGUA						
HSD Tukey						
(I) TRATAMIENTOS	(J) TRATAMIENTOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95 % de intervalo de confianza Límite inferior Límite superior	
CONTROL	TRATAMIENTO 1	-3.75000	1.48030	0.069	-7.7024	0.2024
	TRATAMIENTO 2	-5.00000*	1.48030	0.008	-8.9524	-1.0476
	TRATAMIENTO 3	-6.25000*	1.48030	0.001	-10.2024	-2.2976
TRATAMIENTO 1	CONTROL	3.75000	1.48030	0.069	-.2024	7.7024
	TRATAMIENTO 2	-1.25000	1.48030	0.833	-5.2024	2.7024
	TRATAMIENTO 3	-2.50000	1.48030	0.342	-6.4524	1.4524

TRATAMIENTO 2	CONTROL	5.00000*	1.48030	0.008	1.0476	8.9524
	TRATAMIENTO 1	1.25000	1.48030	0.833	-2.7024	5.2024
	TRATAMIENTO 3	-1.25000	1.48030	0.833	-5.2024	2.7024
TRATAMIENTO 3	CONTROL	6.25000*	1.48030	0.001	2.2976	10.2024
	TRATAMIENTO 1	2.50000	1.48030	0.342	-1.4524	6.4524
	TRATAMIENTO 2	1.25000	1.48030	0.833	-2.7024	5.2024

Fuente: Elaboración propia.

Según los resultados de Tukey para los resultados de concentración de toxina en agua presenta variación significativa de T1, T2 y T3 con el T0. Esto constata los resultados debido a que el control (T0) estuvo libre de *Microcystis aeruginosa*.

**Tabla 21**  
HSD de Tukey para concentración de toxina en agua

TOXINA AGUA			
HSD Tukey <sup>a</sup>			
TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
CONTROL	12	0.0000	
TRATAMIENTO 1	12	3.7500	3.7500
TRATAMIENTO 2	12		5.0000
TRATAMIENTO 3	12		6.2500
Sig.		0.069	0.342

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12.000.

Fuente: Elaboración propia.

Según los resultados del análisis de medias el T0 y T1 no difieren significativamente entre ellos, mientras que el T3, T2 y T1 no difieren significativamente entre ellos pero si hay variación significativa con el T0.

### 3.3. Variación de la concentración de toxina microcistina en diferentes órganos del pez

Los peces fueron sacrificados en la cuarta semana de exposición, teniendo 2 meses de vida las “tilapias”. Se eligió al azar 3 peces de cada tratamiento incluyendo el control.

La Tabla 22 describe el peso y talla de los peces, donde el peso máximo para el T0 corresponde al pez 2 (P2), mostrando un peso de 18.2 g y una talla de 10.3 cm, y una concentración de toxina de 0 ppb. En el T1 corresponde a pez 2 (P2), mostrando un peso de 22.16 g y talla 9 cm, y una concentración de la toxina de 5 ppb en hígado y músculo, siendo el peso mínimo el pez 3 (P3) de 6.77 g y talla 6.8 cm con una concentración de toxina de 2.5 ppb para hígado y músculo. Las Tablas 23 y 26 muestran el análisis de varianza de la concentración de la toxina microcistina en el hígado y músculo del pez respectivamente. Mientras que, Las Tablas 24 y 25 muestran el análisis de medias de Tukey para el tejido del pez y las Tablas 27 y 28 el análisis de medias de Tukey para el hígado del pez.

Para T2 corresponde un peso máximo el pez 1 (P1) con 17.72 g y talla de 9.5 cm mostrando una concentración de toxina de 5 ppb para hígado y musculo, y un peso mínimo el pez 3 (P3) con 6 g y talla 6.5 cm mostrando una concentración de toxina de 2.5 ppb para hígado y músculo. Para el T3 corresponde un peso máximo el pez 1 (P1) de 23.98 g y 10.5 cm de talla siendo el valor de 5 ppb de concentración de toxina para hígado y músculo, y un peso mínimo el P3 de 12.79 g y una talla de 9 cm, teniendo una concentración de toxina de 5 y 2.5 ppb para hígado y músculo.

**Tabla 22**

*Variación de la concentración de la toxina microcistina (MC ppb) en diferentes órganos según el peso y la talla del pez, T0: Tratamiento control, T1: Tratamiento 1, T2: Tratamiento 2, T3: Tratamiento 3*

TRATAMIENTO	PEZ	PESO (g)	TALLA (cm)	ORGANO	
				HIGADO (MC ppb)	MUSCULO- TEJIDO (MC ppb)
T0	P1	17.5	9.2	0	0
	P2	18.2	10.3	0	0

	P3	17.1	10	0	0
	P1	16.1	9	5	2.5
T1	P2	22.16	11	5	5
	P3	6.77	6.8	2.5	2.5
	P1	17.72	9.5	5	5
T2	P2	13.5	8.5	5	5
	P3	6	6.5	2.5	2.5
	P1	23.98	10.5	5	5
T3	P2	22.19	10.5	5	5
	P3	12.79	9	5	2.5

Fuente: Elaboración propia.

### Tabla 23

*Análisis de ANOVA entre concentración de toxina en el músculo de cada pez y entre los tratamientos*

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: TOXINA MÚSCULO - TEJIDO					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	79.688 <sup>a</sup>	3	26.563	7.755	0.000
Interceptación	229.687	1	229.687	67.060	0.000
TRATAMIENTOS	79.687	3	26.562	7.755	0.000
Error	150.705	44	3.425		
Total	460.080	48			
Total corregido	230.393	47			

a. R al cuadrado = 0.346 (R al cuadrado ajustada = 0.301)

Fuente: Elaboración propia

El análisis de varianza (ANOVA) de los valores de concentración de toxina Microcistina en músculo del pez en todos los tratamientos muestra una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en todos los periodos analizados.

**Tabla 24***Prueba de medias de Tukey para concentración de toxina en el tejido de la “tilapia”*

<b>Comparaciones múltiples</b>						
Variable dependiente: TOXINA TEJIDO						
HSD Tukey						
(I)	(J)	Diferencia de			95 % de intervalo de	
TRATAMIENTOS	TRATAMIENTOS	medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TRATAMIENTO 1	-2.50000*	0.75555	0.010	-4.5173	-0.4827
	TRATAMIENTO 2	-3.12500*	0.75555	0.001	-5.1423	-1.1077
	TRATAMIENTO 3	-3.12500*	0.75555	0.001	-5.1423	-1.1077
TRATAMIENTO 1	CONTROL	2.50000*	0.75555	0.010	0.4827	4.5173
	TRATAMIENTO 2	-.62500	0.75555	0.841	-2.6423	1.3923
	TRATAMIENTO 3	-.62500	0.75555	0.841	-2.6423	1.3923
TRATAMIENTO 2	CONTROL	3.12500*	0.75555	0.001	1.1077	5.1423
	TRATAMIENTO 1	.62500	0.75555	0.841	-1.3923	2.6423
	TRATAMIENTO 3	0.00000	0.75555	1.000	-2.0173	2.0173
TRATAMIENTO 3	CONTROL	3.12500*	0.75555	0.001	1.1077	5.1423
	TRATAMIENTO 1	0.62500	0.75555	0.841	-1.3923	2.6423
	TRATAMIENTO 2	0.00000	0.75555	1.000	-2.0173	2.0173

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: Elaboración propia

Según los resultados de Tukey para la concentración de toxina en tejido se tuvo valores de  $T3 > T2 > T1$ .

**Tabla 25***HSD Tukey para concentración de toxina en el tejido de la “tilapia”*

<b>TOXINA TEJIDO</b>			
HSD Tukey <sup>a</sup>			
TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
CONTROL	12	0.0000	
TRATAMIENTO 1	12		2.5000
TRATAMIENTO 2	12		3.1250
TRATAMIENTO 3	12		3.1250

Sig.	1.000	0.841
------	-------	-------

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12.000.

*Fuente:* Elaboración propia.

Según los resultados del análisis de medias el T0 difiere significativamente de los demás tratamientos, mientras que el T1, T2 y T3 no difieren significativamente entre ellos.

### Tabla 26

*Análisis de ANOVA entre concentración de toxina en el hígado de cada pez y entre los tratamientos*

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: TOXINA HIGADO					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	103.125 <sup>a</sup>	3	34.375	8.722	0.000
Interceptación	300.000	1	300.000	76.118	0.000
TRATAMIENTOS	103.125	3	34.375	8.722	0.000
Error	173.415	44	3.941		
Total	576.540	48			
Total corregido	276.540	47			

a. R al cuadrado = 0.373 (R al cuadrado ajustada = 0.330)

*Fuente:* Elaboración propia.

El análisis de varianza (ANOVA) de los valores de concentración de toxina Microcistina en hígado del pez en todos los tratamientos muestra una variación significativa ( $p < 0.05$ ) en todos los periodos que fueron analizados.



**Tabla 27***Prueba de medias de Tukey para la concentración de toxinas en hígado de la “tilapia”*

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: TOXINA HIGADO						
HSD Tukey						
(I)	(J)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
TRATAMIENTO S	TRATAMIENTOS				Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TRATAMIENTO 1	-3.12500*	0.81048	0.002	-5.2890	-0.9610
	TRATAMIENTO 2	-3.12500*	0.81048	0.002	-5.2890	-0.9610
	TRATAMIENTO 3	-3.75000*	0.81048	0.000	-5.9140	-1.5860
TRATAMIENTO 1	CONTROL	3.12500*	0.81048	0.002	0.9610	5.2890
	TRATAMIENTO 2	0.00000	0.81048	1.000	-2.1640	2.1640
	TRATAMIENTO 3	-.62500	0.81048	0.867	-2.7890	1.5390
TRATAMIENTO 2	CONTROL	3.12500*	0.81048	0.002	0.9610	5.2890
	TRATAMIENTO 1	0.00000	0.81048	1.000	-2.1640	2.1640
	TRATAMIENTO 3	-.62500	0.81048	0.867	-2.7890	1.5390
TRATAMIENTO 3	CONTROL	3.75000*	0.81048	0.000	1.5860	5.9140
	TRATAMIENTO 1	0.62500	0.81048	0.867	-1.5390	2.7890
	TRATAMIENTO 2	0.62500	0.81048	0.867	-1.5390	2.7890

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: Elaboración propia.

Según los resultados de Tukey para la concentración de toxina en el hígado del pez menciona que tuvo mayor concentración el T3, y de manera similar el T2 y T1.

**Tabla 28***HSD Tukey para la concentración de toxina en el hígado de la “tilapia”*

<b>TOXINA HIGADO</b>			
HSD Tukey <sup>a</sup>			
TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
CONTROL	12	0.0000	
TRATAMIENTO 1	12		3.1250
TRATAMIENTO 2	12		3.1250
TRATAMIENTO 3	12		3.7500
Sig.		1.000	0.867

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12.000.

*Fuente:* Elaboración propia.

Según los resultados del análisis de medias muestra que el T0 difiere significativamente de los demás tratamientos. Mientras que T3, T2 y T1 no difieren significativamente entre ellos.

### **3.4. Mortandad de los alevines de “tilapia” producidas producida por exposición a *Microcystis aeruginosa* en los diferentes tratamientos**

En la Tabla 29 se presenta el porcentaje de mortandad en cada tratamiento y según la semana de exposición, teniendo como menor porcentaje de mortandad en T1 con 30 % y un valor máximo en el T3 con 100 %, y en el grupo control (T0) se obtuvo 0 % de mortandad (Figura 17).

Fueron considerados 20 peces como tamaño muestral (n= 20). En el grupo control T0, no se presentó muertes. En el T1, la primera semana mostró 0 peces muertos, la segunda semana tuvo 2 peces muertos, la tercera semana tuvo 2 peces muertos y la cuarta semana tuvo 2 peces muertos, haciendo un total de 6 peces muertos que representa un 30 % de mortandad.

En el T2, en la primera semana tuvo 1 pez muerto, en la segunda semana 1 pez muerto, en la tercera semana 4 peces muertos y en la cuarta semana 4 peces muertos, haciendo un total de 10 peces muertos que representa un 50 % de mortandad.

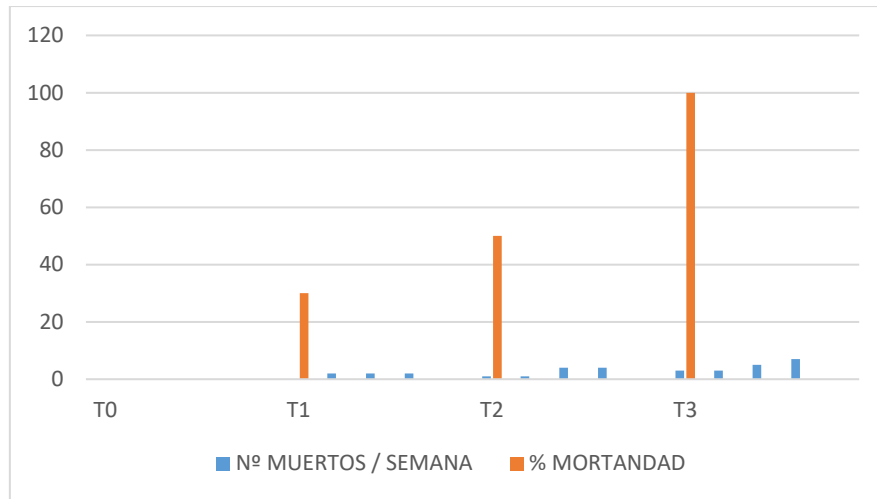
En el T3, en la primera semana presentó 3 peces muertos, en la segunda semana 3 peces muertos, en la tercera semana 5 peces muertos y en la cuarta semana tuvo 7 peces muertos, haciendo un total de 20 peces muertos, que representa el 100 % de mortandad.

**Tabla 29**

*Porcentaje de mortandad de los alevines de “tilapia” en las cuatro semanas de exposición, n= 20. T1: Tratamiento 1, T2: Tratamiento 2, T3: Tratamiento 3*

TRATAMIENTO	SEMANA	MUERTOS	TOTAL (%)
T0	1	0	0 %
	2	0	
	3	0	
	4	0	
Total T0		0/20	
T1	1	0	30 %
	2	2	
	3	2	
	4	2	
Total T1		6/20	
T2	1	1	50 %
	2	1	
	3	4	
	4	4	
Total T2		10/20	
T3	1	3	100 %
	2	3	
	3	5	
	4	7	
Total T3		20/20	

*Fuente:* Elaboración propia.



*Figura 17. Porcentaje de mortandad de peces en cada semana y para T1, T2 y T3. Fuente: Elaboración propia.*

## CAPÍTULO IV: DISCUSIONES

### 4.1. Caracterización poblacional de *Microcystis aeruginosa*

El crecimiento poblacional de *Microcystis aeruginosa* usando el medio de cultivo BG11 para cianobacterias, teniendo un fotoperiodo de 24 horas con 1100 lux de iluminación, logró un desarrollo máximo al día 25 de la siembra del cultivo, obteniendo una tasa de crecimiento ( $r = 0.133 \text{ días}^{-1}$ ) y una capacidad de carga ( $k = 499.9 \text{ col/días}$ ), resultados similares fueron obtenidos por Martínez (2018) donde se menciona un desarrollo máximo en el día 20 de siembra, obteniendo la cantidad de cianobacterias necesarias para su investigación ( $7.5 \times 10^3 \text{ cel/ml}$ ), usando el mismo medio selectivo (BG11) con un fotoperiodo de 14 horas luz y 10 horas sin luz. Chico (2010) tuvo similar resultado de crecimiento bacteriano usando medio BG11 para la cianobacteria *Chlorogloea* (Wille), donde hubo cinética de crecimiento a partir del sexto día y alcanzó un promedio de crecimiento alto en los días 21,24 y 27, llegando a  $14 \times 10^6 \text{ cel /ml}$ . Mazur y Plinski (2001) mencionan que en el medio BG11 con diferente salinidad no hay cambios significativos en la concentración de toxina de las cianobacterias. En la presente investigación la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* se adaptó convenientemente al medio de cultivo BG11 a 25 días de siembra, recomendándose su cultivo en este medio selectivo por obtener altas tasas de crecimiento como lo referido por otras investigaciones.

## **4.2. Variación del pH, OD y la toxina microcistina en los tratamientos**

### **4.2.1. Variación de pH de las aguas después de los tratamientos**

En la presente investigación el pH inicial de las aguas sin presencia de cianobacterias fue de 7.8, mostrando una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) (Tabla 6) en todos los tratamientos con presencia de la cianobacterias *Microcystis aeruginosa*, para los tratamientos se tuvo un valor mínimo de pH para el T3 de  $6.1 \pm 0.5$  y un valor máximo para el T2 de  $7.8 \pm 0.6$  en un periodo de 30 días. Las variaciones de pH en cuerpos de agua con presencia de cianobacterias fueron estudiadas por Zambrozi (2012) quien determinó que las variaciones de pH oscilaban entre 7.04 y  $7.24 \pm 0.22$  en un periodo de 96 horas, de la misma manera Chen *et al.* (2010), evaluaron la variación de pH en cuerpos de agua con presencia de *Microcystis aeruginosa* y sus toxinas reportando valores de pH de 6.5 a 9.5, influenciada por el incremento de la población de la cianobacteria. En la presente investigación, tal como menciona Wu *et al.* (2011) en la investigación sobre estudio del alimento balanceado de peces y su efecto en el crecimiento de *Microcystis aeruginosa*, donde concluye que la liberación inicial de nutrientes de la comida para peces crea ambientes adversos como baja disponibilidad de oxígeno y pH reducido.

### **4.2.2. Variación de oxígeno disuelto en las aguas después de los tratamientos**

En la presente investigación las evaluaciones del oxígeno disuelto del agua conteniendo “tilapia” y floraciones algales presentaron variación significativa ( $p < 0.05$ ) en todos los tratamientos, con valor mínimo en T1 de  $4.02 \pm 0.3$  en la semana 1 y valor máximo en T1 de  $4.44 \pm 0.5$  mg/L en la semana 4 de exposición de la toxina microcistina. Valores más altos de oxígeno disuelto fueron reportados por Prieto (2006) quien registró rangos de oxígeno disuelto de 6.5 a 7.5 mg/L en experimentos donde encontró un efecto de floraciones algales y sus toxinas en el desarrollo de las “tilapias”. Mientras que, Huang y Chen (2013) en la investigación sobre variación de oxígeno disuelto en presencia de *Microcystis aeruginosa* en cuerpos de aguas, refieren valores bajos de 1 a 2 mg/L; esta variación es atribuida a la descomposición de las algas que generan un consumo del oxígeno de este cuerpo de agua convirtiéndola en un recurso eutrofizado.

Los valores de oxígeno disuelto encontrados en la presente investigación no afectaron al crecimiento de la “tilapia” en el periodo evaluado, dado que esta especie tolera rangos bajos de oxígeno disuelto tal como lo refiere Luchini (2006).

#### **4.2.3. Variación de la concentración de las toxinas presentes en aguas**

En la presente investigación se obtuvo la concentración máxima de la toxina microcistina en el agua (10 ppb  $\approx$  10  $\mu\text{g/L}$ ) en todos los tratamientos en su cuarta semana de exposición, los valores obtenidos están en el límite del rango tolerable para aguas recreacionales dado por la OMS (hasta 10  $\mu\text{g/L}$ ), sin embargo; la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA por sus siglas inglés, *Environmental Protection Agency*) menciona que para aguas recreacionales se debe tener como valor máximo hasta 8  $\mu\text{g/L}$  de microcistina (ver Apéndice 1), similares resultados fueron obtenidos por Chellappa *et al.* (2008) determinando una concentración máxima de 8.73  $\mu\text{g/L}$  para las muestras de sestson en el cuerpo de agua experimentado, debido a la presencia de floraciones algales en un periodo de exposición de 15 días. Mientras que Herrera *et al.* (2015), en la investigación sobre florecimiento algal de *Microcystis aeruginosa* en peceras de 30 L, observó que, en el periodo de investigación de 3 semanas, las muestras de agua sin concentración de sedimento de MC-LR tuvieron variación mínima de (5.0  $\pm$  0.1  $\mu\text{g/ml}$ ) durante todo el ensayo. Ibrahem (2011) en el estudio de 100 peces de “tilapias” en acuarios de 40 L adicionando *Microcystis aeruginosa* a 100, 200 y 400  $\mu\text{g/ml}$  cada día por 21 días, obtuvo valor máximo de microcistina en agua de 3.9  $\mu\text{g/L}$  para la última semana. En la presente investigación se registra un aumento de toxina microcistina en el agua debido que, en los sedimentos de los peces también contiene la toxina y se seguía acumulando, mostrando los valores máximos de la prueba de 10 ppb, tal como lo refiere Al-Kahtani (2008) y Soares (2004).

#### **4.2.4. Variación de la concentración de toxina microcistina en diferentes órganos de la “tilapia”**

En la investigación se detectó la presencia de la toxina microcistina en el hígado y músculo de la “tilapia” con un valor máximo de 5.0 ppb  $\approx$  5  $\mu\text{g/L}$ , de igual manera lo refiere Jos (2005) en la investigación sobre “tilapias” expuestas a microcistinas (60.0  $\mu\text{g}$  de MC-LR/ pez/día) junto

con su comida comercial por 21 días a condiciones de laboratorio reportó un valor máximo de  $2.8 \times 10^3 \mu\text{g/L}$  en hígado, mientras que Soares (2004) presentó en un periodo máximo de 28 días valores entre  $0.29 \pm 0.09 \mu\text{g/L}$  a  $0.24 \pm 0.12 \mu\text{g/L}$  para el tejido muscular de la “tilapia”, no reportando valores de la toxina en hígado. Otras investigaciones realizadas con otro tipo de peces reportaron la presencia de la toxina microcistina; así Schmidt (2013) evaluó la presencia de la toxina MC en el pez *Pomoxis nigromaculatus* encontrando en el tejido muscular del pez una concentración máxima de hasta  $70 \mu\text{g/L}$  expuesto a largos periodos. Se conoce que las MCs pueden bioacumularse y biomagnificarse en las redes tróficas, para ello se han realizado numerosos estudios en peces detectándose la presencia de microcistina en músculos ante la exposición a periodos cortos (pocos días) como a periodos largos (meses) tal como lo refiere Chen *et al.* (2006), mientras que Prieto (2008) menciona que, el ingreso de la toxina microcistina a esos órganos podría deberse a la absorción a través del opérculo o por el epitelio intestinal, distribuyéndose a varios órganos o tejidos; por esta razón encuentra una mayor distribución de MC en aquellos órganos más irrigados como el hígado, riñón, intestino y opérculos.

La presencia de la microcistina principalmente en el tejido muscular en un pez de consumo humano como la “tilapia” genera un riesgo en la salud del hombre. La Organización Mundial de la Salud [OMS] (2006) otorga un valor de ingesta diaria (IDT) de  $0.04 \mu\text{g/kg/día}$ . Con los registros de la toxina presente en el músculo del pez ( $5 \mu\text{g/L}$ ) y teniendo en cuenta los valores de consumo per cápita para “tilapia” en la región San Martín, donde hay mayor producción y consumo de esta especie de  $18.6 \text{ kg/año}$  lo que equivale a  $50.9 \text{ g/día}$ , en caso estuviese contaminado con la toxina se estaría exponiendo a que se consuma  $2\,545 \mu\text{g/kg/día}$  (Ministerio de la producción [PRODUCE], 2015) valores altos y potencialmente tóxicos para el hombre por lo tanto resulta necesario realizar una evaluación total del ecosistema contaminado con floraciones algales para determinar el grado de toxicidad, tal como refiere Arzate (2008).

Estadísticamente se comparó mediante un análisis de varianza resultando una varianza significativa de  $p < 0.05$ , similar resultado a Atencio *et al.* (2008) que mostró los resultados de los pesos de los órganos y las actividades enzimáticas sometidas a un análisis de varianza



unidireccional (ANOVA) y representada la media  $\pm$  error estándar (EE) de ocho animales por grupo. Las diferencias en los valores medios entre los grupos se evaluaron mediante la prueba de Tukey y se consideraron estadísticamente diferentes de  $p < 0.05$ .

#### **4.3. Mortandad de los alevines de “tilapia” producidas por la exposición de *Microcystis aeruginosa* y la toxina MC en los diferentes tratamientos**

La investigación tuvo como principal objetivo evaluar la actividad toxigénica de la microcistina en “tilapia”, como resultado se obtuvo una alta concentración de toxina en el hígado y en el músculo de cada pez elegido al azar, causando la muerte del 100 % de peces para el tercer tratamiento que presentó una concentración de  $1.5 \times 10^7$  cel/ml de *M. aeruginosa* en el agua y 5 ppb = 5  $\mu\text{g/L}$  de la toxina microcistina en los órganos (hígado y tejido muscular) al culminar los 30 días de exposición. Prieto (2008) realizó la evaluación de la toxicidad de la microcistina en “tilapia”, exponiendo dosis de 500  $\mu\text{g/kg}$  = 500  $\mu\text{g/L}$  de MC por vía intraperitoneal en un periodo de siete días no encontrando peces muertos. De manera similar Abdel (2017) realizó un estudio para evaluar la exposición de la toxina MC en “tilapias” por tres semanas, aplicó por vía oral de 3 500  $\mu\text{g/g}$  de la toxina en el pez, al cuerpo de agua 500  $\mu\text{g/L}$  e inyección intraperitoneal a 200  $\mu\text{g/kg}$  = 200  $\mu\text{g/L}$ , obteniendo como resultados cambios en el comportamiento del pez sin presencia de mortandad. Además, Tencalla *et al.* (1994) en la investigación encontró que concentraciones de *M. aeruginosa* de  $1.2 \times 10^{11}$  cel/L =  $1.2 \times 10^8$  cel/ml no son tóxicas para las truchas (*Salmo trutta*) sin embargo, la concentración de toxina microcistina de 550  $\mu\text{g/kg}$  = 550  $\mu\text{g/L}$  tuvo resultados de 100 % de mortalidad en 96 horas de exposición. Malbrouck y Kestemont (2005) para el pez *Cyprinus carpio* con 130  $\mu\text{g/L}$  de toxina microcistina causó 100 % de mortandad y hubo alteraciones en su crecimiento a las 24 horas de exposición. La presencia de la toxina microcistina, liberada por la floración algal, genera efectos negativos en la fisiología del pez (alteraciones histopatológicas en hígado, riñón, branquias) que puede generar apoptosis o necrosis llegando hasta la mortalidad, tal como refiere Maridueña (2011) y Carvajal (2011).

## CAPITULO V: CONCLUSIONES

- En la presente investigación la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* se adaptó convenientemente al medio de cultivo BG11 al día 25, obteniendo una alta tasa de crecimiento.
- En el presente estudio la variabilidad del parámetro químico del pH pudo estar influenciada principalmente por la acumulación de desechos orgánicos y por los largos periodos de exposición a los que fueron sometidos, mientras que, la variación de oxígeno disuelto está atribuida a la descomposición de las cianobacterias presentes en las unidades experimentales que generan un consumo del oxígeno de este cuerpo de agua convirtiéndola en un recurso eutrofizado, sin embargo, los valores de OD encontrados no afectaron al crecimiento de la “tilapia” en el periodo evaluado, dado que esta especie tolera rangos bajos de oxígeno. Para los valores de microcistina presentes en agua tuvo un valor máximo de 10 ppb para T1, T2, y T3 en la última semana de estudio debido a que en los sedimentos de los peces también contiene la toxina y se seguía acumulando en el cuerpo de agua.
- Se observó que la toxina microcistina es bioacumulada en el hígado y músculo de la “tilapia” con una presencia del 100 %. El valor máximo de la concentración de la toxina fue de 5 ppb siendo superior a lo recomendado por la OMS de 0.04 µg / kg.

- En la presente investigación la presencia de la toxina microcistina, liberada por *M. aeruginosa*, generó una alta mortalidad en los peces del T3 (100 %) seguida de T2 (50%) y T1 (30 %), por lo que se corroboró la alta toxicidad de la microcistina al contacto con los peces.

## CAPITULO VI: RECOMENDACIONES

1. Se sugiere realizar una evaluación total del ecosistema contaminado con floraciones algales para determinar el grado de toxicidad.
2. Se recomienda evaluar la concentración de los nutrientes de nitrógeno y fosforo en el cuerpo de agua a estudiar, con la finalidad de relacionarla con el crecimiento de la floración algal.
3. Se recomienda realizar estudios histológicos para las muestras de peces presentes en un cuerpo de agua con microcistina.
4. Se sugiere evaluar métodos de control de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* en el humedal de Medio Mundo.
5. Se recomienda para futuras investigaciones en la zona considerar como tratamiento el agua en estado natural con la carga microbial que contenga en el momento de estudio.

## REFERENCIAS

- Abdel, H. (2017). Subchronic toxicity of nile “tilapia” with difference exposure routes to microcystis aeruginosa. *Veterinary world*, 10 (08), 955-963.
- Abraxis. (2019). Mycrocystin strip test. *Abraxis*. 10:1-2.
- Aguilera, A y Echenique, R. (2018). Consideraciones generales de cianobacteria: aspectos ecológicos y taxonómicos. Universidad Nacional de la Plata.
- Algae Base. (2018). Microcystis aeruginosa. *Abbildungen de tange*. Vol I. 1-8.
- Al-Kahtani, M. (2008). Physiological studies on “tilapia” fish influenced by the cyanobacterial toxin microcystin. *Journal of biological sciences*. 8 (7): 1226-1230.
- Álvarez, C. (2016). Determinación de detergentes en las aguas de los Pantanos de Villa. (Tesis de grado). Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima
- Arboleda, D. (2006). Limnología aplicada a la acuicultura. *Redvet: Revista electrónica de veterinaria*. (11):1-24.
- Arzate, M. (2008). *Detección de cianobacterias toxigénicas pertenecientes al género Microcystis mediante marcadores moleculares y ensayos biológicos* (Tesis de Maestría). Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. Recuperado de <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/4239/DETECCIONCIANOB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Arocena, R., Conde, D. (1999). Métodos en ecología de aguas continentales. Instituto de Biología-Sección Limnología, Montevideo
- Asencio, A. (2015). *Influencia de factores ambientales en la producción de microcistinas, un tipo de cianotoxinas, en Scytonema javanicum*. (Tesis de grado). Universidad Miguel Hernández. España. Recuperado de <http://dspace.umh.es/bitstream/11000/3447/1/G%C3%B3mez%20Peral%20Natalia%20TFGBiotec%202014-15.pdf>

Atencio, L ; Moreno, I y Prieto, A. (2008). *Acute Effects of Microcystins MC-LR and MC-RR on Acid and Alkaline Phosphatase Activities and Pathological Changes in Intraperitoneally Exposed "Tilapia" Fish (Oreochromis sp.)* (Tesis de grado) Universidad de Sevilla. Córdoba, España. Recuperado de <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0192623308315356>

Aznar, A. (2000). Determinación de los parámetros físico químicos de la calidad de agua. Universidad Carlos III. Madrid.

Bautista (2011). Calidad de agua para el cultivo de "tilapia" en tanques de geomembrana. *Revista Fuente*. 3(8) 1-14.

Benites, E., Calderón, H., Cotos, D. y Salvador, M. (2013). Factores abióticos y su influencia en la eutrofización estacional en las aguas de la laguna la encantada, año 2013. Repositorio Digital, Universidad José Faustino Sánchez Carrión, Huacho, Lima, Perú

Brennan, L., Owende, P., (2010). Biofuels from microalgae – a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14, 557–577.

Briand, J., Jacquet, S., Bernard, C. y Humbert, J. (2003). Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. *Vertebrate Research* 34:361377.

Cameán, A. (2006). *Toxinas cianofíceas, toxicología alimentaria*. Madrid: Ediciones Díaz de Santos.

Cabi. (2019). Invasive specie compendium. UK. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/72085#tosummaryOfInvasiveness>

Cabrera, M. (2019). *Identificación y caracterización ultraestructural de monogeneos presentes en las branquias de "tilapia" del nilo Oreochromis niloticus asociados a las lesiones histológicas procedentes de cultivos de la provincia de San Martin* (Tesis de grado). Universidad Cayetano Heredia, Perú. Recuperado de

[https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/7675/Identificacion\\_CabreraSoregui\\_Milagros.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/7675/Identificacion_CabreraSoregui_Milagros.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Cantoral, E; Dolores, A y Aboal, M. (2017). Cianotoxinas efectos sanitarios y medioambientales, medidas de prevención. *Hidrobiología*.27 (2):
- Carvajal, G. (2011). *Ocurrencia de floraciones de cianobacterias toxicas en cuerpos de agua dulce epa. acute to chronic estimation*. (Tesis de maestría). Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires, Argentina. Recuperado de [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2702/Documento\\_completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2702/Documento_completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). (2018). Histopatología: introducción. España. Recuperado de <https://www.cnio.es/es/news/newsletter.asp>
- Chen J Hu L.B., Zhou W., Yan S.H., Yang J.D., Xue Y.F. y Shi Z.Q (2010). Effects of temperature, ph and phosphorus on growth of *Microcystis aeruginosa*. School of life science. Nanjing University.
- Chen, J., Xie, P., Zhang, D., Ke, Z., Yang, H. (2006). In situ studies on the bioaccumulation of microcystins in the phytoplanktivorous silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) stocked in Lake Taihu with dense toxic *Microcystis* blooms. *Aquaculture*, 261: 1026–1038.
- Chellappa, N; Laxhmi, S y Chellappa, N. (2008). Harmfull phytoplankton blooms and fish mortality in a eutrophicated reservoir of Northeast Brazil. *Biology and technology*. 51(4): 833-841.
- Chiclla, A y Sánchez, H. (2018) Primer reporte de la presencia de *Microcystis aeruginosa* y la producción de microcistina en floraciones acuáticas del humedal de medio mundo-Huaura- Perú. V CONCIMAR.
- Chico, F. (2010). Caracterización a nivel de laboratorio de tres cianobacterias aisladas del área foliar de *Polylepis pauta* del páramo de papallacta mediante clave microscópica, tiempo de generación y producción de proteína según fuente de nitrógeno, luz y medio de cultivo. Universidad de las Américas. Chile.

- Chorus, I. y Bartram, J. (2001). Cyanotoxins: occurrence, causes, consequences. (Editor) Springer, Berlin, Germany.
- Chorus, Falconer y Salas (2004) Riesgos a la salud causados por cianobacterias y algas de agua dulce en aguas recreacionales. *Agencia Federal Ambiental*.
- Codd, G.; Morrison, L.; Metcalf, J. (2005). Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 203:264–272.
- Crettaz, M. (2018). *Estudio de crecimiento de Microcystis aeruginosa y producción de microcistina en cultivo de laboratorio* (Tesis doctoral). Universidad Nacional de La plata, Argentina. Recuperado de [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/83223/CONICET\\_Digital\\_Nro.06be5b5d-7b3b-4960-9aba-3982bebee388\\_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/83223/CONICET_Digital_Nro.06be5b5d-7b3b-4960-9aba-3982bebee388_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- Enciclopedia Colaborativa en la Red Cubana [ECURED]. (2018). Gónadas. Cuba. Recuperado de <https://www.ecured.cu/G%C3%B3nadas>
- Enciclopedia Colaborativa en la Red Cubana [ECURED]. (2018) Opérculos. Cuba. Recuperado de <https://www.ecured.cu/Op%C3%A9rculo>
- Fandos, P. (2015). Capacidad de carga, herbívora y equilibrio ecológico. IV Congreso Analuz de Caza.
- Fialkowsak & Pajdak-Stos (2002). Dependence of Cyanobacteria defense mode on grazer pressure. *Aquatic microbial ecology*. 27:149 – 157.
- Friedman, S. (2003). Current diagnosis and treatment in gastroenterology. *Lang Medical Books*. 2. 664-679
- García, S. (2005). Cianobacterias y cianotoxinas: impactos sobre la salud humana. *Toxicologia* (1) 1-34
- Gómez & Quesada (2011). Catálogo de cianobacterias planctónicas potencialmente tóxicas en aguas continentales españolas. Ministerio del Ambiente, medio rural y marino. España. (1) 1-86.



- GORE LIMA (Gobierno regional de Lima). (2014). Plan maestro Humedal de Medio Mundo. Recuperado de <http://siar.regionlima.gob.pe/sites/default/files/archivos/public/docs/plan-maestro-act-amm-1-30.pdf>
- Hernández, R; Fernández, C; Baptista, M. (2010). Metodología de la investigación (Quinta edición). Santa Fé, Mexico. Interamericana editores s.a.
- Herrera, N; Flores, M y Echevarr, L. (2015). Evaluación preliminar de la reducción de microcistina-LR en muestras de florecimiento a través de sistemas sedimentarios. *Revista internacional de contaminación ambiental*. 31(4): 188-499.
- Huang, Y & Chen, M. (2013). Variation of Dissolved Oxygen in the Experiments of Occurrence & Disappearance for Microcystis Bloom. *Elsevier*. 18: 559-566.
- Ibrahem, M; Khairy, H y Ibrahim, M. (2011). Laboratory Exposure of *Oreochromis niloticus* to Crude Microcystins (Containing microcystin-LR) Extracted from Egyptian Locally Isolated Strain (*Microcystis aeruginosa* Kutzing): Biological and Biochemical Studies. *Fish physiol Biochem*. 38:899-908.
- Industrias canarias del acuario sociedad anónima (ICASA). (2017). Guía práctica de iniciación al acuario. España.
- Instituto nacional de estadística e informática. (2000). Metodología para el cálculo de indicadores de mortalidad.
- Instituto nacional de estadística y censos (INEC). (2018). Definiciones. Recuperado de [https://www.inec.gob.pa/redpan/sid/glosario/WebHelp/Tasa\\_de\\_crecimiento\\_1.htm](https://www.inec.gob.pa/redpan/sid/glosario/WebHelp/Tasa_de_crecimiento_1.htm)
- Jos, A. (2005). Toxic cyanobacterial cells containing microcystins induce oxidative stress in exposed “tilapia” fish under laboratory conditions. *Aquatic toxicology*. 72, 261-271.
- Kamogae, M; Hiromi, E; Millet, A y Yoko, E. (2008). Detection of microcystin in “tilapia” exposed to *Microcystis aeruginosa*. *Ciencias agrarias – Londrina*. 28 (3): 427-436.
- León (2013). Floraciones algales de agua dulce: cianobacterias, cianotoxinas y su relación con la salud. *Revista UDELAR*. 115-132.

- Lucena, E. 2008. Aspectos sanitarios de las cianotoxinas. *Higiene y Sanidad Ambiental* 8: 291-302.
- Luchini, L. (2006). "Tilapia": su cultivo y sistemas de producción. *Dirección de Acuicultura*. (1)1-14.
- Malbrouck y Kestemont. (2005). Effects of microcystin on fish. *Revista Environ toxicol Chem*.
- Maridueña, A. (2011). Mortandad de peces en la laguna de Yahuarcocha, Cantón Ibarra, Provincia de Imbabura. *Boletín Especial*. 02(1) 1-128
- Martínez, P. (2018). *Evaluación del potencial alelopático de la pajilla de arroz en el control de todas las floraciones algales producidas por Microcystis aeruginosa Kützing* (Tesis de grado). Universidad Católica Sedes Sapientiae, Huacho, Perú. Recuperado de [http://repositorio.ucss.edu.pe/bitstream/handle/UCSS/506/Martinez\\_Pedro\\_tesis\\_bachiller\\_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ucss.edu.pe/bitstream/handle/UCSS/506/Martinez_Pedro_tesis_bachiller_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Mazur, H. y Plinski, M. (2001). Stability of cyanotoxins, Microcystin-LR, Microcystin- RR and Nodularin in Seawater and BG-11 Medium of Different Salinity. *Oceanologia* 43:329-333
- Merriam Webster Dictionary, (2019). *Toxin*. Recuperado de <https://www.merriam-webster.com/dictionary/toxin>
- Minam (Ministerio del Ambiente). (2014). Métodos de colecta, identificación, y análisis de comunidades biológicas. Recuperado de <http://www.minam.gob.pe/diversidadbiologica/wp-content/uploads/sites/21/2014/02/M%C3%A9todos-de-Colecta-identificaci%C3%B3n-y-an%C3%A1lisis-de-comunidades-biol%C3%B3gicas.compressed.pdf>
- Minam (Ministerio del ambiente). (2015). Estrategia nacional de los Humedales. Recuperado de <https://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2015/01/Anexo-Decreto-Supremo-N%C2%B0-004-2015-MINAM2.pdf>
- Ministerio de la producción (PRODUCE). (2015). Reporte informativo San Martín. Recuperado de <https://www.acomerpescado.gob.pe/wp-content/uploads/2017/04/Reporte-Informativo-2015-San-Mart%C3%ADn.pdf>

- Molina R, Moreno I, Pichardo S, JosA, Moyano R, Monterde JG, Cameán A (2005) Acid and alkaline phosphatases activities and pathological changes induced in “Tilapia” fish (*Oreochromis* sp.) exposed subchronically to microcystins from toxic cyanobacterial blooms under laboratory conditions. *Toxicon* 46: 725-735
- Moreno, I; Molina, R ; Jos, A; Picó, Y y Cameán, A. (2005). Determination of microcystin in fish by solvent extraction and liquid chromatography. *Journal of chromatography* .199-203.
- Mosterín, J. (2011). Filosofía y Ciencia. *Fondo Editorial Universidad Inca Garcilazo de la Vega*. 3(1), 97-108 Recuperado de <http://www.librosperuanos.com/editoriales/detalle/431/Universidad-Inca-Garcilazo-de-la-Vega>
- Oberholster, P, Botha A y Grobbelaar, J. (2004). *Microcystis aeruginosa*: source of toxic microcystins drinking water. *African Journal of Biotechnology*.3 (3) 159-168.
- Organización mundial de la salud (OMS). (2006). Guías para la calidad de agua potable. 3(3): 1-408.
- Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). (2018). Programa de información de especies acuáticas: *Oreochromis niloticus*. Recuperado de [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis\\_niloticus/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/es)
- Organización de las naciones unidas para la alimentación y agricultura (FAO). (2019). Transporte de peces vivos. Recuperado de [http://www.fao.org/fishery/static/FAO\\_Training/FAO\\_Training/General/x6709s/x6709s14.htm](http://www.fao.org/fishery/static/FAO_Training/FAO_Training/General/x6709s/x6709s14.htm)
- Parra,O y Almanza, V. (2010).Taxonomía y morfología de los principales géneros y especies productoras de toxinas. Recuperado de <http://www.eula.cl/fonis/wp-content/uploads/2014/06/OParra-VA-tarde-10-oct.pdf>

- Park, H; Ozawa, K y Fujioka, H. (2004) Spatial distribution and temporal variation of *Microcystis* species composition and microcystin concentration in lake biwa. *Toxicon* 1(10). 320-8621.
- Paván, R; Píres, O y Grisolia, C. (2011). Genotoxicity in *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) induced by *Microcystis* spp bloom extract containing microcystins. *Toxicon*, 259-264.
- Pérez, V. (2019). *Desarrollo y Validación de métodos sencillos y rápidos para cianotoxinas en el monitoreo ambiental* (Tesis doctorado). Universidad de la República Uruguay. Recuperado de <http://riquim.fq.edu.uy/archive/files/4d5cb8350090ce2b7c8675f72c5efd7e.pdf>
- Prado, J. (2018). *Análisis comparativo de las operaciones turísticas pública y privada en el área de conservación regional Albufera De Medio Mundo, Lima* (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3756/prado-alvarado-jimena-estefania.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Prieto, A; Jos, A ; Moreno, S; Cameán, A. (2006). Differential oxidative stress reponses to myrocistin RR and LR in intraperitoneally exposed “tilapia” fish. *Aquatic toxicology*, 314-321.
- Prieto, A., Atencio, L., Puerto, M., Pichardo, S., Moreno, I. y Cameán, A. (2008). Efectos tóxicos producidos por las microcistinas en peces. *Revista de Toxicología*, 25(1), 22-31.
- Quiroz, R. (2019). *Evaluación de los estados tróficos de la laguna principal del área de conservación regional Albufera de Medio Mundo, Huaura – Lima* (Tesis de grado). Universidad Católica Sedes Sapientiae. Recuperado de [http://repositorio.ucss.edu.pe/bitstream/handle/UCSS/649/Quiroz\\_Rhoydi\\_tesis\\_bachiler\\_2019.pdf?sequence=5&isAllowed=y](http://repositorio.ucss.edu.pe/bitstream/handle/UCSS/649/Quiroz_Rhoydi_tesis_bachiler_2019.pdf?sequence=5&isAllowed=y)
- Real Academia Española [RAE] (2017). Biomasa. Recuperado de <http://dle.rae.es/?id=5YtOE4H>
- Repetto, M. (2012) *Toxicología alimentaria*. Madrid, España. Editorial Díaz de Santos.

- Rosales, S. (2009). Cultivo de “tilapia” a alta densidad en modulos flotantes, con énfasis en buenas prácticas de producción acuícola para la inocuidad alimentaria y para la generación de un producto de calidad. *ASTILAPIA*. (1) 2-98.
- Ruiz, B y Zafra, A. (2008). *Impacto antrópico sobre los humedales del Paraíso, Medio Mundo y La Encantada, Huaura, Lima, Perú* (Tesis doctoral). Universidad Nacional de Trujillo, Perú. Recuperado de <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/5399>
- Saavedra, M. (2006). Manejo del cultivo de “tilapia”. *USAID*. (1) 1 -24.
- Sánchez, H; Ogura, A; Chiclla, A y Álvarez,J.(2018). Impacto de la cianotoxina microcistina en el agua y en poblaciones de “tilapia” presentes en Laguna Encantada. Libro de Resúmenes VI CONCIMAR. UCSS, Huacho, Perú.
- Sánchez, H. (2014). Cultivo de *Spirulina platensis* (Gomont) Geitler en Fast Biol T20 para la obtención de biomasa como fuente alternativa de proteína. Lima.
- Stanley, E. (2007). Introducción a la química ambiental. *México: Editorial Reverte*. 1 (2) 55-62  
Recuperado de: <https://books.google.com.pe/books?id=5NR8DIk1n68C&pg=RA5-PA12-IA6&dq=cianobacterias+y+toxinas&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjCLOXRlnqAhWvGrkGHeWQCSYQ6AEwAXoECAMQA#v=onepage&q=cianobacterias%20y%20toxinas&f=false>
- Siromba, M. (2015). Aspectos Ecológicos de Humedales: Un enfoque funcional. *Revista ResearchGate*. (2) 155-185.
- Schmidt, J. (2013). Variations in the microcystin content of different fish species collected from a eutrophic lake. *Toxins*, 5(5), 992-1009.
- Soares, R. (2004). Accumulation and depuration of microcystin in “tilapia” *rendalli* under laboratory condition. *Aquatic toxicology*. (1) 1 – 10.
- Tencalla, F.G., Dietrich, D.R., Schlatter, C., 1994. Toxicity of *Microcystis aeruginosa* peptide toxin to yearling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* 30, 215–224.

Universidad de Valencia. (1999). Liofilización. Recuperado de <https://www.uv.es/~mbermejo/Freeze-Drying.pdf>

Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). (2014). Métodos de colecta, identificación y análisis de comunidades biológicas.

Vidal, L., Pérez, M. del C. (2009). Capítulo 9, Parte III-Identificación. Claves taxonómicas. En Bonilla. Cianobacterias Planctonias del Uruguay, UNESCO. 41-44.

Wu, M; Huang S; Zang, C; Du, S & Scholz, M. (2011). Release of nutrient from fish food and effects on *Microcystis aeruginosa* growth. *Aquaculture research*. 43 (10): 1460-1470.

Zafra, A; Dávila, A y Vela, A. (2019). Conversión y eficiencia alimenticia de *Oreochromis aeneus* con diferente alimento balanceado en sistema cerrado. *Arnaldoa*. 26(2):815-826.

Zambrozi, C. (2012). Biochemical and genetic alterations in the freshwater neotropical fish after acute exposure to *microcystis aeruginosa*. *Neotropical Ichthyology*, 10(3), 1676-622

Zhao, M; Xie, S; Zhu, X; Yang, Y; Gan, N y Song, L. (2006). Effect of dietary cyanobacteria on growth and accumulation of microcystin in Nile “tilapia”. *Aquaculture* 261. 960-966

## TERMINOLOGÍA

- a. **Biomasa:** Materia total de los seres que viven en un lugar determinado expresada en peso por unidad de área o volumen o materia orgánica originada en un proceso biológico espontáneo o provocado (Real Academia Española [RAE] ,2017).
- b. **Biota:** Conjunto de organismos vivos, como plantas, animales y otros organismos que ocupan un área determinada (Mosterín, 2011).
- c. **Bloom:** Floración, es el resultado visible de la multiplicación y acumulación de organismos del fitoplancton que pueden causar eutrofización, falta de movilidad de agua, entre otros (ECURED, 2018).
- d. **Efecto hepatotóxico:** Es el daño funcional o anatómico del hígado inducido por ingestión de compuestos químicos u orgánicos. Puede ser causada por elementos naturales, remedios caseros o industriales, entre otros (Friedman, 2003).
- e. **Gónadas:** Son glándulas del sistema endocrino y sistema reproductivo del cuerpo, son los testículos en el hombre y ovarios en las mujeres, produce los gametos o células sexuales (Enciclopedia Colaborativa en la Red Cubana [ECURED], 2018).
- f. **Histopatología:** Es la rama de la patología que trata el diagnóstico de enfermedades a través del estudio de los tejidos, observando las células interiormente y otros corpúsculos, relacionándose con la bioquímica y la citología (Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas [CNIO], 2018).
- g. **Liofilización:** Proceso de deshidratación usado para conservar un material, funciona congelando el material y luego reduciendo la presión circundante para permitir que el agua se sublime directamente desde la fase sólida a la fase gaseosa, sin pasar por el estado líquido (Universidad de Valencia, 1999).

- h. Opérculos:** Aleta de hueso que protege y cubre las branquias de los peces, entre la cabeza y el tronco (ECURED, 2018).
  
- i. Toxinas:** Productos o componentes venenosos creados por animales, plantas, bacterias u otros organismos biológicos que pueden causar daño cuando entran en contacto o son absorbidos por tejidos del cuerpo (Merriam, 2019)
  
- j. Florecimiento algal:** las floraciones algales o blooms son sucesos donde los microorganismos se multiplican y acumulan presentando un aumento significativo de la biota en horas o días; son eventos que ocurren naturalmente en los cuerpos de agua marinos, salobres o dulceacuícolas; sin embargo, a veces florecen algunas especies de fitoplancton que son capaces de originar mortalidad de peces y contaminarlos con toxinas que causan serios problemas a la salud humana o alteran a los ecosistemas, estos eventos la comunidad científica decidió llamar “*Florecimientos de Algas Nocivas*” (León, 2013).



## APÉNDICES

### Apéndice 1. Metodología para medir la toxina microcistinas con la prueba abraxis

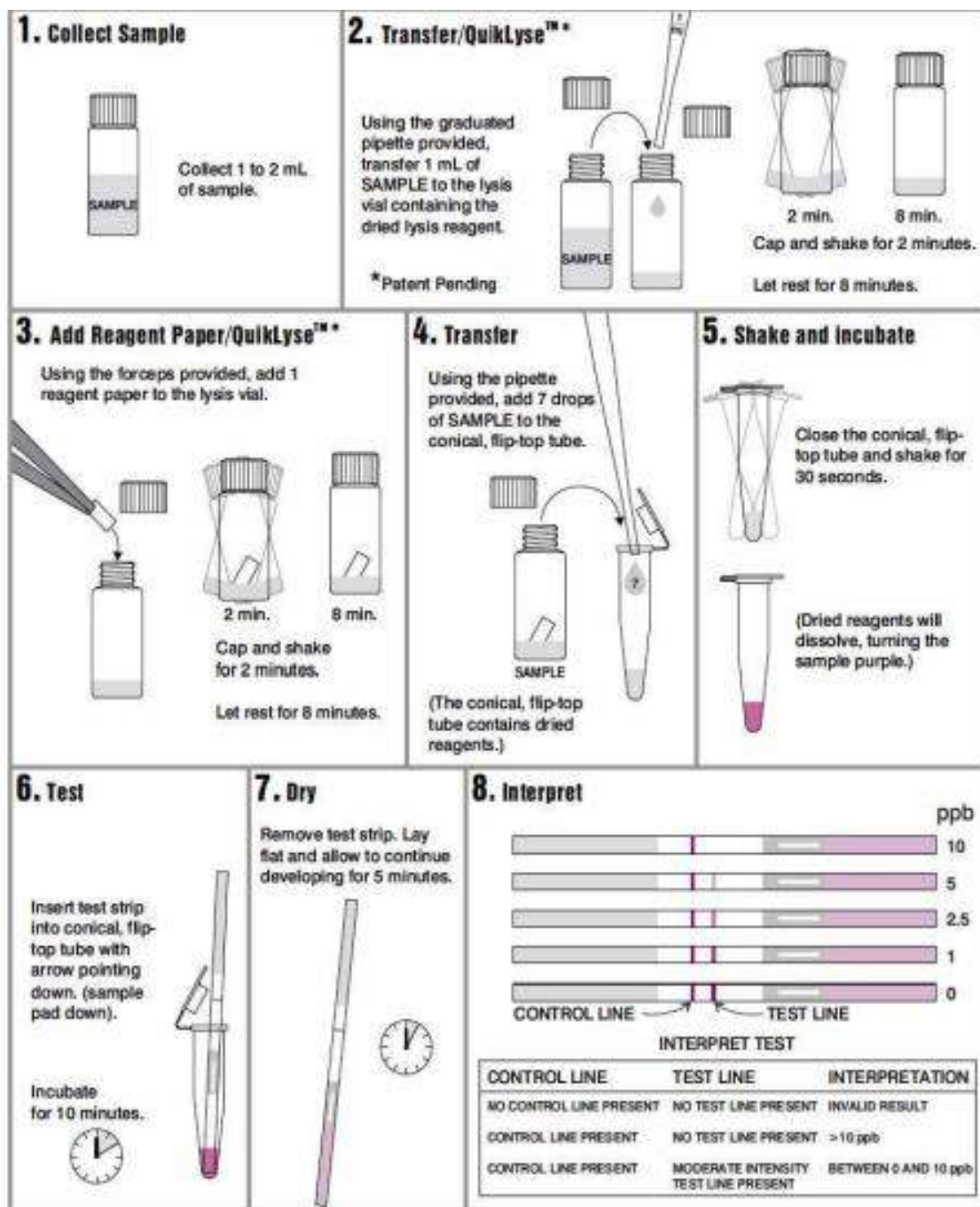


Figura 18. Microcystin strip test recreational water. Fuente: Abraxis (2019).

Apéndice 2. Curva de dispersión y recta de regresión entre el número de colonias y días transcurridos.

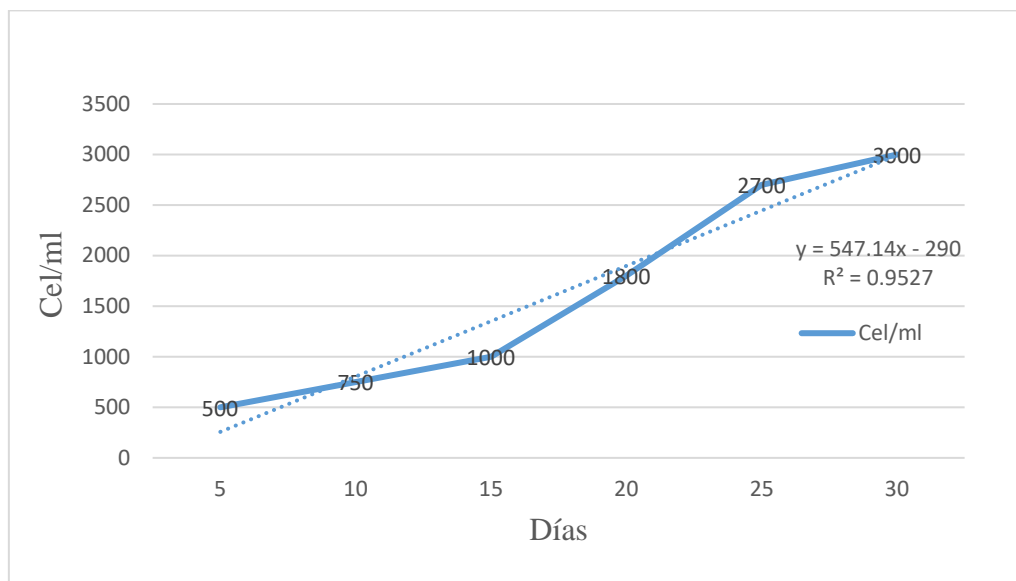


Figura 19. Diagrama de dispersión y recta de regresión entre el número de colonias y días transcurridos ( $r = 0.9527$ ). Fuente: Elaboración propia. X: Colonias de *Microcystis aeruginosa* (cel/ml), Y= Días transcurridos en el medio BG11

Apéndice 3. Probabilidad de efectos agudos relacionados a cianobacterias.

**Tabla 30**

*Probabilidad relativa de los efectos agudos de la salud para aguas recreacionales*

Probabilidad de efectos a la salud	Cianobacterias (Cel/mL)	Clorofila a ( $\mu\text{g/L}$ )	Nivel estimado de microcistina ( $\mu\text{g/L}$ )
Bajo	< 20 000	<10	< 10
Moderado	20 000 – 1 000 000	10 – 50	10 – 20
Alto	>100 000 – 10 000 000	50 – 5 000	20 – 2 000
Muy Alto	>10 000 000	> 5 000	>2 000

*Fuente: Prieto et al. (2008.)*

Apéndice 4. Casos de intoxicación por presencia de la toxina microcistina

**Tabla 31**

*Casos humanos de exposición a cianotoxinas*

<b>Ruta de exposición</b>	<b>Daño</b>	<b>Localización</b>	<b>Casos</b>	<b>Toxinas presentes</b>	<b>Síntomas</b>
<b>Agua de bebida</b>	1975	EE.UU	5 000	No analizada	Gastroenteritis
	1979	Australia	149	Cilindrospermopsina	Gastroenteritis, daño en el riñón, daño hepático e intestinal
	1981	Australia	25 000 personas	Microcistina	Daño hepático
	72-90	China	Análisis estadístico	Microcistina	Cáncer al hígado
	1988	Brasil	2 000 incluyendo muertos	No analizado	Gastroenteritis
	1994	Suecia	500	Microcistina	Gastroenteritis, daño muscular, fiebre
<b>Aguas recreativas</b>	1989	Escocia	10	Microcistina	Gastroenteritis, garganta irritada, ampollas en la boca, dolor abdominal, vómitos
	1995	Australia	777	Hepatotoxinas	Gastroenteritis, síntomas similares a la gripe, llagas en la boca, fiebre, dolor de cabeza
	1996	Escocia	11	Microcistinas	Erupción, fiebre

Fuente: Prieto et al. (2008.)

Apéndice 5. Parámetros fisicoquímicos del Humedal de Medio Mundo.

**Tabla 32**

*Parámetros fisicoquímicos del agua del Humedal de Medio Mundo*

Punto	Coordenadas		Profundidad de muestreo (cm)	TDS (m)	Oxígeno disuelto (mg.L <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	Conductividad (μS.cm <sup>-1</sup> )	pH	Fosfatos (mg.L <sup>-1</sup> )	Nitrógeno total (mg.L <sup>-1</sup> )
	Este	Norte								
P1	209092	8789563	0	0.15	3.6	26.70	5380.00	7.50	0.13	4.28
P2	209277	789721	0	0.12	3.74	27.80	5420.00	5.50	0.13	7.67
P3	209336	8789835	0	0.15	3.71	25.40	3660.00	8.50	0.10	3.60
P4	209297	8790117	0	0.21	3.70	25.90	4320.00	8.50	0.10	5.61
P5	209193	8790071	0	0.13	4.30	25.50	5220.00	8.80	0.14	4.54
P6	20888	8789971	0	0.15	4.28	24.30	5400.00	8.60	0.13	11.58
P7	208661	8790394	0	0.16	4.40	25.20	5370.00	8.60	0.12	8.86
P8	208690	8790448	0	0.13	4.55	25.10	5420.00	8.60	0.11	4.41
P9	208732	8790512	0	0.14	4.83	25.50	5420.00	8.80	0.11	7.19
P10	208573	8791095	0	0.15	4.80	25.00	5520.00	8.70	0.13	15.3
P11	208479	8791064	0	0.16	3.90	25.70	5350.00	8.10	0.11	4.27
P12	208377	8791023	0	0.14	4.10	25.70	5350.00		0.12	4.01
P13	207841	8791888	0	0.17	5.63	24.00	5620.00		0.13	3.75
P14	207939	8792052	0	0.14	5.15	25.00	5470.00		0.13	3.64
P15	208112	8792268	0	0.17	5.80	26.30	5600.00		0.10	4.47
P16	207231	8792795	0	0.13	4.20	26.40	5500.00		0.11	3.69
P17	207330	8792870	0	0.12	4.67	25.60	5350.00		0.16	4.69

*Fuente:* (Quiroz, 2019).

Apéndice 6. Método para transporte de peces vivos

**Tabla 33**

*Método de transporte de peces vivos, donde A: alevín; J: juvenil, R: reproductor, M: pez de mesa*

Contenedor de transporte	Tipo de pez	Distancia y/o duración de transporte				Sección
		Muy corta	Corta	Media	Largo	
Bolsa/hamaca para reproductor	R	X				141
Pequeños contenedores	J	X	X	X	-	142
Hamaca/ batea	RJM	X	X	(X)	-	143
Bidón de metal de 200 L	JM	X	X	(X)	-	144
Tanque con agitador	RJM	X	X	X	-	145
Tanque con aireación	RJM	X	X	X	-	145
Tanque con oxigenación	RJM	-	X	X	X	145
Bolsa de plástico sellada	JA	-	-	X	X	146

Fuente: (FAO, 2019)

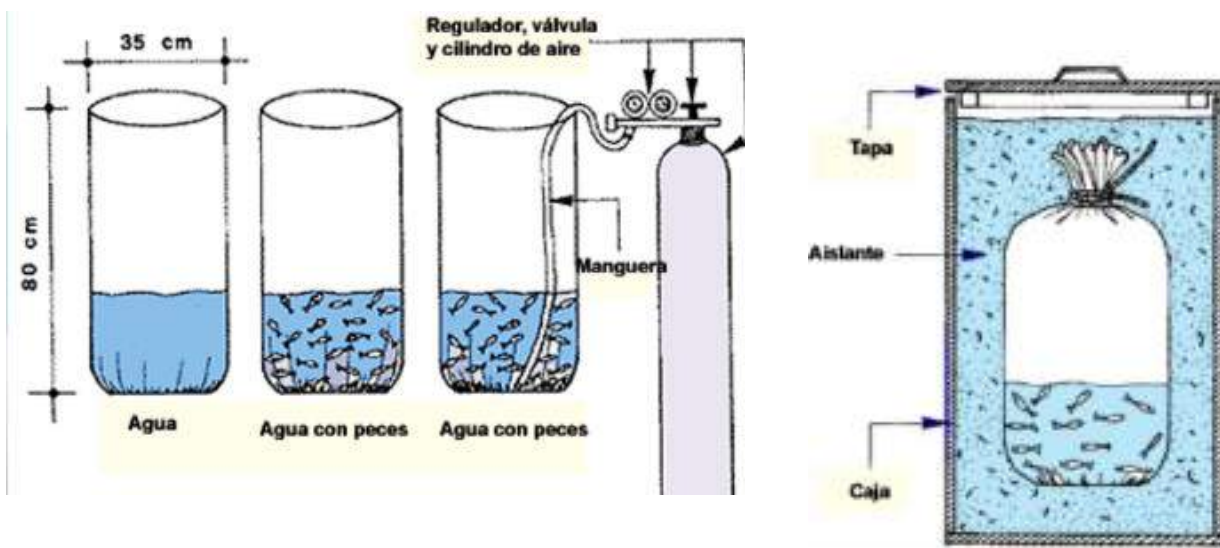


Figura 200. Método para transporte de peces vivos. Fuente: (FAO, 2019)

Apéndice 7. Registro fotográfico de la investigación



*Figura 211.* Recolección de cianobacterias del Humedal de Medio Mundo. *Fuente:* Elaboración propia.



*Figura 222.* Identificación y cultivo de *Microcystis aeruginosa*. *Fuente:* Elaboración propia.



*Figura 233.* Monitoreo semanal de las unidades experimentales. *Fuente:* Elaboración propia.



*Figura 244.* Sacrificio de las “tilapias” después de 30 días de exposición a la toxina microcistina. Corte axial del pez “tilapia”. *Fuente:* Elaboración propia.





*Figura 255.* Resultados del Kit fresh water strip test para Microcistina evaluados en órganos (hígado y músculo) de cada pez “tilapia” y en agua de cada tratamiento. *Fuente:* Elaboración propia.