

EMPLEO DE MODELOS EMPÍRICOS PARA ESTIMAR LA CANTIDAD DE CIANOBACTERIAS PRESENTES EN EL FITOPLANCTON DEL LAGO DE ATITLÁN

Carlos Rolz Asturias, Director Centro de Ingeniería Bioquímica, Instituto de Investigaciones
Edwin Castellanos, Co-Director del Centro de Estudios Ambientales y Biodiversidad, Instituto de Investigaciones
Margaret Dix, Directora del Programa de Monitoreo, Centro de Estudios Atitlán, Campo Externo Altiplano UVG

Introducción

La contaminación de fuentes de agua empleada para el consumo humano y/o para actividades de recreación por toxinas de cianobacterias constituye una amenaza y un peligro para la salud humana por la toxicidad que dichos compuestos poseen¹. La proliferación de las cianobacterias y el predominio de estas sobre otras especies en esteros de costas marítimas, lagos y embalses han sido causados por el incremento de los nutrientes necesarios para su crecimiento. Entre los nutrientes resaltan el nitrógeno y el fósforo que ingresan a los cuerpos de agua por las descargas de aguas servidas municipales y efluentes industriales y en la erosión del suelo causado por la lluvia en exceso.

Para poder llevar a cabo el análisis de riesgo respectivo en un momento y cuerpo de agua definido es necesario contar con guías o normas basadas en indicadores confiables. Los avances recientes en la metodología analítica han producido una serie de pruebas que permiten cuantificar la biomasa de cianobacterias presente en el fitoplancton, establecer la proporción que es tóxica, su nivel de toxicidad y la identificación y cuantificación de la toxina producida. Es necesario mencionar, sin embargo, que con frecuencia se dan casos de muestras con toxicidad en las cuales no es posible detectar la presencia de alguna de las toxinas conocidas, hecho que por un lado mantiene la actividad de investigación activa. Es por esto que las guías y normas incorporan una actitud de precaución basada en el precepto de que cualquier presencia significativa de cianobacterias implica una posible toxicidad presuntiva.

Debido a lo anterior el indicador principal para establecer un sistema de alertas es la métrica que define la biomasa de cianobacterias, cuantificada directamente por el conteo de células o también al utilizar medidas indirectas como el contenido de pigmentos propios de las cianobacterias en el fitoplancton. Seguidamente es necesario determinar la toxicidad y cuantificar el contenido de toxinas. La toxicidad se determina por métodos de inhibición enzimática o por el empleo de pruebas con pequeños animales invertebrados o con ratones. Una toxicidad presuntiva puede establecerse por la identificación de los genes responsables de la producción de la toxina en la biomasa de cianobacterias. Por otro lado, la cuantificación de la toxina puede llevarse a cabo: a) midiendo su acción, por ejemplo una inhibición enzimática, b) por sus reacciones, empleando métodos inmunológicos, ELISA, o c) al conocer su estructura química, por una cuantificación utilizando cromatografía líquida de alta presión y espectrometría de masas en diversas variantes. Una guía establece cuando es necesario y el orden en que deben de llevarse a cabo los análisis anteriores en una muestra.

Los desarrollos anteriores han permitido establecer regulaciones internacionales. Por ejemplo la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido un umbral permisible de 1 $\mu\text{g/L}$ de microcistina en agua destinada para el consumo humano. El Gobierno de Canadá (Health Canada) ha elevado esta cantidad a 1.5 $\mu\text{g/L}$ de microcistina (Falconer, 2005; Health Canada, 2008).

Se han documentado intervenciones correctivas en cuerpos de agua en problemas. Las intervenciones han sido en el propio cuerpo de agua como en los flujos hídricos que entran al mismo. Entre las primeras se encuentra las acciones tomadas para destruir la estratificación térmica causada por la irradiación solar que se manifiesta con frecuencia en lagos profundos. Las segundas se han concentrado en la reducción del nitrógeno y fósforo en los flujos de entrada al lago. Las intervenciones tienen un costo; algunas han mostrado resultados positivos, otras han sido decepcionantes. En todos los casos las respuestas no han sido inmediatas. Por estas consideraciones es conveniente realizar un análisis de costo-beneficio antes de ejecutar alguna intervención.

Además es imprescindible mantener una vigilancia constante en aquellos cuerpos de agua en problema, documentando tanto, los cambios naturales en los indicadores, como aquellos que sucedan como respuesta a una o varias intervenciones. Además es útil hacer uso de modelos empíricos que relacionan los indicadores con las variables de interés con el objeto de predecir cambios en un futuro mediano.

¹ En la viñeta se presenta un cuadro de las principales cianotoxinas, las cianobacterias que las producen y un estimado de la toxicidad aguda de las mismas.

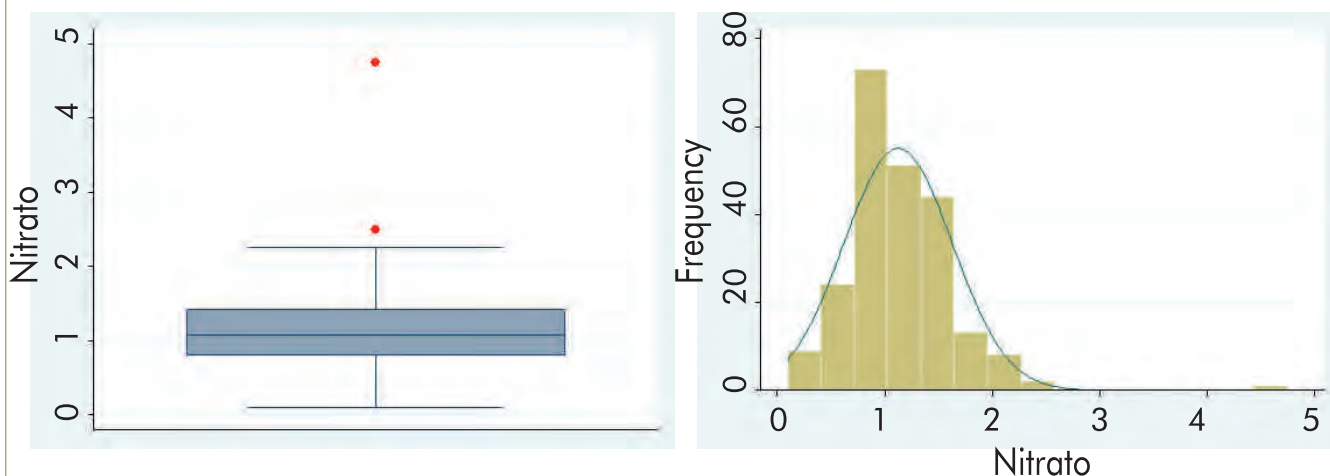
El objetivo de este trabajo fue el de seleccionar entre los modelos disponibles en la literatura científica aquellos que podrían aplicarse al Lago de Atitlán y el de ilustrar su aplicación al extenso conjunto de datos colectados por el Dr. Edwin Castellanos y otros investigadores del Centro de Estudios Ambientales durante el periodo de 2001 al 2006. Dicho trabajo fue realizado principalmente en el marco del proyecto Parques en Peligro patrocinado por *The Nature Conservancy*. Puede consultarse el informe de proyecto respectivo (Castellanos et al., 2002) para más detalles sobre el proceso de recolección y análisis físico-químico de las muestras. La localización geográfica de los sitios de muestreo fue descrita por Castellanos y Girón (2009) anteriormente.

Análisis exploratorio de los datos experimentales

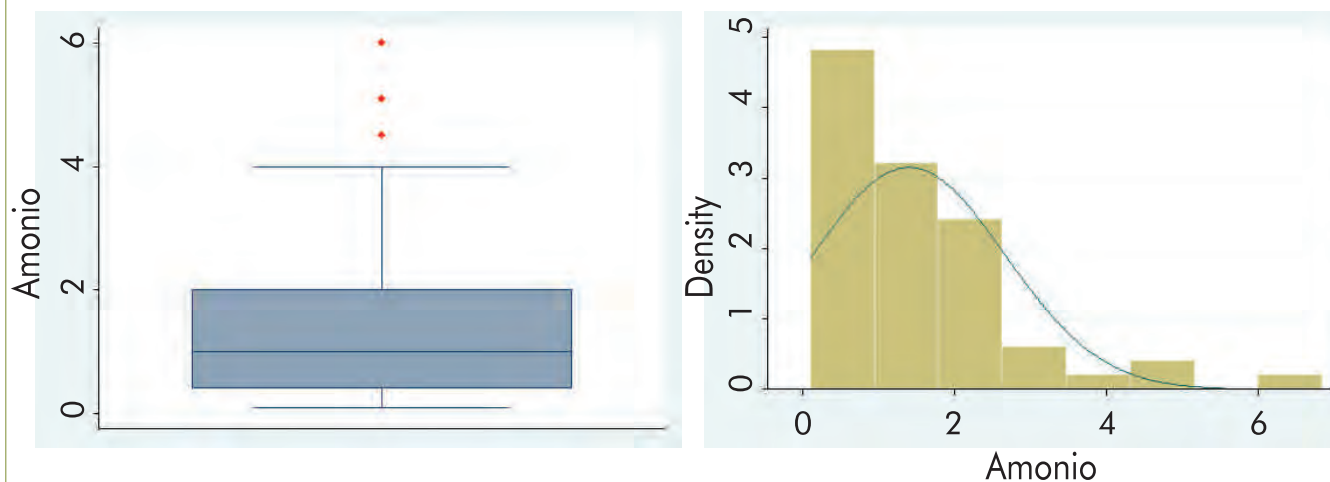
Con el objeto de definir un valor representativo de algunos indicadores del agua del Lago se analizó la distribución global de la información recolectada en los seis años mencionados y en los 27 puntos de muestreo alrededor de toda la ribera.

Los resultados se ofrecen en el conjunto de gráficas expuestas a continuación: a) nitratos en gráfica 1; b) nitrógeno amoniacal en gráfica 2; c) fosfatos en gráfica 3; d) valores Secchi en gráfica 4; e) alcalinidad en gráfica 5; y f) pH en gráfica 6.

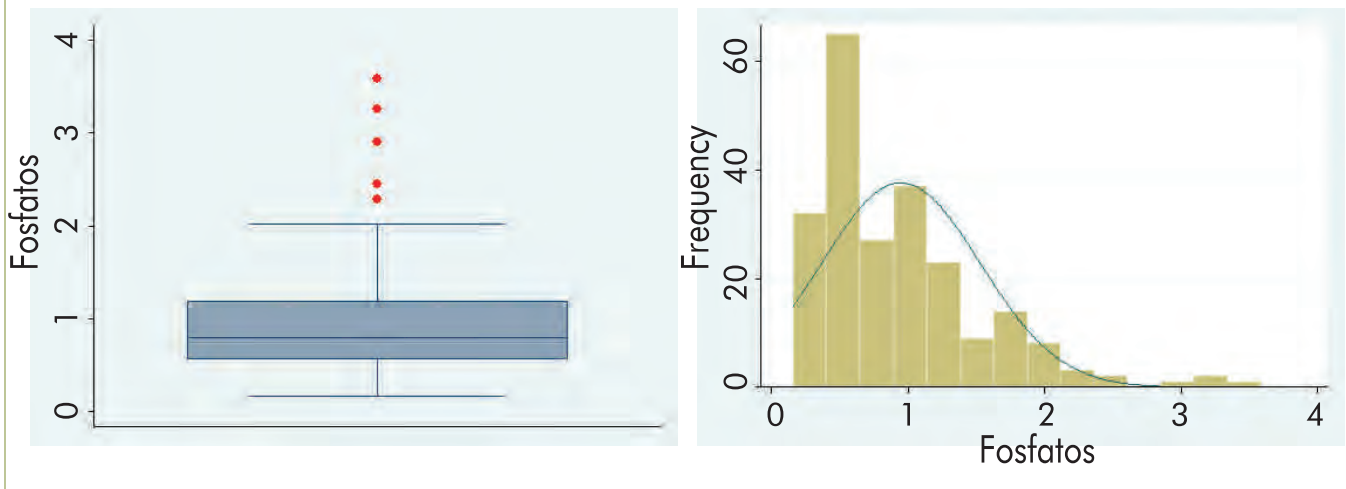
Gráfica 1. Contenido de nitratos en mg/L. Diagrama de cajas e histograma (Observaciones, 225. Promedio, 1.13 mg/L. Desviación estándar, 0.51. Mediana, 1.08 mg/L. Percentil 25, 0.824 mg/L. Percentil 75, 12.50 mg/L. Skewness, 1.79. Kurtosis, 13.81)



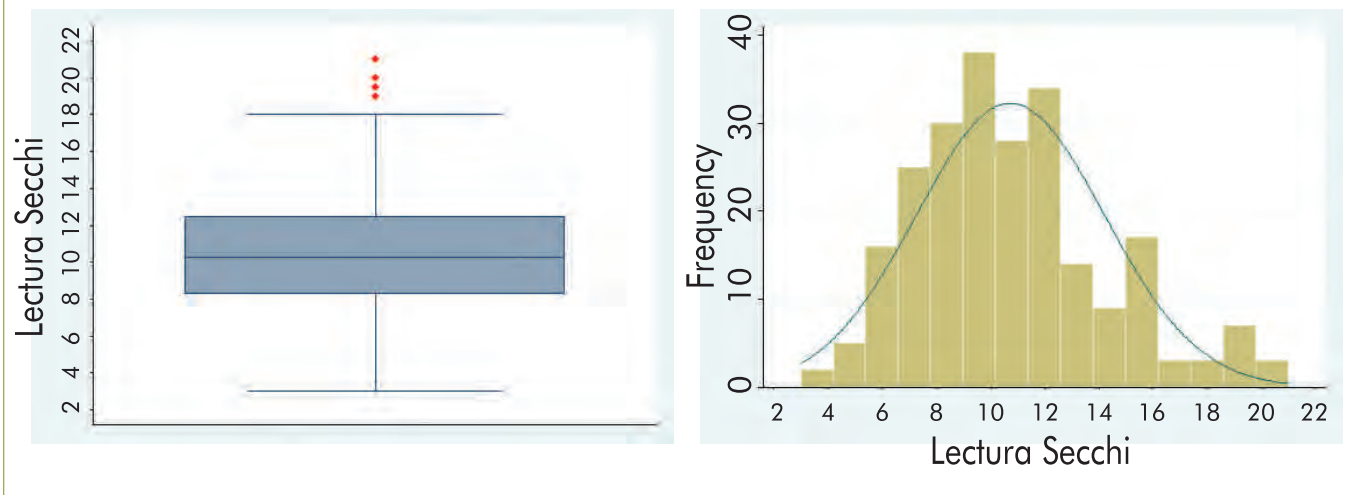
Gráfica 2. Contenido de nitrógeno amoniacal en mg/L. Diagrama de cajas e histograma (Observaciones, 59. Promedio, 0.140 mg/L. Desviación estándar, 0.126. Mediana, 0.100 mg/L. Percentil 25, 0.040 mg/L. Percentil 75, 0.200 mg/L. Skewness, 1.56. Kurtosis, 5.70)



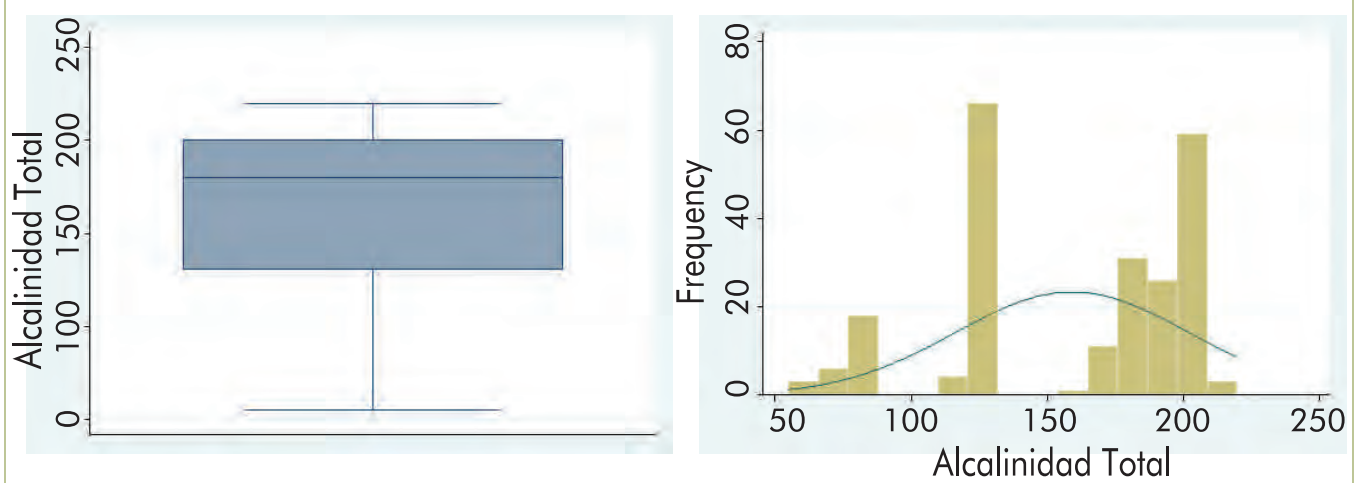
Gráfica 3. Contenido de fosfatos en mg/L. Diagrama de cajas e histograma (Observaciones, 224. Promedio, 0.095 mg/L. Desviación standard, 0.058. Mediana, 0.080 mg/L. Percentil 25, 0.023 mg/L. Percentil 75, 0.290 mg/L. Skewness, 1.59, Kurtosis, = 6.35)



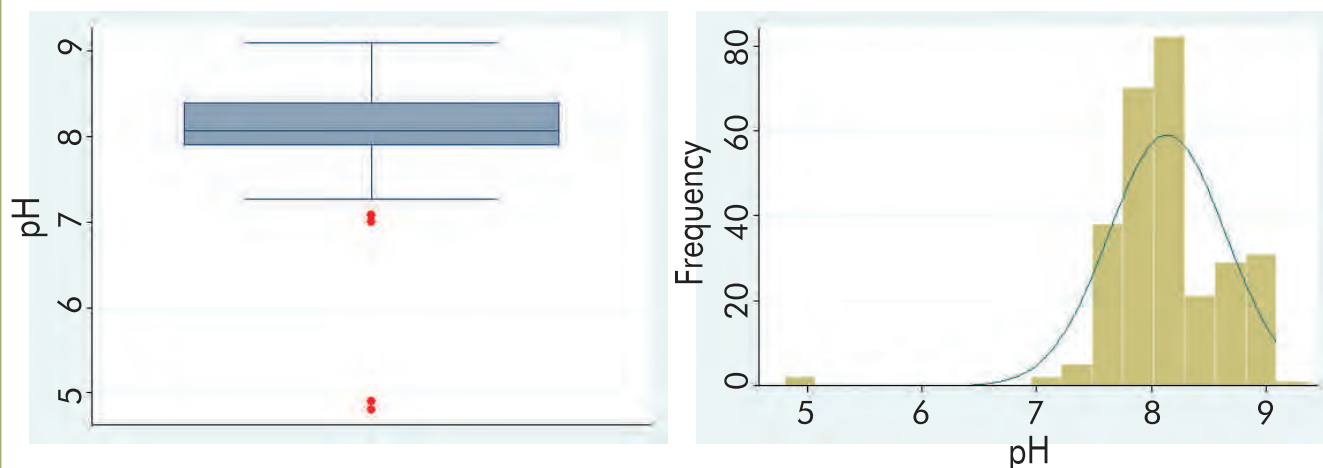
Gráfica 4. Valores Secchi en metros. Diagrama de cajas e histograma (Observaciones, 234. Promedio, 10.73 m. Desviación estándar, 3.47. Mediana, 10.24 m. Percentil 25, 8.24 m. Percentil 75, 12.50 m. Skewness, 0.62. Kurtosis, 3.18)



Gráfica 5. Alcalinidad en mg/L. Diagrama de cajas e histograma (Observaciones, 228. Promedio, 159.09 mg/L. Desviación estándar, 42.85. Mediana, 180.00 mg/L. Percentil 25, 130.00 mg/L. Percentil 75, 206.00 mg/L. Skewness, -0.669. Kurtosis, 2.264)



Gráfica 6. pH Diagrama de cajas e histograma (Observaciones, = 281. Promedio, 8.14. Desviación estándar, 0.51. Mediana, 8.07. Percentil 25, 7.90. Percentil 75, 8.40. Skewness, -1.597. Kurtosis, 13.669)



Cuadro 1. Promedios robustos

Nitratos	1.09 mg/L
Nitrógeno amoniacal	0.118 mg/L
Fosfatos	0.085 mg/L
Valor Secchi	10.44 metros
Alcalinidad	159.09 mg/L
pH	8.13

Con excepción de los datos de alcalinidad los demás contienen en su distribución puntos extremos. Por otro lado, en el histograma de todas las distribuciones se observa la presencia de colas prolongadas. Por estas razones se obtuvo el valor del promedio robusto empleando el método iterativo sugerido y documentado por Stata® versión 9.

Los valores obtenidos de los diferentes parámetros se muestran en el cuadro 1.

Elaboración de modelo y predicciones

La estrategia a seguir fue la de emplear el promedio robusto de nitrógeno total y fósforo para predecir el dominio de las cianobacterias en el fitoplancton. Para esto se utilizaron dos modelos empíricos en forma consecutiva. Se escogieron modelos descritos en la literatura cuyos parámetros se habían obtenido de datos experimentales en los que se incluían lagos localizados en regiones tropicales.

Para predecir la concentración de clorofila en el fitoplancton se emplearon dos modelos. El modelo de Huszar et al (2006)², el cual emplea los datos de nitrógeno y fósforo:

$$\log\text{clorofila} = -1.188 + 0.413 * \log\text{PO}_4 + 0.504 * \log\text{N}_2$$

El modelo de Delazari-Barroso et al (2009)³, el cual emplea únicamente los datos de fósforo:

$$\log\text{clorofila} = 0.544 + 0.382 * \log\text{PO}_4$$

Luego, para predecir el contenido de cianobacterias en el fitoplancton se empleó el modelo de Downing et al (2009)⁴, en donde %BG es el % de cianobacterias deseado.

$$\begin{aligned} \text{BGindex} &= -3.10 + 1.9 * \log\text{clorofila} \\ \text{BGindex} &= \ln(\% \text{BG} / (100 - \% \text{BG})) \end{aligned}$$

El resultado de la predicción de la cantidad de cianobacterias presentes en el fitoplancton del lago de Atitlán como un dato representativo del período de 2001 al 2006 se muestran en el cuadro 2. Se observa que las dos combinaciones de modelos empleados predicen valores similares en orden de magnitud.

Al emplear modelos de lagos localizados en climas templados, como el modelo de Phillips et al (2008)⁵, el valor del porcentaje de cianobacterias estimado para el lago de Atitlán, igual a 44.91 %, prácticamente se duplicó. Lo anterior indica, por un lado, que en las estimaciones influyen otros factores además del nitrógeno y el fósforo, por el otro, que los modelos empleados son simples pero válidos únicamente para los lagos de donde se obtuvieron los datos experimentales y por ende, el valor numérico de los parámetros.

En un informe interno del Centro de Estudios Ambientales y de Biodiversidad que incluye un estudio cualitativo y cuantitativo del fitoplancton (Castellanos & Dix 2009) el porcentaje de cianobacterias en el mismo nunca llegó a

² Conjunto de datos obtenidos de 192 sistemas acuáticos (136 lagos, 56 embalses), de los cuales 79 eran del Brasil, 67 del estado de Florida, EEUU, 18 de África, 18 de China, México 5, Venezuela 2 y uno de Filipinas, Puerto Rico y Texas, EEUU.

³ Duas Bocas reservoir, Espirito Santo state, Brazil

⁴ Conjunto de datos de 99 lagos de clima templado. Datos similares no existen para lagos de clima tropical, hasta donde se pudo comprobar en la literatura consultada.

⁵ Conjunto de datos de aproximadamente 1,000 lagos de Europa

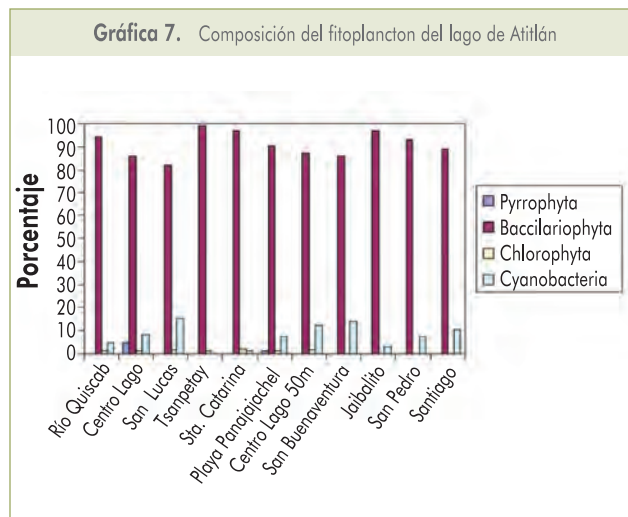
sobrepasar el 20 % del mismo, como se observa en la gráfica 7. Este hecho en parte valida las estimaciones efectuadas. Sin embargo debe indicarse que los recuentos obtenidos por observaciones microscópicas de muestras obtenidas de un lago, son solamente una aproximación a lo que realmente sucede en el mismo.

Mediciones recientes (octubre-noviembre 2010) del nitrógeno y fósforo en muestras del Lago dieron valores de 58 y 12 µg/L, por debajo de los promedios robustos mencionados en este artículo. Con estos valores los modelos predicen una concentración de clorofila entre 1.40 y 9.02 µg/L, lo que equivale a porcentajes de cianobacterias en el fitoplancton entre 2.97 y 13.83%.

Cuadro 2. Estimación de la proporción de cianobacterias presentes en el fitoplancton

Modelos	Concentración de clorofila, µg/L	BG índice	Proporción de cianobacterias en el fitoplancton, %
Huszar et al (2006) Downing et al (2009)	14.01	0.40	19.89
Delazari-Barroso et al (2009) Downing et al (2009)	19.04	0.51	25.62

Gráfica 7. Composición del fitoplancton del lago de Atitlán



CONCLUSIÓN

Los modelos que se escogieron predijeron una concentración similar de cianobacterias en el fitoplancton a la estimada en forma experimental; los modelos emplearon como indicadores las concentraciones promedio de nitrógeno y fósforo en el agua del lago para poderla predecir. Es obvio, entonces, que la predicción de los modelos fue tan buena como la exactitud de las concentraciones de los dos compuestos químicos indicados. En el texto se demostró cuán sensible son los cálculos en éste sentido, pues de valores estimados entre 20 a 26% de cianobacterias en el fitoplancton, calculadas para el período 2001-2006, cambiaron a valores bastante menores, entre 3 y 14%, para la estimación de finales del año 2010. También se debe enfatizar que obtener un valor promedio que refleje la realidad de las

concentraciones antes aludidas para todo el cuerpo de agua del lago, es un procedimiento riesgoso. En el texto se ejemplificó, en forma de gráficas, el comportamiento alejado de la normalidad de las observaciones, así como la presencia de puntos extremos; éstos últimos se corrigieron en la estimación realizando el cálculo robusto del promedio, pero aún así, la representatividad del promedio podría estar sujeta a diversas interpretaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Castellanos, E. y M. Dix (2009). *Levantamiento de Línea Base del Lago de Atitlán*. Informe presentando al Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales de la República de Guatemala. Centro de Estudios Ambientales, Universidad del Valle de Guatemala.
- Castellanos E. y N. Girón (2009). *Calidad microbiológica del agua del Lago de Atitlán para los años 2001-2006*. Revista de la Universidad del Valle de Guatemala **19**:36-44
- Castellanos, E., N. Girón, M. Álvarez, M. López y M. España (2002). *Calidad del agua del Lago de Atitlán, Guatemala*. Informe del Programa Parques en Peligro. The Nature Conservancy.
- Codd, G.A., Morrison, L.F. Metcalf, J.S. (2005) *Cyanobacterial toxins: risk management for health protection Toxicology and Applied Pharmacology* **203**: 264– 272
- Delazari-Barroso A, Fonseca Barroso G, de Moraes Huszar VL, Feliciano de Moreira e Azevedo SM (2009) *Physical regimes and nutrient limitation affecting phytoplankton growth in a meso-eutrophic water supply reservoir in southeastern Brazil Lakes & Reservoirs: Research and Management* **14**:269-278
- Downing JA, Watson SB, Mccauley E (2001) *Predicting cyanobacteria dominance in Lakes Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **58**:1905-1908
- Falconer IR (2005) *Cyanobacterial toxins of drinking water supplies*, CRC Press
- Funari, E. Testai, E. (2008) *Human health risk assessment related to cyanotoxins exposure Critical Reviews in Toxicology* **38**:97–125
- Health Canada (2008) http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/cyanobacterial_toxins/guideline-recommendation-eng
- Huszar VL, Caraco NF, Roland F, Cole J (2006) *Nutrient-chlorophyll II relationships in tropical-subtropical lakes: do temperate models fit? Biogeochemistry* **79**: 239-250
- Phillips G, Pietiläinen O-P, Carvalho L, Solimini A, Lyche Solheim A, Cardoso AC (2008) *ChlorophyllIII-nutrient relationships of different lake types using a large European dataset Aquatic Ecology* **42**:213-226

PRINCIPALES CIANOTOXINAS, CIANOBACTERIAS QUE LAS PRODUCEN Y SU TOXICIDAD (Codd et al 2005; Funari & Testai 2008)

Cianotoxina	Cianobacteria	Toxicidad aguda LD50 (ratón) ($\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corpóreo)
Microcistinas	<i>Microcystis</i> sp.	25 to 1000 Hepatotóxica
	<i>Anabaena</i> sp	
	<i>Nostoc</i> sp	
	<i>Synechocystis</i>	
	<i>Cyanobium</i>	
	<i>Arthrospira fusiformis</i>	
	<i>Limnothrix redekei</i>	
	<i>Phormidium</i> sp	
	<i>Hapalosiphon hibernicus</i>	
Nodularinas	<i>Nodularia spumigena</i>	30 a 50 Hepatotóxica
Cylindrospermopocinas	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	200-2100 Hepatotóxica
	<i>Aphanizomenon ovalisporum</i> <i>Raphidiopsis curvata</i>	
Anatoxinas-a	<i>Anabaena</i>	250 Neurotóxica
Homonatoxinas-a	<i>Oscillatoria formosa</i>	250 Neurotóxica
Anatoxinas-a(s)	<i>Anabaena flos-aquae</i>	40 Neurotóxica
Saxitoxinas (PSP)	<i>Lyngbya</i> sp	10-30 Neurotóxica
LPS endotoxinas		
Aplysiatoxinas		
Lyngbiatoxina		
Debromo aplysiatoxinas		
Microviridina-J-N-metilamino-L-alanina		