

“Intensa Proliferación de Cianobacterias en el Lago de Coatepeque, Santa Ana; ensayos de toxinas paralizantes y organismos causantes”

Espinoza Navarrete J. J.

Profesor Laboratorio de Toxinas Marinas de la Universidad de El Salvador. E-mail: jjjaen@gmail.com

Amaya Monterrosa O. A.

Profesor Escuela de Física. Coordinador Laboratorio de Toxinas Marinas de la Universidad de El Salvador. E-mail: oscar.amaya@ues.edu.sv

Rivera Torres W. E.

Auxiliar de Investigación Laboratorio de Toxinas Marinas de la Universidad de El Salvador. E-mail: wert_1_05@hotmail.com

Ruíz Rodríguez G. A.

Investigador Laboratorio de Toxinas Marinas de la Universidad de El Salvador. E-mail: proggerardo@gmail.com

Escobar Muñoz J. D.

Auxiliar de Investigación Laboratorio de Toxinas Marinas de la Universidad de El Salvador. E-mail: kla_1987@hotmail.com

Resumen.

Investigadores de Laboratorio de Toxinas Marinas de la Universidad de El Salvador (LABTOX-UES), monitorearon el fenómeno natural aparecido en el Lago de Coatepeque en septiembre de 2012, el cual causó un inusual color turquesa en el espejo de agua, y generó alarma entre la población. Desde el 14 de septiembre se incrementaron los muestreos en cinco estaciones cubriendo todo el Lago de Coatepeque, se colectaron muestras de microalgas en la columna de agua seguida de medición de parámetros Físicos, Químicos y Biológicos. La proliferación de cianobacterias nocivas o tóxicas inició desde el 9 de septiembre y se debió a las altas densidades de la especie denominada *Microcystis aeruginosa* alcanzando un valor máximo de 130x10³ células/ml en los puntos muestreados. La coloración del agua del Lago se debió a la pigmentación de este microorganismo. Algunos genotipos de esta especie son considerados tóxicos, se realizaron análisis de toxinas paralizantes en “Cianobacterias” y “Peces”, colectados en el Lago de Coatepeque. No se detectó evidencia de saxitoxinas en ninguna de las muestras analizadas. El papel de las cianotoxinas es un tema de mucha importancia a nivel mundial, se desconoce los cambios de toxicidad entre las especies de cada cepa, en El Salvador se debe investigar integralmente las cianobacterias en cuerpos de agua.

Introducción.

Las cianobacterias organismos procariontes que pertenecen al *Phylum Cyanobacteria* son conocidas también como cloroxibacterias, algas verde-azules, o cianofíceas (Graham & Wilcox, 2000). Estas generan cianotoxinas cuyos efectos en animales, principalmente, son bien conocidos, aunque su comportamiento en el ambiente acuático no está completamente comprendido. Además de poseer clorofila a, algunas poseen ficobilinas entre otros pigmentos proteicos, que les permite absorber espectros de luz de mayor longitud de onda y son capaces de fijar nitrógeno, entre otras características. Estos organismos fotosintéticos colonizan desde océanos, ríos, lagos, pozas termales, etc. Se han encontrado cianobacterias en microfósiles preservados en yacimientos muy antiguos en nuestro planeta, con una edad estimada de 3465 Millones de años (Schopf, 1993), se les atribuye la responsabilidad de haber generado una atmósfera oxidante a través de la fotosíntesis permitiendo la vida de muchos otros organismos (UNESCO, 2009).

En septiembre de 2012 en el Lago de Coatepeque, concurrieron diferentes factores que permitieron proliferar cepas tóxicas de cianobacterias, de forma predominante *Microcystis aeruginosa* y escasamente *Oscillatoria limosa*, causando un

desequilibrio ecológico en este ambiente limnológico; desde el punto de vista de salud pública el papel de las cianotoxinas es un tema de mucho interés a nivel mundial, puesto que muchas especies de cianobacterias pueden sintetizar una gran variedad de toxinas que son capaces de causar la muerte en seres humanos.

Esta es la principal razón por la que el Laboratorio de Toxinas Marinas de la Universidad de El Salvador (LABTOX-UES) mantiene un programa de monitoreo permanente en la zona marino-costera y en algunos lagos de El Salvador. El objetivo principal del programa es salvar vidas humanas, generando oportunamente, información científica y buscando constantemente métodos que permitan establecer la ausencia o presencia de toxina paralizante, cuantificarla y establecer alertas cuando se encuentren niveles de toxinas sobre el nivel regulatorio que podrían poner en riesgo la salud de la población usuaria de los cuerpos de agua de El Salvador y sus recursos asociados.

Desde el 2009 se ha implementado el LABTOX-UES con la cooperación de la Naciones Unidas, cuenta con tecnología especializada para la identificación y cuantificación de microalgas tóxicas, y se han desarrollado métodos precisos para determinar la concentración analítica de toxinas paralizantes.

Metodología.

En el mes de septiembre de 2012, se generó alarma entre los pobladores y usuarios del Lago de Coatepeque, medios de comunicación e instituciones de gobierno mostraron interés y necesidad de dar respuesta inmediata al fenómeno, el agua del lago cambió a un color turquesa intenso, en todo el espejo de agua, así mismo determinar los posibles problemas de salud que podría generarse en los habitantes de la zona. El LABTOX-UES, y otras Instituciones en coordinación con el Sistema de Protección Civil formaron una mesa técnica permanente durante persistía el evento, dos muestreos fueron realizados el 14 y 18 de septiembre. Con un GPS map 76CSX, se estableció un transepto sobre el cual se ubicaron 5 estaciones de muestreo (Figura 1). En cada estación se realizó arrastres verticales con una red de tamaño de poro de 20 micrómetros, las muestras se fijaron en formaldehído y trasladadas al LABTOX-UES para su identificación taxonómica, se utilizó un microscopio Carl Zeiss AXIO IMAGER M1 con contraste de fases, campo claro y campo oscuro. Una botella Niskin de 10 Litros para muestra de agua en los primeros 5m de profundidad en cada estación; las cianobacterias fueron

cuantificadas por medio del método Utermöhl, utilizando un microscopio invertido Carl Zeiss AXIOVERT 40 CFL (Fig. 2). Parámetros Físicos-Químicos fueron tomados utilizando un multiparámetros HACH ION 56.

Analisis de toxinas.

Muestras de 24 peces *Parachromis motaguense* fueron separadas en tallas de 9-10cm y 15cm, seleccionando tejidos y vísceras; 50 litros de agua filtrados con red Nytex de 10 y 20 μm de poro; luego pasados por un filtro de fibra de vidrio entre 0.6-0.8 μm de tamaño de poro, marca Whatman. Las muestras fueron extraídas al combinar y homogenizar un peso entre 1-2 gramos, con tres volúmenes de ácido clorhídrico al 0.1N. El pH de la mezcla fue medido y ajustado a un valor entre 3.0 y 4.0. Las muestras homogenizadas fueron sometidas a ebullición por diez minutos y luego enfriadas a temperatura ambiente. Estos extractos fueron centrifugados a 3400 x g; el sobrenadante fue colectado y filtrado por jeringa. (0.45 μm). Los extractos acuosos fueron analizados en un ensayo receptor-ligando de saxitoxina, el ensayo receptor-ligando (RBA) mide la competencia entre la STX radiomarcada y la muestra ó estándar de la FDA (S. Hall, USFDA/CFSAN, Washington, DC) para ligarse a los canales de sodio, dependientes de voltaje, el blanco farmacológico de STX, para determinar la actividad total parecida a la saxitoxina de la muestra, tabla I.

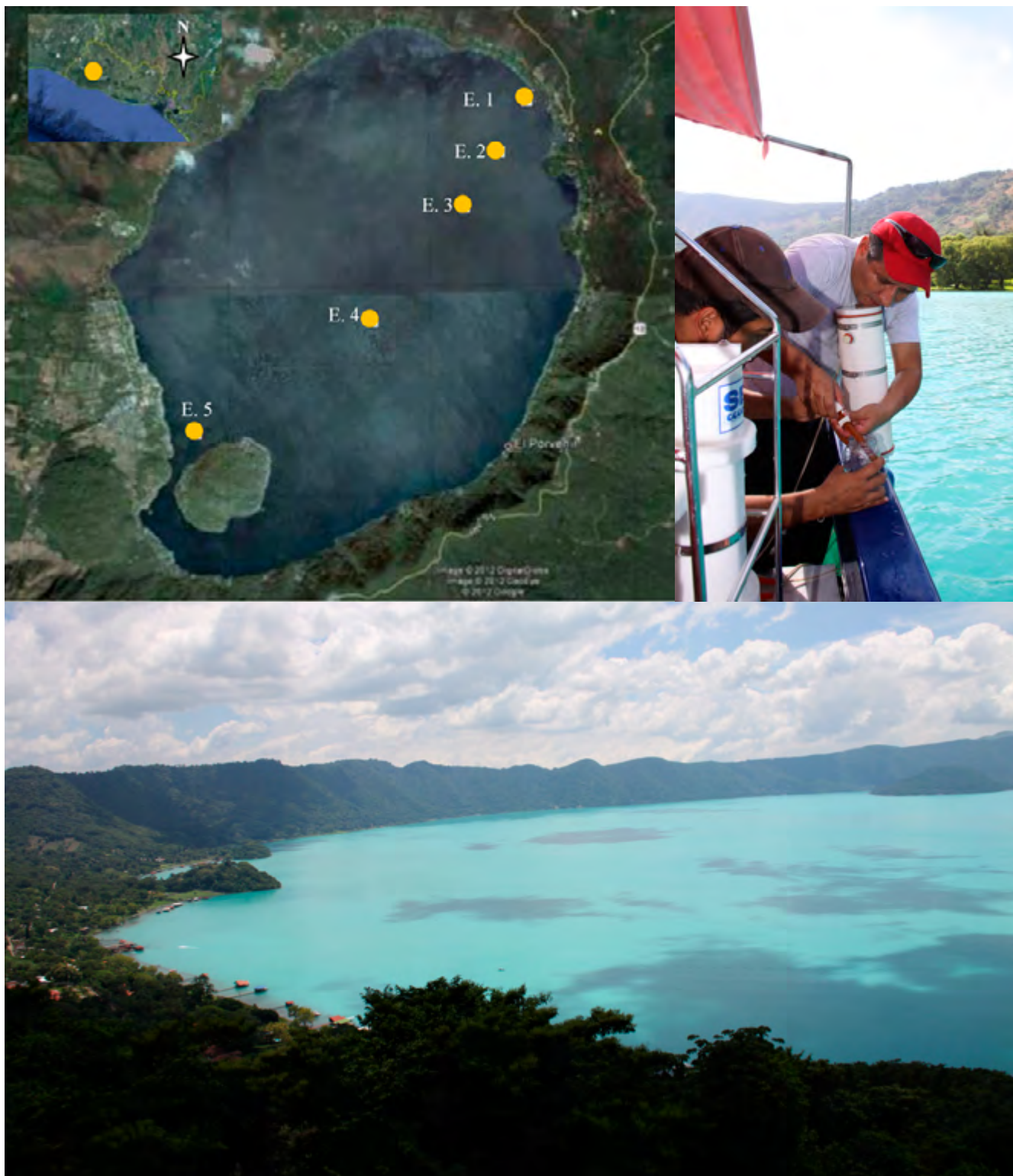


Figura 1. Estaciones de muestreo establecidas por el LABTOX-UES, Lago de Coatepeque, departamento de Santa Ana, Occidente de El Salvador. Muestreos realizados el 14 y 18 de Septiembre de 2012. Fotos cortesía de la Secretaría de comunicaciones de la UES.

Resultados.

El LABTOX-UES, identificó a la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* como la causante de la coloración turquesa en el espejo de agua del Lago de Coatepeque (Fig. 2), situación que estaba ocurriendo desde el 9 de septiembre de 2012. La distribución de cianobacterias se encontró en un rango de concentración de 10×10^3 a 60×10^3 células/mL en las estaciones E1 a E3. La mayor concentración se determinó hacia la parte suroeste del lago, en las estaciones E4 y E5, con una densidad celular promedio de 130×10^3 células/mL. Una temperatura máxima de 28.6 °C fue registrada en los sitios muestreados,

La Organización Mundial de la Salud (OMS) establece un nivel de referencia para agua bebible de 1µg/L de microcistina, esta es la toxina que genera la cianobacteria *Microcystis aeruginosa*. A nivel de biomasa ha fijado un valor de referencia de 20,000 células por mL. En este estudio no se realizaron análisis de cianotoxinas, por carecer de medios para hacerlo.

No se detectó evidencia de saxitoxina en las muestras analizadas. Los límites de detección del ensayo, fueron 8.79 µg de equivalentes de STX por 100 gramos de muestra extraída y 1386 µg de equivalentes de STX por 100 gramos de muestra (Tabla I).

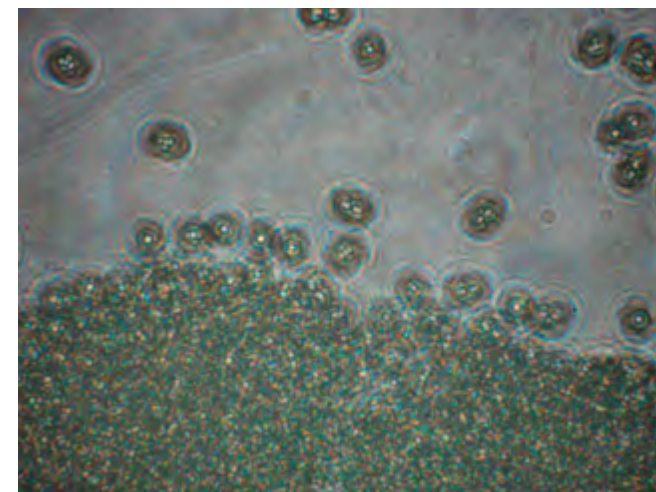
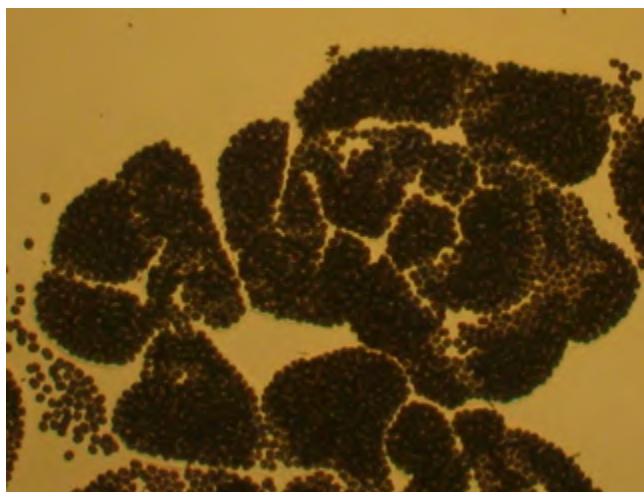


Figura 2. Cianobacteria, *Microcystis aeruginosa*, causante de la coloración en el Lago de Coatepeque. Imágenes LABTOX-UES. Septiembre de 2012.

Nº	Tipo de Muestra	Especie (común)	Fecha de Análisis	STX (µg/100g)
1	Tejido	<i>Parachromis motaguense</i>	18/09/12	<dl
2	Vísceras	<i>Parachromis motaguense</i>	18/09/12	<dl
3	Vísceras	<i>Parachromis motaguense</i>	18/09/12	<dl
4	Filtrado de agua 10µm, superficie	Cianobacterias	18/09/12	<dl
5	Filtrado de agua 10µm, fondo	Cianobacterias	18/09/12	<dl
6	Filtrado de agua 20µm, superficie	Cianobacterias	18/09/12	<dl
7	Filtrado de agua 20µm, fondo	Cianobacterias	18/09/12	<dl

Tabla I. Concentraciones de toxinas paralizantes (µg/100g), determinadas por el ensayo ligando Receptor (RBA). Los análisis se realizaron en pescado y agua del Lago de Coatepeque, Santa Ana. (<dl) abajo del límite de detección. LABTOX-UES, septiembre de 2012.

Parámetros Físicos y Químicos	Sitio 2 N13°53'08,8" WO89°32'52,5" 13:15	Sitio 3 N13°52'22,6" WO89°32'08,7" Hora 16:12	Sitio 4 N13°51'07,8" WO89°33'24,1" Hora 16:32
Turbidez (m)	1,65	1,40	1,44
Temperatura (°C)	28,6	28,5	28,3
Salinidad (ppt)	0,9	0,9	0,9
Conductiv (μS/cm)	1887	1975	1877
TDS (mg/L)	876	921	879

Tabla II. Parámetros Físicos y Químicos registrados en los sitios de muestreo el día 14 de septiembre en el Lago de Coatepeque, utilizando un medidor multiparametro marca HACH, modelo ION56. LABTOX-UES



Las muestras se fijaron en formaldehído y trasladadas al LABTOX-UES para su identificación taxonómica, se utilizó un microscopio Carl Zeiss AXIO IMAGER M1 con contraste de fases, campo claro y campo oscuro.

CONCLUSIONES

Se identificó la especie causante de la coloración del agua del Lago de Coatepeque, la cianobacteria *Microcystis aeruginosa*, con mayor densidad celular en el primer metro de profundidad en la columna de agua.

No se encontraron toxinas de tipo paralizante en muestras de agua ni en peces del lago de Coatepeque.

La Temperatura máxima registrada en los sitios de muestreo fue de 28,6 °C. valor inusual en este cuerpo de agua.

La mayor densidad celular fue de 130 mil células/mililitro, en la parte sur-oeste, el color “turquesa” se distribuyó en todo el Lago, posiblemente debido a las Ficocianina, un pigmento proteico liberado al romperse la célula dispersándose en el agua.

Agradecimientos.

PROTECCION CIVIL. CENDEPESCA. MARN. MINSAL

Referencias Bibliográficas

Graham, L., and L. Wilcox. 2000. *Algae*. Prentice Hall Press. New Jersey.

UNESCO.2009. Cianobacterias Planctónicas del Uruguay: Manual para la identificación y medidas de gestión. Sylvia Bonilla (editora). Documento Técnico. PHI-LAC, No 16.

Schopf, J. W. 1993. Microfossils of the early Archean apex chert: New evidence of the antiquity of life, *Science* 260: 640–646.

Guías para la calidad del agua potable. 2006. OMS.3ra Ed. Vol. 1.

