CARACTERIZACIÓN DE LAS ALGAS VERDES Y CIANOBACTERIAS DEL HUMEDAL *ECOPARQUE LAGO DE LAS GARZAS*

GUSTAVO ADOLFO GUTIÉRREZ GÓMEZ

UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
QUÍMICA FARMACÉUTICA
CALI, VALLE DEL CAUCA
2017

CARACTERIZACIÓN DE ALGAS VERDES Y CIANOBACTERIAS DEL HUMEDAL *ECOPARQUE LAGO DE LAS GARZAS*

GUSTAVO ADOLFO GUTIÉRREZ GÓMEZ

Proyecto de grado

Tutores:

ANDRÉS FELIPE DÁVALOS VÉLEZ, M. Sc. – LEONARDO HERRERA OROZCO, Ph. D.

Departamento de Ciencias Biológicas
Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Icesi

UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
QUÍMICA FARMACÉUTICA
CALI, VALLE DEL CAUCA
2017

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer:

A mis padres y mi hermano, por haberme brindado apoyo en todas las dimensiones posibles. Reconozco de corazón el esfuerzo que han invertido en mi bienestar durante estos 23 años. Por esto y todo lo que no se puede expresar en un escrito, infinitas gracias.

A Brianna, mi pareja, por todo los momentos maravillosos que hemos vivido juntos y, sobre todo, por el apoyo incondicional y la tranquilidad que me ha brindado en este tiempo.

A Sandra Orozco, por haber encontrado en ella una compañera con la cual afrontar los retos de la universidad y en quien confiar cuando lo necesito. Por la hospitalidad y generosidad que junto a Mauricio han tenido conmigo desde el primer momento.

Al Profesor Leonardo Herrera Orozco por la gestión de los recursos, por todo el conocimiento y acompañamiento que me proporcionó en todas las etapas de este proyecto. Fue un proceso sumamente grato para mí, mil gracias.

Al Profesor Andrés Dávalos porque, además de su ayuda invaluable a través de la dirección de este trabajo, creyó en mis capacidades por allá en 2013, cuando probablemente mi desempeño no era el mejor y no tenía muchas cosas claras. Tuve la fortuna de tener un espacio en su curso donde aprendí en una proporción que quizás ni siquiera hoy soy capaz de dimensionar. Gracias, Andrés, valoro la amistad que se forjó durante este tiempo como una de las cosas mas valiosas que me dejó el pregrado.

A la Profesora Thaura Ghneim por sus valiosos aportes a través de la evaluación tanto del anteproyecto como del presente trabajo.

Al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México y el Laboratorio de Cultivo de Microalgas de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, por haberme dado la oportunidad de formarme en parte importante de las capacidad teóricas y prácticas necesarias para este proyecto.

A la Universidad Icesi por proveer los recursos tanto financieros como de infraestructura necesarios para la realización del trabajo.

Contenido

1. RESUMEN 7
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 9
2.1 Problema de investigación 9
2.2 Justificación del proyecto 9
3. MARCO TEÓRICO 11
3.1 Humedales y servicios ecosistémicos 11
3.3 Muestreo y análisis de fitoplancton 13
3.4 Variables fisicoquímicas relevantes en el análisis de poblaciones planctónicas 14
3.5 Estado trófico y formación de florecimientos algales 15
4. OBJETIVOS 17
4.1 Objetivo general 17
4.2 Objetivos específicos 17
5. METODOLOGÍA 18
5.0 Área de estudio 18
5.1 Muestreo y Preservación de las muestras 19
5.2 Conteo e identificación 20
5.3 Determinación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos 21
9. PROTOCOLOS ANEXOS 35
10. REFERENCIAS 38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Entrada (izq.), y salida (der.) visible de agua e islote de anidación en el humedal Las Garzas *(León Sánchez, 2012)*.....18

Figura 2. Puntos de muestreo para las jornadas: A. 14-Octubre-2016; B. 02-Diciembre-2016; C. 03-Enero-2016.....19

Figura 3. A. Pseudostaurastrum, B. Posible huevo de uncinarias o de Ascaris lumbricoides decorticado, C. Pediastrum, D. Staurastrum, E. Desmodesmus, F. Coenocystis, G. Cosmarium, H. Anabaena I. Xanthidium, J. Golenkinia y K. Peridinium.....25

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos y metodología propuesta para su medición. .21

Tabla 2. Géneros encontrados y abundancias para muestras tomadas en 14-Oct-2016.....23

Tabla 3. Valores calculados del índice de Bray-Curtis para muestras tomadas en 14-Oct-2016.....23

Tabla 4. Géneros encontrados y abundancias para muestras tomadas en 02-Dic-2016.....24

Tabla 5. Valores calculados del índice de Bray-Curtis para muestras tomadas en 02-Dic-2016 24

Tabla 6. Resultados de concentración de nitritos, nitratos, nitrogeno total, ortofosfatos y fosforo total para muestras tomadas en 02-Dic-2016.....27

Tabla 7. Resultados de concentración de nitritos, nitratos, nitrogeno total, ortofosfatos y fosforo total para muestras tomadas en 02-Ene-2017 27

Tabla 8. Resultados de parámetros fisicoquímicos para muestras tomadas en 02-Ene-2017 29

Tabla 9. Relación de géneros presentes en el humedal Lago de las Garzas y oportunidades biotecnológicas reportadas en la literatura.....31

1. RESUMEN

Se presenta la caracterización de la comunidad planctónica de algas verdes y cianobacterias del Humedal Ecoparque Lago de las Garzas en términos de composición y abundancia relativa. Se ejecutó un plan de muestreo en dos jornadas (14-Octubre-2016 y 02-Diciembre-2016) con siete puntos de muestreo situados de forma no aleatorizada a fin de cubrir lo mejor posible el cuerpo de agua. La cuantificación e identificación a nivel de género se realizó a través de conteo en cámara de sedimentación (técnica Utermölh) a un nivel de precisión del 5%. En orden de establecer las características fisicoquímicas y microbiológicas de la calidad del agua del humedal se determinó: pH, temperatura, conductividad, solidos totales disueltos, fósforo total, ortofosfatos, nitritos, nitratos, coliformes fecales y totales. La variación espacial de la composición y abundancia relativa se evaluó empleando el índice de Bray-Curtis, la diversidad de algas verdes y cianobacterias fue estimada a través del índice de Shannon-Wiener.

Se encontró que la comunidad fitoplanctónica de algas verdes está compuesta por doce géneros, a saber: *Golenkinia, Desmodesmus, Staurastrum, Staurodesmus, Cosmarium, Mougeotia, Microspora, Pediastrum, Volvox, Xanthidium, Closterium* y *Coenocystis* y un género perteneciente a las Cyanophytas: *Anabaena.* El género más abundante en términos de número de individuos fue *Golenkinia*, mientras que en términos de biomasa *Desmodesmus* fue el más prominente.

Palabras clave: Alga verde, Cianobacteria, Estado Trófico, Bioindicación, Potencial Biotecnológico

ABSTRACT

The identification and quantification of green algae and cyanobacteria from Lago de las Garzas wetland was carried out. The samples was taken on 14-October-2016 and 02-December-2016 from seven not-randomized fixed sampling sites in each journey in order to cover wetland especific sites. Algae quantification was carried out using an Utermöhl chamber (5% precision level). In order to describe the physochemical and microbiologic characteristics pH, temperature, electric water conductivity, total disolved solids, total phosporous, ortho-phosfate, nitrites, nitrates and coliforms were measured. The spatial and temporal variation of algae comunities was evaluated using Bray-Curtis Index. The diversity was measured using the Shanon-Wiener index.

We found that the phytoplanktonic green algae and cyanobacteria comunity is main composed for two green algae genus: *Golenkinia* and *Desmodesmus*. Other green algae genus were also found: *Staurastrum, Staurodesmus, Cosmarium, Mougeotia, Microspora, Pediastrum, Volvox, Xanthidium, Closterium* y *Coenocystis.* From Cyanophytas only Anabaena is reported in the present work.

Keywords: Green algae, Cyanobacteria, Trophic status, Bioindication, Biotechnologic potential.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1 Problema de investigación

Los humedales son cuerpos de agua de características diversas. Estas formaciones hídricas se relacionan con un número importante de servicios ecosistémicos para los seres vivos que pueblan el espacio geográfico asociado al humedal. Entre éstos servicios ecosistémicos se pueden listar tres categorías generales: culturales, de regulación y de aprovisionamiento.

Varios de los servicios ecosistémicos provistos por humedales están asociados a la producción primaria, tanto por parte de plantas como de microorganismos fotosintéticos, es el caso de la regulación climática, atmosférica, nutrientes y residuos, así como recursos genéticos y, potencialmente, de materias primas.

Actualmente, existe un desconocimiento total de la composición de las poblaciones de microorganismos fotosintéticos en los humedales del sur de la ciudad de Cali-Colombia, lo que conduce a una incomprensión de los servicios ecosistémicos que éstos puedan prestar, y la desestimación del valor de los mismos. Este tipo de información es clave en la estructuración de planes de manejo en el marco de la Política Nacional de Humedales (Ministerio Nacional del Medio Ambiente, 2002). Por ésta razón, la presente investigación presenta un inventario a nivel de género de la comunidad planctónica de cianobacterias y algas verdes del humedal Ecoparque Lago de las Garzas.

2.2 Justificación del proyecto

El vacío que actualmente existe a nivel local, en todo lo que se refiere a diversidad y abundancia de comunidades microalgales presentes en los humedales, representa una barrera que impide comprender completamente el comportamiento de estos espacios, y a su vez puede conducir a subdimensionar los efectos que producen las actividades antrópicas sobre los mismos, como por ejemplo, el desequilibrio de las redes tróficas, donde las microalgas son el primer eslabón de la cadena. Estos motores de cambio pueden conducir a la modificación, reducción o pérdida de los servicios ecosistémicos brindados por los humedales y a riesgos a la salud humana y animal de las comunidades aledañas.

Alrededor de los sistemas de humedal tiene lugar el desarrollo de un gran número de formas de vida dependientes de éstos, entre las que se encuentran no sólo la fauna y flora silvestre; en algunos casos el agua de los mismos es destinada a diversas actividades humanas, al tiempo, dicha actividad suele contribuir en forma

notable a los fenómenos eutrofización en cuerpos de agua (T C Daniel, Sharpley, & Lemunyon, 1998).

La eutrofización ha sido históricamente relacionada con la proliferación desmedida de grupos particulares (Anderson, Glibert, & Burkholder, 2002); lo que eventualmente puede suponer no sólo un daño ecológico del sistema, ya que otros organismos fotosintéticos encontrándose en desventaja numérica están imposibilitados para competir por recursos limitados (luz, especialmente), causando su declive. Una vez que la proliferación alcanza una concentración tal que el sistema no puede soportar su mantenimiento, muere rápidamente generando grandes cantidades de biomasa en descomposición, disminuyendo a niveles letales la concentración de oxígeno disuelto con severas consecuencias para el cuerpo de agua (Paerl & Otten, 2013).

Éstos afloramientos no son solo letales para los organismos por el desbalance que se genera en dicho ambiente, sino también porque durante los mismos, puede presentarse la producción de sustancias toxicas por parte de algunos organismos (Corbel, Mougin, & Bouaïcha, 2014), las cuales se acumulan en el cuerpo de agua, afectando de manera directa o indirecta poblaciones de dicho ecosistema (Downing, Contardo-Jara, Pflugmacher, & Downing, 2014), dando lugar a fenómenos de biomagnificación.

Recientemente se han desarrollado numerosos estudios encaminados a la identificación de organismos fitoplanctónicos como fuente de compuestos bioactivos y de interés industrial: polisacáridos; como sustrato en la producción de materias primas o con actividad biológica (Shao, Chen, & Sun, 2014), lípidos de interés en la producción de biocombustibles (Mutanda, 2011), un número considerable de nuevos compuestos bioactivos con interés farmacológico (Plaza, 2010) y la potencial presencia de organismos susceptibles de ser utilizados en bioindicación y biorremediación de cuerpos de agua contaminados (Posudin, 2014). Se espera que los resultados del presente trabajo, adicionalmente sirvan de plataforma para futuros estudios de bioprospección que busquen desarrollar aplicaciones biotecnológicas a partir de las algas presentes en el humedal.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Humedales y servicios ecosistémicos

Los servicios ecosistémicos están definidos, de acuerdo a la *Evaluación de ecosistemas del milenio* como cualquier beneficio que reciben los seres humanos por parte de los ecosistemas de forma directa o indirecta, de naturaleza económica o cultural. Estos beneficios a menudo se clasifican en tres categorías generales: Servicios culturales, de aprovisionamiento y regulación (Carpenter et al., 2009). Los servicios de regulación y aprovisionamiento están, a su vez, relacionados a una cuarta categoría: Servicios de soporte.

Los beneficios provistos por los ecosistemas pueden ser de carácter material o no, dentro de los servicios materiales se encuentran los de aprovisionamiento: aquellos que generan algún producto o recurso específico. Son ejemplos la comida, agua, materias primas y recursos genéticos. Otra categoría son los servicios de carácter tangible, denominados de regulación; donde los seres humanos se ven beneficiados de los procesos de regulación de los ecosistemas: el control biológico, el procesamiento de residuos, la regulación climática y atmosférica son dechados de este tipo servicios ecosistémicos de regulación (Boyd & Banzhaf, 2007). Los servicios de soporte como su nombre indica, se dan una escala de tiempo mayor y están orientados a mantener los servicios de regulación y aprovisionamiento, por ejemplo: los ciclos de nutrientes y la formación de suelos.

Los servicios culturales son, a diferencia de las dos categorías anteriores, de naturaleza inmaterial. Hacen referencia a los beneficios paisajísticos, estéticos, espirituales, entre otros que pueden brindar los distintos espacios generados por el ecosistema o gracias a la identidad local que estos puedan representar (Terry C Daniel et al., 2012).

Los servicios ecosistémicos tienen una doble importancia: como beneficio *per se* para los seres humanos en cada una de sus diferentes dimensiones y como herramienta económica para promover la conservación. Hacia la finales de los años 60´s y principios de los 70´s el daño ambiental ocasionado por el uso no controlado de los recursos naturales comenzó a hacerse evidente y con él nació la preocupación por, a través de la investigación científica, determinar y cuantificar los bienes y servicios que se obtienen del medio ambiente como una estrategia que permitiera ligar dicha fuente de recursos con un concepto económico a través del cual darle valor (Farber, Costanza, & Wilson, 2002).

El concepto de humedal ha sido modificado a través de los años y puede variar entre diversos autores, sin embargo, se presenta una definición ligeramente

ampliada respecto a la establecida por la convención Ramsar, propuesta por Cowardin y colaboradores:

“Los humedales comprenden áreas de marismas, pantanos, turberas, aguas naturales o artificiales, estancados o en movimiento, ya sean dulces, salobres o saladas. Se incluyen dentro de los humedales los ambientes acuáticos que no excedan los seis metros de profundidad” (Cowardin, 1995)

Debe, usualmente, reunir tres características básicas: Presencia de vegetación hidrófila, suelos hídricos y condición hídrica (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, 2003). Por diversos factores pueden no estar presentes, de forma evidente, algunas de éstas condiciones, por ejemplo; si fenómenos climáticos conllevan a la desaparición de la vegetación. Lo anterior no implica, de cualquier manera, un distanciamiento del cuerpo hídrico en cuestión respecto a la definición de humedal.

Los humedales están asociados a un número importante de servicios ecosistémicos entre los que se encuentra la regulación hídrica a través de la disminución de inundaciones y la recarga de aguas subterráneas, sirven como plataforma para ciclos biogeoquímicos, reservorios de materia orgánica, regulación climática, atmosférica y de nutrientes. Varios servicios ecosistémicos obtenidos de los humedales están ligados a las poblaciones de productores primarios, grupo dentro del cual el fitoplancton es de especial importancia.

El nitrógeno se encuentra en cantidades importantes en su formal elemental como gas dentro de la atmósfera terrestre (Bender, Sowers, Barnola, & Chappellaz, 1994). Este elemento es fijado en forma de amoniáco por algunos grupos bacterianos incluyendo Cyanophytas (Flores & Herrero, 1994) y este a su vez es oxidado en nitrito y, finalmente, en nitrato. Estos compuestos provenientes del nitrógeno elemental no son asimilables por organismos heterotrofos estrictos. En este punto, los productores primarios juegan un rol fundamental, ya que son capaces de generar formas asimilables del nitrógeno para organismos heterotrofos, a partir de amoniáco o, mayoritariamente, empleando nitrato (Naldi & Wheeler, 2002). Lo anterior se constituye en un ejemplo de servicio ecosistémico de soporte.

Los productores primarios llevan a cabo también procesos de fijación de carbono a partir del dióxido de carbono disponible en la atmosfera terreste (da Silva Vaz, Costa, & de Morais, 2016). Esta función representa un servicio de regulación y soporte, ya que, además de proveer formas asimilables del carbono, captura el dioxido de carbono atmosférico contribuyendo a la mitigación del impacto de los gases invernadero.

3.3 Muestreo y análisis de fitoplancton

El diseño de planes de muestreo, es decir, la cantidad y ubicación de sitios donde se tomarán las muestras, depende de diversas variables: objetivos del estudio, nivel de precisión deseado, tiempo y recursos disponibles. Estos parámetros guardan estrecha relación con condiciones intrínsecas del cuerpo de agua, principalmente de la variabilidad en términos de abundancia, composición y propiedades físicoquímicas que se presenten entre los sitios de muestreo (Irish & Clarke, 1984). Por ejemplo, para calcular el tamaño muestral mínimo, que varía de acuerdo a la distribución a la que se ajusten los datos, es necesario conocer la media y la varianza de un estudio piloto, donde un número de muestras tan elevado como sea posible, situadas de forma aleatoria es la mejor alternativa (Prepas, 1984).

La representatividad de las muestras no está dada solamente por el número y la ubicación que está relacionada con la variabilidad espacial debida a los parámetros fisicoquímicos (distribución de nutrientes, viento, temperatura, luz) sino también por la posición vertical en la columna de agua a la cual se tomen las muestras y el volumen de la misma. De otro lado, el volumen de muestra deberá ser previamente estandarizado a través de una curva de concentración de organismos contra volumen de muestra; cuando se encuentre una asíntota superior en el eje de abundancia se establecerá ese volumen como el tamaño de muestra a colectar.

Si bien existe variedad de dispositivos para colectar muestras de plancton, pueden clasificarse en dos grupos: redes y botellas. Las redes corresponden, como su nombre lo indica a dispositivos equipados con mallas de diferentes calibres y un recipiente colector, al tiempo que las botellas son recipientes equipados con un mecanismo para abrir y cerrar las compuertas desde la posición del operador. Ambos ofrecen características diferentes, especialmente útiles en función del objetivo de las muestras.

Las redes permiten tomar muestras compuestas si se realizan por arrastre, se trata de muestras pre-concentradas por la naturaleza del dispositivo y es posible excluir diferentes tipos de organismos en función del tamaño. No obstante, no es fácil estimar con precisión el caudal que atraviesa la red y por tanto se trata muestras cualitativas. De otro lado, las botellas permiten tomar muestras de forma precisa a diferentes profundidades y con un volumen conocido, por lo tanto pueden llevarse a cabo mediciones cuantitativas cuando la muestra es colectada a través de este tipo de dispositivo (Tuney & Maroulakis, 2014).

Una vez colectada, la muestra deberá ser preservada utilizando un método adecuado de acuerdo al tiempo que ésta será almacenada. En el corto plazo (12 a 24 h) puede emplearse un espacio protegido de la luz (o recipientes ámbar en su

defecto) y cuya temperatura se encuentre entre 2 y 4ºC. En el mediano y largo plazo (hasta 1 año) puede usarse formaldehído, glutaraldehído o más comúnmente lugol.

Si bien la identificación del fitoplancton puede llevarse a cabo por técnicas de citometría de flujo (Wilkins, Boddy, Morris, & Jonker, 1999) o biología molecular (Wilkins et al., 1999) y éstas pueden llegar a proveer una aproximación cuantitativa, son técnicas analíticas costosas, que pueden suponer procesos previos de estandarización prolongados y complejos. Por las razones mencionadas anteriormente, se prefieren técnicas de menor costo, que permiten la identificación y cuantificación simultánea, siendo probablemente el conteo en cámara de Utermöhl el más extendido puesto que permite considerar muestras completas de diferentes tamaños.

3.4 Variables fisicoquímicas relevantes en el análisis de poblaciones planctónicas

El plancton, como organismo vivo, está altamente condicionado por diversos parámetros fisicoquímicos del agua (Jouenne, Lefebvre, Véron, & Lagadeuc, 2005). De ésta forma, para caracterizar una población de ésta naturaleza es necesario correlacionar la diversidad y abundancia con el perfil fisicoquímico del cuerpo de agua en términos de la temperatura, diferentes parámetros relacionados a la conductividad, niveles de oxígeno disuelto, nutrientes y grado de penetración de la luz. Estos parámetros se amplían a continuación.

Temperatura:

La tasa a la cual proliferan los organismos vivos está directamente relacionada con la actividad metabólica de los mismos, el metabolismo definido en forma general como el conjunto de reacciones químicas implicadas en el mantenimiento y desarrollo celular está basado casi por completo en reacciones enzimáticas fuertemente influenciadas por la temperatura. En función de diferentes características propias de la fisiología de cada género e incluso especie, el desarrollo puede verse favorecida a uno u otro rango de temperatura, por tanto, la medición de éste parámetro aporta información importante en la comprensión de la abundancia y composición de una población.

Profundidad de Secchi:

Diversos factores afectan la turbidez de una columna de agua y ésta afecta la profundidad a la cual la radiación solar es capaz de penetrar, definiendo así la zona del cuerpo de agua en la cual la población planctónica fotótrofa podrá desarrollarse. Comparativamente, la abundancia planctónica en un humedal de menor tamaño respecto a uno más grande puede ser mayor si en el segundo la

zona fótica se ve considerablemente más restringida por una turbidez demasiado elevada, lo anterior ejemplifica la importancia de este parámetro. La transparencia es usada además como un parámetro que permite inferir acerca del estado de eutrofización de un cuerpo de agua

Potencial de hidrógeno, pH:

El potencial de hidrógeno pH, es una medida en escala logarítmica de la concentración de iones hidronio en solución y por tanto de la acidez del medio. La presencia y abundancia de otros iones en solución se estima a través de la capacidad del agua para conducir electricidad o conductividad. Éstos parámetros influencian los procesos metabólicos pues la eficiencia catalítica de las enzimas está relacionada con el pH y la fuerza iónica a los cuales se está llevando a cabo la reacción, adicionalmente, diversos procesos de transporte de nutrientes y la cadena de transporte electrónico están ligados al intercambio de iones entre los que se encuentran los iones hidronio (Gerloff-Elias, Pröschold, & Spijkerman, 2005). De acuerdo a esto, cada familia o género (llegándose a presentar diferencias a nivel de especie) por las características de sus enzimas y dinámicas de transporte de nutrientes tiene asociado un valor de pH al cual su productividad se ve maximizada, por lo tanto, variaciones en éste parámetro vienen acompañadas de modificaciones en las abundancias relativas dentro de las poblaciones fitoplanctónicas.

Sólidos totales disueltos:

La medición de sólidos totales disueltos como función de la conductividad representa un parámetro de fácil determinación y que presenta una estimación generalizada de todos los componentes presentes en el agua incluyendo nutrientes y es, por tanto, una variable comúnmente asociada al grado de eutrofización de un sistema acuático. Los sólidos disueltos pueden además afectar la cantidad de luz que puede penetrar en el agua y por tanto la factibilidad del desarrollo de organismos fotosintéticos, categoría a la cual pertenecen los organismos fitoplanctónicos en estudio.

3.5 Estado trófico y formación de florecimientos algales

El estado trófico hace referencia a la abundancia de nutrientes presentes en un ambiente normalmente acuático. De esta forma, un ambiente puede presentar escasa (oligotrófico), media (mesotrófico) o elevada (eutrófico) abundancia de nutrientes.

Los ambientes altamente eutrofizados están a menudo asociados a producción elevada de biomasa planctónica. Si bien las algas en general requieren, habitualmente, un amplio espectro de macro y micronutrientes (Nitritos, Nitratos,

Fosfatos, Hierro, Zinc, Cobalto, Manganeso, Tiamina, Biotina, Cianocobalamina, entre otros), se ha establecido que el contenido de nitrógeno no-uréico y fósforo, especialmente en forma de ortofosfatos poseen mayor influencia sobre la producción de biomasa (Levine & Schindler, 1999). Por lo anterior, estos parámetros son de especial atención en orden de evaluar el estado trófico de un cuerpo hídrico.

Ciertos organismos fitoplanctónicos, así como otros grupos de productores primarios, responden al aumento en la cantidad de nutrientes disponibles promoviendo su crecimiento. Al presentar un aumento rápido de estas poblaciones la biomasa se acumula en el cuerpo de agua. Una vez la curva de crecimiento de estos organismos alcanza su fase de decaimiento y muerte, el cuerpo hídrico enfrenta grandes cantidades de materia orgánica en descomposición, escenario que conduce, eventualmente, a un aumento desproporcionado de la demanda de oxígeno por parte de las poblaciones bacterianas encargadas de la descomposición afectando, en consecuencia, la calidad del agua y la capacidad del sistema para sostener la mayor parte de la biota acuática.

La vigilancia periódica de los parámetros fisicoquímicos asociados a los nutrientes en los humedales y demás cuerpos hídricos es de vital importancia, especialmente aquellos relacionados con las concentraciones de nitrógeno y fósforo debido a que la tendencia a eutrofización está directamente relacionada con eventos de florecimiento algales o *blooms* por el término acuñado en inglés para dichos eventos (Bertani et al., 2016; Xiaoyi et al., 2016).

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Caracterizar a nivel de género las algas verdes (Chlorophyta y Charophyta) y Cianobacterias (Cyanophyta) en el plancton del humedal Ecoparque Lago de las Garzas

4.2 Objetivos específicos

4.2.1 Diseñar y ejecutar un plan de muestreo piloto que permita estimar la diversidad y variabilidad a fin aportar información necesaria para diseñar futuros esquemas de muestreo periódico.

4.2.2 Inventariar a nivel de género la diversidad de algas verdes y cianobacterias presentes en los humedales objeto de estudio y determinar su abundancia.

4.2.3 Proponer, a través de una revisión bibliográfica, una selección de géneros de interés para futuros estudios de bioindicación y bioprospección de cepas productoras de compuestos de interés en ciencia básica y aplicada.

5. METODOLOGÍA

5.0 Área de estudio

El presente trabajo se desarrolló en el humedal Lago de las Garzas, ubicado en la zona sur de Santiago de Cali - Valle del Cauca, Colombia (3°19'54.74"N, 76°32'12.87"W; 1044 msnm). Es un sistema acuático léntico de origen artificial, construido gracias al esfuerzo conjunto de las familias de las víctimas del accidente aéreo de American Airlines en diciembre de 1995, la comunidad aledaña y las autoridades ambientales. Este humedal cuenta con una superficie aproximada de 0.8 hectáreas dentro de un área protegida de por lo menos

Figura 1. Entrada (izq.), y salida (der.) visible de agua e islote de anidación en el humedal Las Garzas *(León Sánchez, 2012)*

4 hectáreas, posee una única entrada y salida de agua visible. Presenta gran cantidad de vegetación asociada.

5.1 Muestreo y Preservación de las muestras

Muestreo: Ante la inexistencia de caracterizaciones previas de la comunidad fitoplanctónica, se ejecutó un muestreo con puntos situados no-aleatoriamente. Se adoptó este patrón de muestreo ya que el humedal cuenta con diferentes zonas identificables, a saber: las zonas de entrada y salida visibles de agua, así como el islote donde se concentran las garzas (ver figura 1). Situar puntos de muestreo en estas zonas permite evaluar cómo incide el agua que ingresa en el sistema, incluyendo la evaluación del agua que está por ingresar, la condición de la comunidad en el agua que abandona el sistema y el efecto de las descargas orgánicas concentradas alrededor del islote por parte de la avifauna.

Lo anterior, con el objetivo de cubrir estratégicamente las diferentes zonas con las que cuenta el humedal. En la figura 2, se relacionan los puntos de muestreo evaluados en cada una de las jornadas.

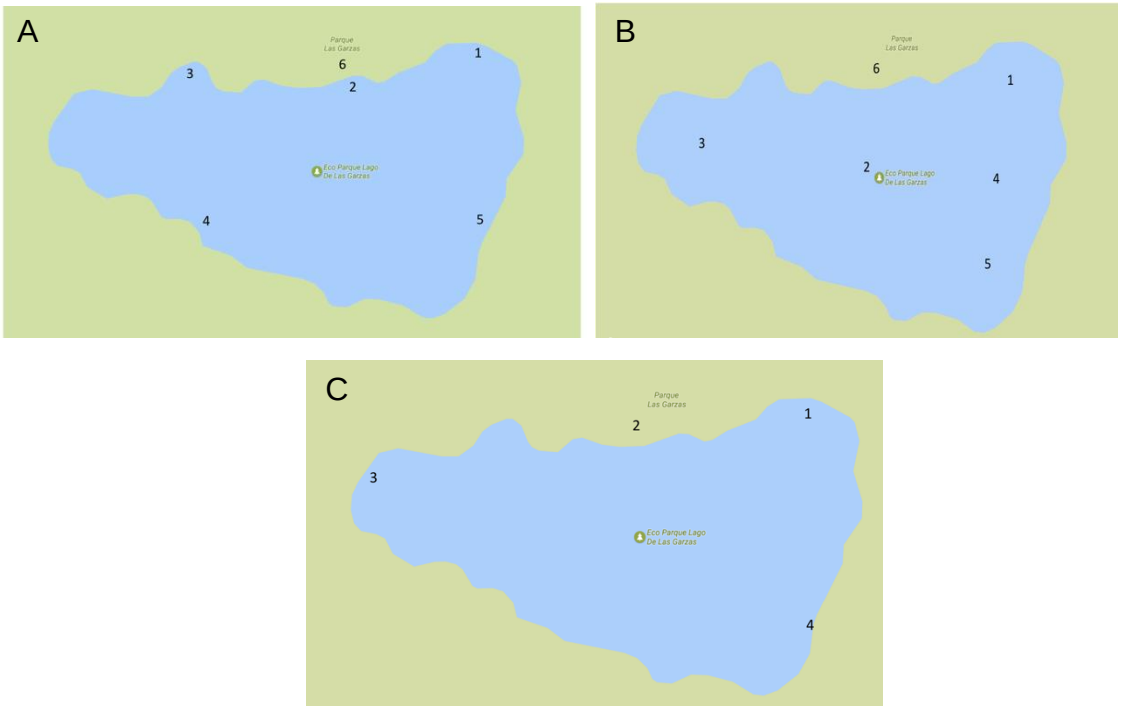

Figura 2. Puntos de muestreo para las jornadas: A. 14-Octubre-2016; B. 02-Diciembre-2016; C. 03-Enero-2016

Preservación de muestras

A fin de preservar en el mediano plazo las muestras destinadas a conteos e identificación (1 L), se utilizó una solución de lugol ácido con concentración final de 2.5 % (ver *Protocolo Anexo 1. Fijación y preservación de muestras*).

Las muestras destinadas a la determinación de parámetros fisicoquímicos (700 mL) se preservaron a 4ºC, adicionando ácido sulfúrico en las submuestras destinadas a la determinación de nitrógeno y empleando frascos plásticos ámbar para las submuestras destinadas a los análisis de fósforo. Dado que los análisis fueron contratados, estas fueron entregadas al proveedor de análisis en un plazo no mayor a 6 horas. La información respecto a cada muestra se organizó y documentó de acuerdo al Protocolo Anexo 2.

El material destinado al análisis microbiológico en términos de coliformes fecales y no fecales, se colectó en recipientes Whirl-Pack estériles y se preservó a 4ºC por un periodo no mayor a 12 h hasta su análisis.

5.2 Conteo e identificación

Conteo:

El volumen de muestra a disponer en la cámara de sedimentación (ver *Protocolo Anexo 3. Estandarización del volumen/concentración de muestra*) se fijó en 25 mL. La sedimentación de las muestras se llevó a cabo en cámara Utermöhl (Aquatic Research Instruments, Estados Unidos).

El número de objetos a contar se determina con base en el nivel de precisión requerido de acuerdo a la siguiente ecuación

$$n_{contar} = \left(\frac{1}{D}\right)^2 \quad (1)$$

Donde, n_{contar} es el número de células a contar si se desea un nivel de precisión D. Por ejemplo, para alcanzar una precisión del 20% se requiere contar $(1/0.2)^2 = 25\ células$. Un nivel de precisión adecuado para métodos cuantitativos es 5% que exige contar al menos 400 células. Los conteos se realizaron por triplicado para cada muestra empleando un microscopio óptico invertido (Nikon, Japón).

Identificación:

La identificación preliminar de los organismos encontrados se llevó a cabo basada en claves taxonómicas generales (Bellinger & Sigee, 2015; Landcare Research, 2017).

Los hallazgos preliminares fueron confirmados empleando claves específicas para los diferentes grupos encontrados: Zygnematales y Desmidiales (Gerrath, 2003), algas verdes filamentosas (John, 2003), algas verdes coloniales (Shubert, 2003) y cianobacterias filamentosas (Komárek, 2003). La nomenclatura taxonómica se verificó en AlgaeBase (Algae Base, 2017).

5.3 Determinación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos

A continuación, se detallan los parámetros fisicoquímicos que se determinaron en cada muestra:

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos y metodología propuesta para su medición.

Parámetro	Metodología
Oxígeno disuelto	Medición *in situ:* Multiparámetros
pH	Medición *in situ:* Multiparámetros
Temperatura	Medición *in situ:* Multiparámetros
Conductividad	Medición *in situ:* Multiparámetros
Sólidos totales disueltos	Medición *in situ:* Multiparámetros
Máxima Profundidad de penetración de luz	Profundidad de Secchi
Fosforo total	Contratado a tercero – Comprobación *in house*
Ortofosfatos	Contratado a tercero – Comprobación *in house*
Nitritos	Contratado a tercero – Comprobación *in house*
Nitratos	Contratado a tercero – Comprobación *in house*
Nitrogeno total	Contradado a tercero – Comprobación *in house*
Recuento de coliformes fecales y totales	Filtración por membrana

Si bien los análisis de cuantificación de nutrientes (Nitritos, Nitratos, Nitrógeno Total, Ortofosfatos y Fosforo total) se contrataron en principio con un laboratorio externo, los resultados emitidos por este se sometieron a una reevaluación *in house* usando el sistema fotométrico Spectroquant® (Merck, Alemania). Para tal fin, los análisis se realizaron siguiendo los procedimientos establecidos por el fabricante para cada variable, estas mediciones se llevaron a cabo empleando muestras tomadas el 03-Enero-2017, en un plazo no mayor a las 48 horas.

5.4 Estimación de la diversidad a nivel de género y similaridad intermuestral

Con el fin de estimar la similaridad entre los diferentes sitios de muestreo se empleó el índice de similitud de Bray-Curtis, de acuerdo a la siguiente ecuación

$$BC_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^{n} n_{i,k} - n_{j,k}}{N_i + N_j} \quad (2)$$

Donde corresponde al índice de similitud de Bray-Curtis entre las muestras i y j, $n_{i,k}$ el número de individuos del género k en la muestra i, $n_{j,k}$ el número de individuos del género k en la muestra j, N_j y N_i el número total de individuos en la muestra j e i, respectivamente. Las muestras son tan similares cuanto el valor de este índice se acerque a cero.

Por otro lado, la diversidad a nivel de género se estimó usando el índice de Shannon-Wiener, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$H' = -\sum_{i=1}^{n} p_i \ln p_i \quad (3)$$

Donde, H' corresponde al índice de Shannon-Wiener y p_i la abundancia relativa de la especie i. La diversidad será mayor cuanto más alto sea el valor de éste índice.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Diseño y ejecución de un plan de muestreo piloto

En concordancia con el primer objetivo específico del presente trabajo, se llevaron a cabo dos jornadas de muestreo en octubre y diciembre del año 2016, tomándose en cada jornada 6 muestras en sitios no aleatorios del humedal. La no-aleatoriedad de estos puntos se basó en el objetivo de determinar si el humedal presenta zonas diferenciables en función de sus características aparentes, esto es: los sitios alrededor de la entrada y salida de agua del humedal, así como la zona alrededor del islote donde se concentra una cantidad importante de aves, lugar en el cual se esperaba hubiese mayor concentración de material orgánico.

Como se mostrará más adelante, las muestras presentan gran similitud entre sí, sin embargo, la detección de un organismo indicador de ambientes mesotróficos (*Closterium*) en la región cercana a la entrada de agua del humedal muestra la importancia de mantener dos estaciones de muestreo para la continuidad del

monitoreo de estas comunidades: un sitio cercano a la entrada de agua del humedal (punto 3, figura B) y otro en el área circundante al islote donde se concentran las aves (punto 4, figura B).

6.2 Caracterización de la comunidad de algas verdes y cianobacterias: diversidad y composición

En orden de responder al segundo objetivo específico del trabajo, las muestras tomadas en ambas jornadas de muestreo fueron analizadas. En la tabla 2 se presentan los resultados de abundancia en cámara Utermöhl correspondientes a la primera jornada de muestreo (octubre-2016), así como el índice de Sannon-Wiener calculado para cada muestra.

Tabla 2. Géneros encontrados y abundancias para muestras tomadas en 14-Oct-2016

Género	M1	M2	M3	M4	M5	M6	$\overline{X}$*
Desmodesmus	64 (2.5)	56 (1.0)	74 (4.4)	65 (1.7)	55 (4.2)	-	63
Coenocystis	10 (1.5)	11 (1.0)	22 (2.1)	5 (2.1)	15 (3.2)	-	13
Golenkinia	265 (3.5)	212 (2.0)	216 (2.1)	273 (1.7)	206 (3.1)	2 (1.5)	235
Staurastrum	15 (4.5)	16 (0.6)	24 (3.1)	13 (1.0)	16 (2.1)	-	17
Pediastrum	27 (2.1)	16 (3.5)	13 (3.2)	24 (3.2)	26 (3.5)	-	22
Staurodesmus	3 (1.2)	7 (2.1)	9 (0.6)	3 (1.5)	6 (2.0)	-	6
Xanthidium	-	14 (4.9)	14 (4.4)	5 (2.3)	6 (3.6)	-	8
Cosmarium	22 (1.7)	44 (1.2)	25 (3.1)	17 (4.0)	37 (4.1)	-	29
Mougeotia	3 (0.6)	4 (1.5)	3 (2.3)	4 (2.6)	1 (0.6)	-	3
Microspora	7 (1.2)	15 (1.0)	14 (2.0)	4 (1.7)	16 (4.1)	-	12
Volvox	1 (0.6)	-	-	-	1 (0.6)	-	1
Closterium	-	8 (0.6)	1 (1.0)	-	-	-	2
Anabaena	15 (4.6)	12 (1.5)	15 (2.5)	10 (1.0)	12 (0.6)	-	13
ISW	1.3	1.7	1.8	1.3	1.6	0.04	

(-) No se encontró ninguna célula del taxón durante el conteo en ninguna réplica de la muestra
(*) El promedio excluye los datos de la muestra 6
ISW índice de Shannon-Wiener
Nota: Los datos están presentados en el siguiente formato: promedio (desviación estándar)

Con el fin de estimar la similitud entre los diferentes sitios de muestreo se calculó el índice de Bray-Curtis, los resultados se muestran a continuación en la tabla 3.

Tabla 3 Valores calculados del índice de Bray-Curtis para muestras tomadas en 14-Oct-2016

Muestra	1	2	3	4
2	0.01			
3	0.02	0.03		

Continuación

4	0.01	0.03	0.01	
5	0.03	0.02	0.05	0.04
6	0.99	0.99	0.99	0.99

A continuación, en la tabla 4, se presentan los resultados de abundancia para las muestras recolectadas durante la segunda jornada (Diciembre-2016).

Tabla 4. Géneros encontrados y abundancias para muestras tomadas en 02-Dic-2016

Género	M1	M2	M3	M4	M5	M6	$\bar{X}$*
Desmodesmus	64 (3.5)	56 (5.5)	*73 (1.5)*	*65 (3.5)*	*54 (1.5)*	-	63
Coenocystis	9 (4.2)	12 (2.0)	*27 (3.8)*	*6 (2.0)*	*11 (1.0)*	-	13
Golenkinia	263 (2.5)	213 (4.4)	*212 (1.2)*	*272 (2.3)*	*204 (0.6)*	3 (2.0)	235
Staurastrum	14 (2.6)	16 (3.6)	*24 (3.1)*	*17 (2.1)*	*13 (3.8)*	-	17
Pediastrum	25 (2.5)	16 (2.3)	*16(1.5)*	*24 (1.5)*	*25 (3.8)*	-	22
Staurodesmus	3 (1.2)	5 (4.5)	*5 (2.1)*	*4 (1.5)*	*4 (0.6)*	-	6
Xanthidium	5 (0.0)	12 (1.2)	*15 (3.6)*	*6 (4.9)*	*3 (1.5)*	-	8
Cosmarium	23 (3.0)	46 (3.2)	*26 (1.2)*	*12 (0.6)*	*34 (1.5)*	-	29
Mougeotia	3 (3.5)	5 (3.2)	*3 (3.0)*	*4 (3.2)*	*1 (1.0)*	-	3
Microspora	7 (1.5)	18 (1.5)	*15 (2.9)*	*7 (2.0)*	*15 (3.5)*	-	12
Volvox	2 (0.6)	-	-	-	-	-	1
Closterium	-	7 (0.6)	*2 (1.0)*	-	-	-	2
Anabaena	14 (3.1)	15 (2.0)	*12 (1.5)*	*14 (3.1)*	*12 (2.1)*	-	13
ISW	1.4	1.7	1.8	1.4	1.5	0.04	

(-) No se encontró ninguna célula del taxón durante el conteo en ninguna réplica de la muestra
(*) El promedio excluye los datos de la muestra 6
ISW índice de Shannon-Wiener
Nota: Los datos están presentados en el siguiente formato: promedio (desviación estándar)

Las muestras tomadas en 02-Dic-2016 presentan, al igual que las muestras tomadas en octubre de 2016, una similitud apreciable que se pone en manifiesto a través del índice de Bray-Curtis, mostrando valores muy cercanos a cero (ver tabla 5).

Tabla 5 Valores calculados del índice de Bray-Curtis para muestras tomadas en 02-Dic-2016

Muestra	**1**	**2**	**3**	**4**
2	0.02			
3	0.02	0.01		
4	0.00	0.02	0.02	
5	0.07	0.05	0.05	0.07
6	1.0	1.0	1.0	1.0

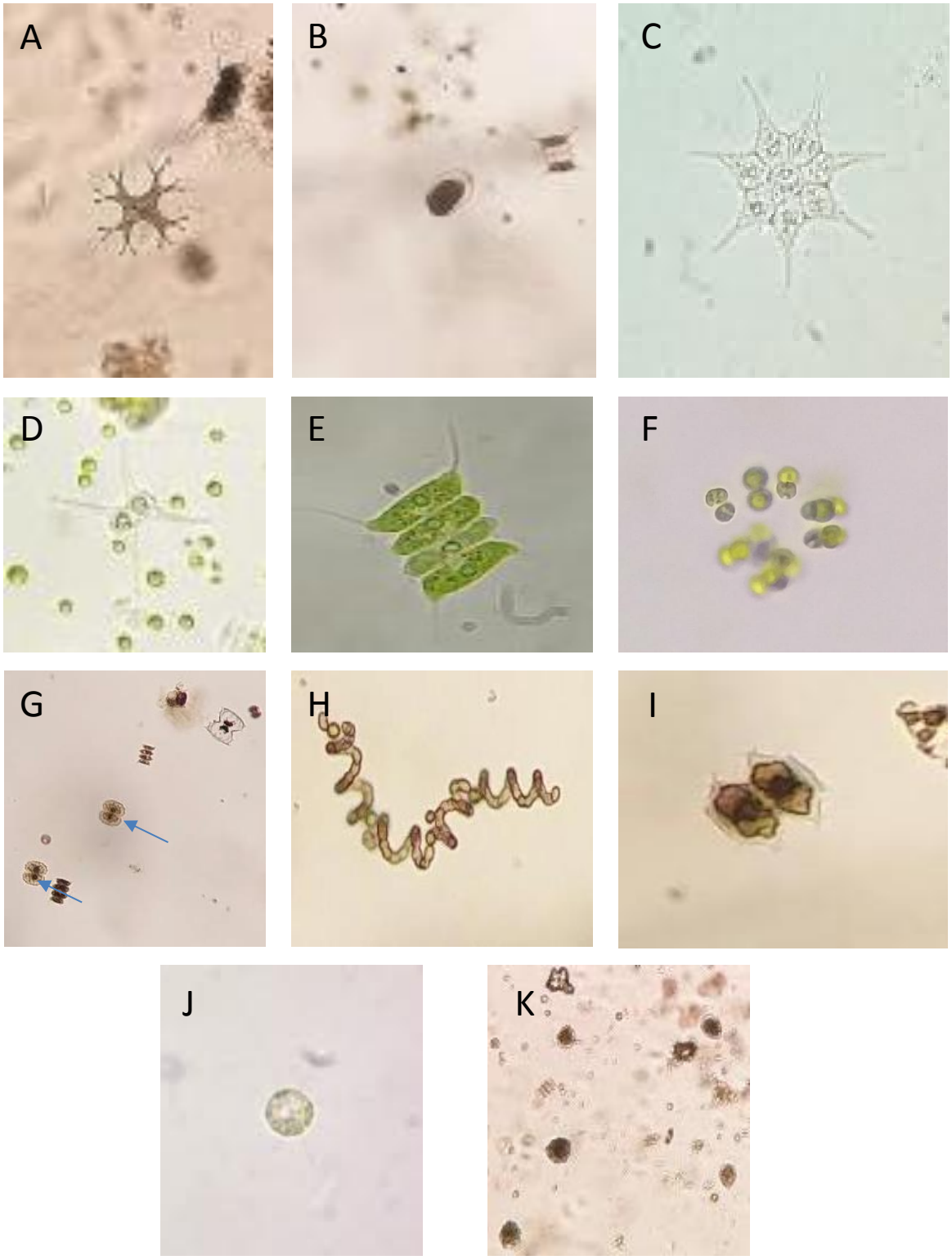

Figura 3. A. Pseudostaurastrum, B. Posible huevo de uncinarias o de *Ascaris lumbricoides* decorticado*, C. Pediastrum, D. Staurastrum, E. Desmodesmus, F. Coenocystis, G. Cosmarium, H. Anabaena I. Xanthidium, J. Golenkinia y K. Peridinium*

Como se muestra en las tablas 2 y 4, la comunidad de algas verdes encontradas está representada tanto por organismos del phylum Charophyta, dentro del cual el orden Desmidiales es el más predominante, como del phylum Chlorophyta, donde se encontraron organismos del orden Sphaeropleales. Adicionalmente, se encontraron representantes de los ordenes Zygnematales (Charophyta) y Chlamydomonadales (Chlorophyta). Respecto a la población de cianobacterias, tanto en muestreos preliminares como en los conteos en cámara Utermöhl, se encontró únicamente individuos del género *Anabaena ,* perteneciente a la familia Nostocales.

El orden Desmidiales agrupa cuatro familias: Desmidiaceae, Closteriaceae, Peniaceae y Gonatozygaceae. La familia Desmidiaceae agrupa por lo menos cincuenta géneros, encontrándose cuatro de estos en la comunidad fitoplanctónica del humedal Lago de las Garzas, a saber: *Staurastrum, Staurodesmus, Xanthidium* y *Cosmarium.* De otro lado, dentro de la familia Closteriaceae se encontró únicamente el género *Closterium* En la presente caracterización no se encontraron organismos de las familias Peniaceae y Gonatozygaceae.

Dentro del orden Zygnematales, familia Zygnemataceae se encontró el género *Mougeotia.*

El orden Sphaeropleales agrupa por lo menos 17 familias, siendo Scenedesmaceae la más prominente, dentro de la cual se encontró el género *Desmodesmus spp.* Se encontró, además, una amplia variedad de organismos pertenencientes al orden en mención, distribuidos en cuatro familias: Radiococcaceae (*Coenocystis*), Hydrodictyaceae (*Pediastrum*), Microsporaceae (*Microspora*) y Neochloridaceae (*Golenkinia*), destacándose esta última por ser el taxón más abundante en términos de número de individuos.

Registros fotográficos de algunos de los géneros encontrados se presentan en la figura 3. En la misma, también se pueden observar algas pertenecientes a otros grupos no contemplados en el presente trabajo como las algas pardas (*Pseudostaurastrum*) y dinoflagelados (*Peridinium*)

Frente a los datos de abundancia y composición de los diferentes géneros encontrados, el primer aspecto a discutir es, por supuesto, si los mismos son coherentes respecto a los factores abióticos asociados al humedal. Para tal fin, la cuantificación de ortofosfatos, fósforo total, nitrógeno total, nitritos y nitratos fue contratada con un laboratorio tercero. Los resultados de estos análisis se presentan a continuación en la tabla 6.

Tabla 6. Resultados de concentración de nitritos, nitratos, nitrógeno total, ortofosfatos y fósforo total para muestras tomadas en 02-Dic-2016

	Muestra					
Parámetro	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Nitritos (N-NO_2 ppm)	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015
Nitratos (N-NO_3 ppm)	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
Nitrógeno total (ppm)	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0
Ortofosfatos (PO_4 ppm)	<0.25	<0.25	<0.25	<0.25	<0.25	<0.25
Fosforo total (P-PO_4 ppm)	<0.08	<0.08	<0.08	<0.08	<0.08	<0.08

Tras revisar los certificados de análisis emitidos por el laboratorio tercero, estos resultaron incoherentes respecto a los parámetros nitrogeno total, fosforo total y ortofosfatos, dadas las características aparentes del humedal y los hallazgos previos de abundancia y composición de la población fitoplanctónica. Por lo anterior, los análisis fueron repetidos *in house* empleando los kits para análisis fotométrico del sistema Spectroquant® (Merck, Alemania) con muestras de agua subsuperficial tomadas el día 03 de enero de 2017 (ver tabla 7).

Tabla 7. Resultados de concentración de nitritos, nitratos, nitrogeno total, ortofosfatos y fosforo total para muestras tomadas en 02-Ene-2017

	Muestra			
Parámetro	**1**	**2**	**3**	**4**
Nitritos (N-NO_2 ppm)	1.66	0.8	1.20	1.25
Nitratos (N-NO_3 ppm)	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3
Nitrógeno total (ppm)	3.2	2.3	2.3	2.5
Ortofosfatos (PO_4 ppm)	1.6	1.07	1.3	1.2
Fosforo total (P-PO_4 ppm)	0.56	0.38	0.41	0.42

Como se aprecia en las tablas 2 y 4, los géneros de mayor abundancia en los conteos son *Golenkinia* y *Desmodesmus,* dos géneros ampliamente reconocidos por encontrarse comúnmente asociados a sistemas eutróficos (Dilini & Wijeyaratne, 2016; Kshirsagar, 2013; Sawaiker & Rodrigues, 2016; Wan Maznah & Makhlough, 2015).

La abundancia predominante de *Golenkinia* es únicamente a nivel de número de individuos, ya que el biovolumen promedio por cada individuo es 24 μm^3, mientras que *Desmodesmus spp.* cuenta con 231 μm^3, casi 10 veces mayor. Esta observación es relevante, ya que encontrar una mayor abundancia de *Golenkinia* podría ser, cuando menos en principio, contradictorio dada las condiciones del humedal en estudio. *Desmodesmus* fue situado por Palmer en el cuarto lugar de géneros fitoplanctónicos resistentes a la polución orgánica en sistemas acuáticos, basado en por lo menos 160 publicaciones. *Desmodesmus* es superado

únicamente por los géneros *Euglena, Oscillatoria* y *Chlamydomonas* (Palmer, 1974).

De cualquier manera, otros géneros encontrados son también organismos asociados a sistemas acuáticos con altas cargas de nutrientes: *Staurastrum* (Restano, Ramírez Restrepo, Echenique, Vallejo, & Ortiz, 2011), *Coenocystis* (Kim, 2014), *Pediastrum* (Abrantes, Antunes, Pereira, & Gonçalves, 2006) y *Mougeotia* (Tapolczai et al., 2015).

Cosmarium es un género que puede encontrarse en sistemas acuáticos de diferentes estados tróficos, sin embargo, las células de tamaño mayor al habitual, observadas durante los conteos, son una peculiaridad típica de sistemas eutróficos (Xavier, Vale, & Vasconcelos, 2007).

Al comparar los resultados de la cuantificación de macronutrientes con los lineamientos propuestos para estimar la eutrofización en sistemas acuáticos (Vásquez-Zapata et al., 2012) el Humedal Lago de las Garzas se sitúa en la categoría de sistema eutrófico. Por lo anterior, la evidencia fitoplanctónica respalda los resultados analíticos de los ensayos fisicoquímicos determinados *in house* y permite desestimar los certificados analíticos del laboratorio contratado.

La diversidad estimada a través del índice de Shannon-Wiener se encuentra, en general, entre valores de 1.3 y 1.8 para las muestras analizadas. Dado que no se cuenta con precedentes en el humedal en estudio o en otros de la zona sur de Cali, resulta conveniente, en orden de establecer puntos de comparación en cuanto a la diversidad de la población, señalar que el número de géneros de algas verdes se encuentra en el rango de 8 a 19 en otros humedales urbanos de similares características, con valores del índice de Shannon-Wiener que varían entre 0.9 y 1.8 teniendo en cuenta únicamente algas verdes y cianobacterias (Ajayan & Kumar, 2015; Ganai & Parveen, 2014; Rodríguez Garzón, 2012). La diversidad de cianobacterias suele ser menor que la de algas verdes en este tipo ambientes. No obstante, la presencia de un único género representa una diversidad por mucho menor que el promedio para éste grupo en el Humedal Lago de las Garzas.

Si bien los índices de Bray-Curtis utilizados para determinar la similitud entre las muestras señalan, por la cercanía de los valores a cero (ver tablas 4 y 6), que las muestras 1 a 5 son muy similares entre sí, no debe pasarse por alto la distribución y abundancia del género *Closterium* Como se observa en los conteos (ver tablas 2 y 4), el género en mención está presente únicamente en las muestras 2 y 3, aquellas que se encuentran más cercanas a la entrada de agua del humedal, donde los valores de nutrientes son menores. Lo anterior muestra la utilidad de ciertos géneros fitoplanctónicos para indicar el estado trófico de su ambiente inmediato, dada su sensibilidad a la concentración de nutrientes. *Closterium spp.* es bioindicador de sistemas oligotróficos y oligo-mesotróficos (El-Serehy, Al-

Misned, Shafik, Al-Rasheid, & Bahgat, 2014; Ersanlı & Gönülol, 2014), por ello su baja abundancia y el hecho de que no se encuentre en todos los puntos como sucede con otros géneros es también un indicio del estado eutrófico del humedal.

Los resultados de los parámetros determinados *in situ* se presentan a continuación en la tabla 8.

Tabla 8 Resultados de parámetros fisicoquímicos para muestras tomadas en 02-Ene-2017

	Parámetro					
Muestra	**pH**	**Solidos totales disueltos (ppm)**	**Conductividad ($\mu S \cdot cm^{-1}$)**	**Profundidad de Secchi (m)**	**Oxígeno disuelto (%S.D.O.)**	**Temperatura (ºC)**
1-1	6.8	68.2	43.65	-	65	22
1-2	6.9	64.3	41.15	-	64	22
1-3	6.9	64.8	41.47	-	67	22
1-4	7.1	65.9	42.18	-	65	22
1-5	6.8	64.5	41.28	-	65	22
1-6	7.1	83.5	53.44	-	78	20
2-1	7.4	65.2	41.73	0.65	65	21
2-2	7.2	62.1	39.74	0.65	64	21
2-3	7.2	62.4	39.94	0.65	67	21
2-4	7.3	63.6	40.70	0.65	65	21
2-5	7.2	63.1	40.38	0.65	65	21
2-6	7.1	87.5	56.00	-	78	19

Nota: Las muestras 1-1 a 1-6 y la muestra 1-6 no cuentan con valores de profundidad de Secchi debido a que se tomaron en sitios de baja profundidad.

De acuerdo con Vásquez y colaboradores (Vásquez Zapata et al., 2012), dentro de los parámetros evaluados en el presente trabajo hay factores de elevada (fosfatos y fósforo total), mediana (nitritos y conductividad) y baja (oxígeno disuelto) influencia sobre procesos de eutrofización en sistemas acuáticos.

El fósforo, especialmente en forma de ortofosfatos que alcanza los sistemas acuáticos se origina, principalmente, a través de la erosión orgánica. Es decir, gracias al arrastre de este tipo de compuestos desde los terrenos asociados al humedal hacia el mismo ya sea por escorrentía u otros fenómenos. La cantidad que entra en el sistema está altamente influenciada por fenómenos antrópicos tales como la ganadería y otras actividades agrícolas, por la liberación de materia orgánica y el uso de fertilizantes, respectivamente.

Se sugiere que, a menudo, el nutriente limitante en los procesos de eutrofización de aguas continentales es el fósforo (Elser et al., 2007). Por esta razón, la presencia de este elemento en concentraciones considerablemente mayores que el valor de referencia para un sistema de equilibrio trófico (0.025 ppm-PO_4^{3-}), sugiere un proceso avanzado de acumulación del mismo.

En el sistema bajo estudio se observaron elevados niveles de nitrito. Estos tienen su origen, principalmente, en la erosión y descargas de origen orgánico, de la misma forma, se ve incrementado por el uso de fertilizantes en las zonas asociadas.

El nitrito es una especie intermedia que precede al amonio en la oxidación del nitrógeno atmosférico u orgánico hasta el nitrato. En este caso particular, atrae la atención el hecho de que se presente nitrito en elevadas concentraciones al tiempo que los nitratos permanecen indetectables.

Es posible que se esté presentando escenario en el que el nitrato se consume a un ritmo mayor por parte de los productores primarios respecto a la conversión de nitrito en nitrato por parte de las bacterias nitrificantes, especialmente si se tiene en consideración que el pH, la temperatura y el oxígeno disuelto están por debajo de los niveles óptimos para que éste proceso se lleve a cabo. Adicionalmente, se ha encontrado que elevadas concentraciones de amonio pueden inhibir las bacterias encargadas de la conversión de nitrito en nitrato (Balmelle, Nguyen, Capdeville, Cornier, & Deguin, 1992). Si bien la concentración de amonio no fue medida, los niveles de nitrógeno total sugieren que el primero también se encuentra presente en cantidades importantes.

Por otro lado, la determinación de coliformes se llevó a cabo con un volumen de muestra sembrado de 5 mL, encontrando que las unidades formadoras de colonia, tanto de *E. coli* (coliformes fecales) como de otras coliformes, están presentes en cantidad superior a la que puede ser contada sobre la membrana de filtración. Esta concentración del organismo indicador respalda la posibilidad de que el humedal se esté enfrentando a importantes descargas orgánicas de origen fecal. Adicionalmente, durante los conteos en cámara Utermöhl se pudo apreciar la presencia de huevos de *Taenia spp* y otros especimenes que, en función de morfología, bien podrían provenir de uncinarias o tratarse de huevos de *Ascaris spp* decorticados (ver figura 3-B).

Como se mencionó anteriormente, la formación de florecimientos algales está estrechamente relacionada con condiciones de eutrofia. En este caso, resulta conveniente mantener una vigilancia atenta de las condiciones del humedal ya que, por su estado trófico, podría constituirse en un escenario para la eventual formación de un florecimiento algal tóxico, dada la presencia de *Anabaena sp*, organismo que ha sido identificado en este tipo de eventos (Li, Dreher, & Li, 2016; Sotero-Santos, Carvalho, Dellamano-Oliveira, & Rocha, 2008).

6.3 Oportunidades biotecnológicas a partir de las algas verdes y cianobacterias encontradas en el humedal

En atención al tercer objetivo específico identificaron oportunidades de aplicación biotecnológica en los géneros encontrados en el humedal. Estas se reúnen a continuación en la tabla 9.

Tabla 9 Relación de géneros presentes en el humedal Lago de las Garzas y oportunidades biotecnológicas reportadas en la literatura.

Oportunidad Biotecnológica	Género(s)	Referencias
Obtención de ácidos grasos para producción de biocombustibles	*Desmodesmus, Staurodesmus, Staurastrum* y *Mougeotia*	(Laird, Steele, & Ladner, 2013; Vijayaraghavan & Hemanathan, 2009; Zhang, Zhao, Cui, Wang, & Liu, 2016)
Producción de Biomasa con proporción importante de proteína	*Desmodesmus*	(Priyadarshani & Rath, 2012)
Aislamiento de compuestos biológicamente activos	*Anabena*	(Bagchi, Sondhia, Agrawal, & Banerjee, 2016; El-Aty, Mohamed, & Samhan, 2014)
Obtención de pigmentos de alto valor agregado	*Desmodesmus*	(Soares, Marques Júnior, Lopes, Derner, & Antoniosi Filho, 2016)
Remoción de nutrientes y/o metales pesados	*Desmodesmus* y *Golenkinia*	(Xin, Hong-ying, & Jia, 2010; Xin, Hong-ying, Ke, & Jia, 2010)

El aislamiento de moléculas biológicamente activas es un campo de investigación que continúa funcional y en crecimiento, representando un gran interés para la academia y la industria, especialmente en campos como la resistencia microbiana (Brown & Wright, 2016). No obstante, esta es apenas una etapa, incipiente si se quiere, en un proceso con un costo elevado y de largo aliento (Avorn, 2015). Por lo anterior, en ausencia de colaboraciones con la industria farmacéutica multinacional para el momento de elaboración de este trabajo, se trata de una

oportunidad con alto potencial dada la diversidad y poca investigación realizada hasta el momento en el humedal Lago de las Garzas, pero que sin embargo no cuenta con las condiciones en el futuro inmediato.

La luteína y la zeaxantina son pigmentos pertenecientes a la familia de las xantofilas con cada vez mayor aceptación y evidencia acerca de sus beneficios para la salud, especialmente sobre el bienestar de la visión humana (Abdel-Aal, Akhtar, Zaheer, & Ali, 2013; Krinsky, Landrum, & Bone, 2003). Algunas Chlorophytas como *Desmodesmus* han sido identificadas como fuente importante de ambos pigmentos con rendimientos considerables (Granado-Lorencio et al., 2009; Sánchez, Fernández-Sevilla, et al., 2008; Sánchez, Fernández, et al., 2008).

Uno de los productos con mayor popularidad en los últimos años que se pueden obtener a partir de algas son los ácidos grasos para la producción de biosiesel (Ames, Rubin, & Knight, 2016). Dicha popularidad motivada por las ventajas frente a los combustibles fósiles: se trata de una fuente renovable, las emisiones son *recapturadas* por la fijación de carbono que alcanza el 88.8% (de Morais & Costa, 2007), no compiten por suelos cultivables (Castiblanco, Etter, & Aide, 2013) y se pueden disponer de manera vertical.

Ante esta revisión de oportunidades biotecnológicas, la posibilidad de obtener productos de valor agregado es evidente. No obstante, si la producción de biomasa se maneja de manera tradicional, es decir, a través del cultivo en medios líquidos producidos a partir de soluciones de micro- y macronutrientes se estaría contribuyendo, de cualquier manera, al mismo fenómeno que está afectando, al igual que al humedal Lago de las Garzas, a un número importante de sistemas acuáticos en todo el territorio (Rodríguez Garzón, 2012; Vásquez, Ariza, & Pinilla, 2006).

¿Son, en este orden de ideas, inherentes a la producción de biomasa los eventos que contribuyen a los fenomenos de eutrofización? Por fortuna la respuesta es no o, por lo menos, no necesariamente. Surge una posibilidad de gran interés: acoplar la producción de biomasa para la obtención de productos con valor agregado y la remoción de nutrientes. Es decir, llevar a cabo la producción de biomasa empleando agua del humedal y cepas aisladas del mismo. Experimentos a diferentes escalas muestran la capacidad de *Desmodesmus* para remover nutrientes, tanto fósforo como nitrógeno, en más de un 90% (Gao et al., 2016; Travaini-Lima, Milstein, & Sipaúba-Tavares, 2016; Wang, Li, Bai, Lang, & Hu, 2016).

Por lo anterior, el género con mayor opción para plantear un desarrollo biotecnológico es *Desmodesmus* pudiéndose llegar a adaptar un sistema de tratamiendo de agua del humedal a la producción de biomasa del mismo (Gao et al., 2016) con la finalidad de obtener productos de valor agregado.

7. CONCLUSIONES

El plan de muestreo piloto planteado fue ejecutado cubriendo el periodo octubre – diciembre del año 2016. Los resultados en términos de similitud de las muestras establecen que, en adelante, los muestreos pueden estar constituidos por sólo dos muestras situadas en las zonas cercanas a la entrada de agua del humedal y el islote donde se concentran las garzas.

Se llevó a cabo la caracterización de la comunidad planctónica de algas verdes en el periodo octubre a diciembre de 2016, esta estuvo compuesta principalmente por organismos de los órdenes Desmidiales (*Staurastrum, Staurodesmus, Xanthidium, Cosmarium y Closterium*) y Sphaeropleales (*Coenocystis, Golenkinia, Pediastrum y Microspora*). En menor medida se encontraron organismos de los órdenes Zygnematales (*Mougeotia*) y Chlamydomonadales (*Volvox*). En cuanto a abundancia, el género *Golenkinia* fue el más representativo en número de individuos, seguido por *Desmodesmus*. No obstante, en función de su biovolumen celular *Desmodesmus* presenta mayor abundancia. En cuanto a la comunidad de cianobacterias, se identificó el género *Anabaena* perteneciente al orden Nostocales.

Desmodesmus, Golenkinia, Staurastrum, *Coenocystis*, *Pediastrum* y *Mougeotia,* géneros reportados en el presente trabajo, son reconocidos indicadores de eutrofia. Observación que se confirma por niveles elevados de fósforo y nitrógeno determinados en el presente trabajo. Adicionalmente, *Closterium,* un género indicador de sistemas meso- y oligotróficos, se encontró únicamente en las zonas cercas a la entrada de agua del humedal y en baja abundancia.

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica con el objetivo de establecer potenciales aplicaciones biotecnológicas a partir de las algas identificadas en el presente trabajo. A partir de esta información, se plantea la posibilidad de usar agua del humedal como medio de cultivo para *Desmodesmus,* permitiendo acoplar la producción de biomasa con la remoción de nutrientes del sistema.

8. RECOMENDACIONES

Los muestreos estuvieron restringidos al último trimestre del año 2016, por lo cual se recomienda incluir muestreos en otros momentos del año que tomen en cuenta periodos climáticos contrastantes. Adicionalmente, se sugiere el uso de técnicas complementarias que permitan detectar la posible presencia de otros géneros, especialmente de cianobacterias. De cualquier forma, ampliar la posibilidad de identificar y, en la medida de lo posible, cuantificar organismos nano- y fitoplanctónicos es recomendable.

Dado que diferentes condiciones de humedal indican que este puede estar sufriendo descargas importantes de materia orgánica, resulta conveniente llevar a cabo un seguimiento temporal de variables fisicoquímicas en la entrada visible de agua del humedal a fin de determinar si esta es la vía de ingreso de estos materiales al sistema.

9. PROTOCOLOS ANEXOS

9.1 Protocolo anexo I: Fijación y preservación de muestras.

Para fijar y preservar las muestras se usó solución ácida de lugol a una concentración final de 2.5% y formaldehído neutralizado 2.0%. La cantidad de formaldehído neutralizado a añadir dependerá de la concentración a la que éste se encuentre:

$$V_{FA} = \frac{0.02 V_M}{0.98 C}$$

Donde, V_{FA} representa el volumen de solución formaldehído de concentración volumen-volumen C a agregar a una muestra de volumen V_M

9.1.1 Preparación de la solución ácida de Lugol

Materiales:

- Yoduro de potasio (100 g)

-Yodo molecular (50 g)

-Ácido acético glacial (100 g)

-Agua tipo I (1000 mL)

Procedimiento:

1. Disponer en un recipiente limpio 1000 mL de agua tipo II y agregar 100 g de yoduro de potasio, mantener en agitación constante hasta que se disuelva completamente.
2. Añadir a la mezcla anterior 50 g de cristales de yodo molecular, agitar hasta disolución completa.
3. Agregar 105 mL de ácido acético glacial a la mezcla acuosa de yodo y yoduro de potasio.
4. Filtrar para eliminar cualquier precipitado presente en la solución.
5. Ésta solución es sensible a la luz, debe almacenarse en oscuridad y frascos ámbar herméticos refrigerados, preferentemente.
6. Se empleó 1 mL de ésta solución por cada 39 mL de muestra fresca.

9.2 Protocolo anexo II: Documentación.

Para recolectar la información concerniente a cada muestra se empleó una tabla como la que se describe a continuación:

Sitio de muestreo: P1	Localización predeterminada: 3°19'55.63"N, 76°32'11.78"O
Fecha: (##-MMM-AA) Hora:	Localización real:
Código: Mes-Consecutivo(##)-Réplica #	

Características fisicoquímicas y microbiológicas

Parámetros a medir *in situ*	
Parámetro	**Valor**
Oxígeno disuelto	
Temperatura	
pH	
Conductividad	
Sólidos totales disueltos	
Profundidad de disco Secchi	
Parámetros a medir *ex situ*	
Ortofosfatos	
Fósforo total	
Nitritos	
Nitratos	
Nitrógeno total	
Clorofila a	
Recuento coliformes fecales	
Recuento coliformes totales	

Esquema 3. Tabla de documentación a emplear en cada muestra.

9.3 Protocolo anexo III: Estandarización del volumen y concentración de muestra.

Entiéndase por volumen de muestra la cantidad que será cargada en la columna de la cámara Utermöhl para efectos de conteo e identificación. Ésta debe presentar un balance entre representatividad y densidad de organismos por unidad de volumen que permita un conteo eficiente, es decir: no muy bajo que requiera de demasiados campos para alcanzar el nivel de precisión deseado ni tan

alto que la excesiva cantidad de organismos por cuadrícula no permita un conteo claro.

9.3.1 Construcción de una curva diversidad vs. Volumen de muestra.

1. Evaluar muestras de diversos volúmenes (10, 50, 100, 400, 600 mL, p. eg). Dado que de corriente no se cuenta con columnas de tantas y tan diversas capacidades, una muestra equivalente a una de 500 mL puede evaluarse en una columna de 100 mL concentrando generando por filtración una muestra 100 mL que realmente contenga el filtrado correspondiente a 500 mL de muestra.

2. Determinar, por triplicado, el número de géneros presentes en cada una a través de una inspección convencional en microscopio óptico.

3. Graficar diversidad contra volumen de muestra, debería observarse una asíntota paralela al eje x a través de la cual se extrapolaría el valor de volumen al cual la diversidad no aumenta.

10. REFERENCIAS

Abdel-Aal, M. E.-S., Akhtar, H., Zaheer, K., & Ali, R. (2013). Dietary Sources of Lutein and Zeaxanthin Carotenoids and Their Role in Eye Health. *Nutrients* . http://doi.org/10.3390/nu5041169

Abrantes, N., Antunes, S. C., Pereira, M. J., & Gonçalves, F. (2006). Seasonal succession of cladocerans and phytoplankton and their interactions in a shallow eutrophic lake (Lake Vela, Portugal). *Acta Oecologica*, *29*(1), 54–64. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.actao.2005.07.006

Ajayan, A. P., & Kumar, A. K. (2015). Micro algal diversity of the lake inside the government zoological garden, Thiruvananthapuram, Kerala India. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *6*(3), 330–338.

Algae Base. (2017). Taxonomic browser. Retrieved from http://www.algaebase.org/search/taxonomy/

Ames, B., Rubin, J., & Knight, T. (2016). Conversion to Ethanol and Biodiesel from Microalgae. In *Scholars´ day* (p. 19). Ouachita University.

Anderson, D. M., Glibert, P. M., & Burkholder, J. M. (2002). Harmful algal blooms and eutrophication: Nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries*, *25*(4), 704–726. http://doi.org/10.1007/BF02804901

Avorn, J. (2015). The $2.6 Billion Pill — Methodologic and Policy Considerations. *New England Journal of Medicine*, *372*(20), 1877–1879. http://doi.org/10.1056/NEJMp1500848

Bagchi, S. N., Sondhia, S., Agrawal, M. K., & Banerjee, S. (2016). An angiotensin-converting enzyme-inhibitory metabolite with partial structure of microginin in a cyanobacterium Anabaena fertilissima CCC597, producing fibrinolytic protease. *Journal of Applied Phycology*, *28*(1), 177–180. http://doi.org/10.1007/s10811-015-0541-5

Balmelle, B., Nguyen, K. M., Capdeville, B., Cornier, J. C., & Deguin, A. (1992). Study of Factors Controlling Nitrite Build-Up in Biological Processes for Water Nitrification. *Water Science and Technology*, *26*(5–6), 1017 LP-1025. Retrieved from http://wst.iwaponline.com/content/26/5-6/1017.abstract

Bellinger, E. G., & Sigee, D. C. (2015). *Freshwater Algae: Identification, Enumeration and Use as Bioindicators* (2nd ed.). Wiley.

Bender, M. L., Sowers, T., Barnola, J.-M., & Chappellaz, J. (1994). Changes in the O2/N2 ratio of the atmosphere during recent decades reflected in the composition of air in the firn at Vostok Station, Antarctica. *Geophysical Research Letters*, *21*(3), 189–192. http://doi.org/10.1029/93GL03548

Bertani, I., Obenour, D. R., Steger, C. E., Stow, C. A., Gronewold, A. D., & Scavia, D. (2016). Probabilistically assessing the role of nutrient loading in harmful algal bloom formation in western Lake Erie. *Journal of Great Lakes Research*, *42*(6), 1184–1192. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.jglr.2016.04.002

Boyd, J., & Banzhaf, S. (2007). What are ecosystem services? The need for standardized environmental accounting units. *Ecological Economics*, *63*(2–3), 616–626. http://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2007.01.002

Brown, E. D., & Wright, G. D. (2016). Antibacterial drug discovery in the resistance era. *Nature*, *529*(7586), 336–343. Retrieved from http://dx.doi.org/10.1038/nature17042

Carpenter, S. R., Mooney, H. A., Agard, J., Capistrano, D., DeFries, R. S., Díaz, S., … Whyte, A. (2009). Science for managing ecosystem services: Beyond the Millennium Ecosystem Assessment. *Proceedings of the National Academy of Sciences* , *106*(5), 1305–1312. http://doi.org/10.1073/pnas.0808772106

Castiblanco, C., Etter, A., & Aide, T. M. (2013). Oil palm plantations in Colombia: a model of future expansion. *Environmental Science & Policy*, *27*, 172–183. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.envsci.2013.01.003

Corbel, S., Mougin, C., & Bouaïcha, N. (2014). Cyanobacterial toxins: modes of actions, fate in aquatic and soil ecosystems, phytotoxicity and bioaccumulation in agricultural crops. *Chemosphere*, *96*, 1–15. http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.07.056

da Silva Vaz, B., Costa, J. A. V., & de Morais, M. G. (2016). CO2 Biofixation by the Cyanobacterium Spirulina sp. LEB 18 and the Green Alga Chlorella fusca LEB 111 Grown Using Gas Effluents and Solid Residues of Thermoelectric Origin. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *178*(2), 418–429. http://doi.org/10.1007/s12010-015-1876-8

Daniel, T. C., Muhar, A., Arnberger, A., Aznar, O., Boyd, J. W., Chan, K. M. A., … von der Dunk, A. (2012). Contributions of cultural services to the ecosystem services agenda. *Proceedings of the National Academy of Sciences* , *109*(23), 8812–8819. http://doi.org/10.1073/pnas.1114773109

Daniel, T. C., Sharpley, A. N., & Lemunyon, J. L. (1998). Agricultural Phosphorus and Eutrophication: A Symposium Overview. *Journal of Environmental Quality*, *27*. http://doi.org/10.2134/jeq1998.00472425002700020002x

de Morais, M. G., & Costa, J. A. V. (2007). Carbon dioxide fixation by Chlorella kessleri, C. vulgaris, Scenedesmus obliquus and Spirulina sp. cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors. *Biotechnology Letters*, *29*(9), 1349–1352. http://doi.org/10.1007/s10529-007-9394-6

Dilini, R. M. A., & Wijeyaratne, M. J. S. (2016). Indicating the levels of eutrophication of Diyawanna Lake wetland in Sri Lanka using phytoplankton abundance. In *Proceedings of the International Research Symposium on Pure and Applied Sciences (IRSPAS 2016)* (p. 2).

Downing, S., Contardo-Jara, V., Pflugmacher, S., & Downing, T. G. (2014). The fate of the cyanobacterial toxin β-N-methylamino-L-alanine in freshwater mussels. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *101*, 51–8. http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.11.028

El-Aty, A. M. A., Mohamed, A. A., & Samhan, F. A. (2014). In vitro antioxidant and antibacterial activities of two fresh water Cyanobacterial species, Oscillatoria agardhii and Anabaena sphaerica. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *4*(7), 69–75.

El-Serehy, H. A., Al-Misned, F. A., Shafik, H. M., Al-Rasheid, K. A., & Bahgat, M. M. (2014). Surface Microplankton Composition at a Hyper Saline Oligotrophic Environment of Bitter Lake on the

Suez Canal, Egypt. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *14*(2), 439–448.

Elser, J. J., Bracken, M. E. S., Cleland, E. E., Gruner, D. S., Harpole, W. S., Hillebrand, H., … Smith, J. E. (2007). Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, *10*(12), 1135–1142. http://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01113.x

Ersanlı, E. T., & Gönülol, A. (2014). Phytoplankton Dynamics and Some Physicochemical Variables in Cakmak Reservoir (Samsun, Turkey). *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences; Vol 4, No 1 (2014)*. Retrieved from http://journals.manas.edu.kg/mjavl/index.php/mjavl/article/view/13/13

Farber, S. C., Costanza, R., & Wilson, M. A. (2002). Economic and ecological concepts for valuing ecosystem services. *Ecological Economics*, *41*(3), 375–392. http://doi.org/10.1016/S0921-8009(02)00088-5

Flores, E., & Herrero, A. (1994). Assimilatory Nitrogen Metabolism and Its Regulation. In D. A. Bryant (Ed.), *The Molecular Biology of Cyanobacteria* (pp. 487–517). Dordrecht: Springer Netherlands. http://doi.org/10.1007/978-94-011-0227-8_16

Ganai, A. H., & Parveen, S. (2014). Effect of physico-chemical conditions on the structure and composition of the phytoplankton community in Wular Lake at Lankrishipora, Kashmir. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, *6*(1), 71–84.

Gao, F., Li, C., Yang, Z.-H., Zeng, G.-M., Feng, L.-J., Liu, J., … Cai, H. (2016). Continuous microalgae cultivation in aquaculture wastewater by a membrane photobioreactor for biomass production and nutrients removal. *Ecological Engineering*, *92*, 55–61. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.03.046

Gerloff-Elias, A., Pröschold, T., & Spijkerman, E. (2005). Effect of external pH on the growth, photosynthesis and photosynthetic electron transport of Chlamydomonas acidophila Negoro, isolated from an extremely acidic lake (pH 2.6). *Plant, Cell and Environment*, *28*, 1218–1129.

Gerrath, J. F. (2003). 9 - CONJUGATING GREEN ALGAE AND DESMIDS A2 - WEHR, JOHN D. In R. G. B. T.-F. A. of N. A. SHEATH (Ed.), *Aquatic Ecology* (pp. 353–381). Burlington: Academic Press. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-012741550-5/50010-6

Granado-Lorencio, F., Herrero-Barbudo, C., Acién-Fernández, G., Molina-Grima, E., Fernández-Sevilla, J. M., Pérez-Sacristán, B., & Blanco-Navarro, I. (2009). In vitro bioaccesibility of lutein and zeaxanthin from the microalgae Scenedesmus almeriensis. *Food Chemistry*, *114*(2), 747–752. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.058

Irish, A. E., & Clarke, R. T. (1984). Sampling designs for the estimation of phytoplankton abundance in limnetic environments. *British Phycological Journal*, *19*(1), 57–66. http://doi.org/10.1080/00071618400650061

John, D. M. (2003). 8 - FILAMENTOUS AND PLANTLIKE GREEN ALGAE A2 - WEHR, JOHN D. In R. G. B. T.-F. A. of N. A. SHEATH (Ed.), *Aquatic Ecology* (pp. 311–352). Burlington: Academic Press. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-012741550-5/50009-X

Jouenne, F., Lefebvre, S., Véron, B., & Lagadeuc, Y. (2005). Biological and physicochemical factors controlling short-term variability in phytoplankton primary production and photosynthetic parameters in a macrotidal ecosystem (eastern English Channel). *Estuarine,*

Coastal and Shelf Science, *65*(3), 421–439. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2005.05.023

Kim, Y. J. (2014). Flora and newly recorded species of three colonial genera (Euteramorus, Coenocystis, and Gloeocystis) in freshwater chlorococcal green algae from Korea. *Journal of Ecology and Environment*, *37*(4), 365–378.

Komárek, J. (2003). 3 - COCCOID AND COLONIAL CYANOBACTERIA A2 - WEHR, JOHN D. In R. G. B. T.-F. A. of N. A. SHEATH (Ed.), *Aquatic Ecology* (pp. 59–116). Burlington: Academic Press. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-012741550-5/50004-0

Krinsky, N. I., Landrum, J. T., & Bone, R. A. (2003). BIOLOGIC MECHANISMS OF THE PROTECTIVE ROLE OF LUTEIN AND ZEAXANTHIN IN THE EYE. *Annual Review of Nutrition*, *23*(1), 171–201. http://doi.org/10.1146/annurev.nutr.23.011702.073307

Kshirsagar, A. D. (2013). Use of Algae as a Bioindicator to Determine Water Quality of River Mula from Pune City, Maharashtra (India). *Niversal Journal of Environmental Research & Technology*, *3*(1), 79–85.

Laird, C., Steele, M., & Ladner, D. (2013). Bioprospecting to Discover Local Algae for Biofuel Production. In *Tiger Prints, Clemson University* (p. 11).

Landcare Research. (2017). Algae identification guide. Retrieved from http://www.landcareresearch.co.nz/resources/identification

León Sánchez, G. (2012). Ecoparque Lago de las Garzas. Retrieved from http://geraldineleonsanche.blogspot.com.co/

Levine, S. N., & Schindler, D. W. (1999). Influence of nitrogen to phosphorus supply ratios and physicochemical conditions on cyanobacteria and phytoplankton species composition in the Experimental Lakes Area, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *56*(3), 451–466. http://doi.org/10.1139/f98-183

Li, X., Dreher, T. W., & Li, R. (2016). An overview of diversity, occurrence, genetics and toxin production of bloom-forming Dolichospermum (Anabaena) species. *Harmful Algae*, *54*, 54–68. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2015.10.015

Ministerio Nacional del Medio Ambiente. Política Nacional para Humedales interiores de Colombia (2002). República de Colombia: Consejo Nacional Ambiental.

Naldi, M., & Wheeler, P. A. (2002). 15N MEASUREMENTS OF AMMONIUM AND NITRATE UPTAKE BY ULVA FENESTRATA (CHLOROPHYTA) AND GRACILARIA PACIFICA (RHODOPHYTA): COMPARISON OF NET NUTRIENT DISAPPEARANCE, RELEASE OF AMMONIUM AND NITRATE, AND 15N ACCUMULATION IN ALGAL TISSUE 1. *Journal of Phycology*, *38*(1), 135–144. http://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2002.01070.x

Paerl, H. W., & Otten, T. G. (2013). Harmful Cyanobacterial Blooms: Causes, Consequences, and Controls. *Microbial Ecology*, *65*(4), 995–1010. http://doi.org/10.1007/s00248-012-0159-y

Palmer, C. (1974). Algae in american sewage stabilization's ponds. Rev Microbiol (S-Paulo). *Revista Microbiologica*, *5*, 75–80.

Posudin, Y. (2014). Bioindication. In *Methods of Measuring Environmental Parameters* (pp. 399–

406). John Wiley & Sons, Inc. http://doi.org/10.1002/9781118914236.ch38

Prepas, E. E. (1984). A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. In *A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters* (pp. 270–273).

Priyadarshani, I., & Rath, B. (2012). Commercial and industrial applications of micro algae – A review. *Journal of Algal Biomass Utilization*, *3*(4), 89–100.

Restano, A. M. L., Ramírez Restrepo, J. J., Echenique, R. O., Vallejo, A. A., & Ortiz, L. Y. M. (2011). Dinámica espacio-temporal de cuatro especies de Staurastrum (Meyen 1829, emend. Ralfs 1848) en un embalse eutrófico colombiano. *Oecologia Australis*, *3*(15), 726–746.

Rodríguez Garzón, L. (2012). *DETERMINACIÓN DEL ESTADO TRÓFICO DE TRES ECOSISTEMAS LÉNTICOS DE LA SABANA DE BOGOTÁ CON BASE AL FITOPLANCTON, EN DOS PERIODOS CLIMÁTICOS CONTRASTANTES*. Universidad Militar de Nueva Granada.

Sánchez, J. F., Fernández-Sevilla, J. M., Acién, F. G., Cerón, M. C., Pérez-Parra, J., & Molina-Grima, E. (2008). Biomass and lutein productivity of Scenedesmus almeriensis: influence of irradiance, dilution rate and temperature. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *79*(5), 719–729. http://doi.org/10.1007/s00253-008-1494-2

Sánchez, J. F., Fernández, J. M., Acién, F. G., Rueda, A., Pérez-Parra, J., & Molina, E. (2008). Influence of culture conditions on the productivity and lutein content of the new strain Scenedesmus almeriensis. *Process Biochemistry*, *43*(4), 398–405. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2008.01.004

Sawaiker, R. U., & Rodrigues, B. F. (2016). Physico-chemical characteristics and Phytoplankton Diversity in Some Freshwater Wetlands of Goa, India. *Journal of Environmental Research And Development*, *10*(4), 706–711.

Shao, P., Chen, X., & Sun, P. (2014). Chemical characterization, antioxidant and antitumor activity of sulfated polysaccharide from Sargassum horneri. *Carbohydrate Polymers*, *105*, 260–9. http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.073

Shubert, L. E. (2003). 7 - NONMOTILE COCCOID AND COLONIAL GREEN ALGAE A2 - WEHR, JOHN D. In R. G. B. T.-F. A. of N. A. SHEATH (Ed.), *Aquatic Ecology* (pp. 253–309). Burlington: Academic Press. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-012741550-5/50008-8

Soares, A. T., Marques Júnior, J. G., Lopes, R. G., Derner, R. B., & Antoniosi Filho, N. R. (2016). Improvement of the Extraction Process for High Commercial Value Pigments from Desmodesmus sp. Microalgae . *Journal of the Brazilian Chemical Society* . scielo .

Sotero-Santos, R. B., Carvalho, E. G., Dellamano-Oliveira, M. J., & Rocha, O. (2008). Occurrence and toxicity of an Anabaena bloom in a tropical reservoir (Southeast Brazil). *Harmful Algae*, *7*(5), 590–598. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2007.12.017

Tapolczai, K., Anneville, O., Padisák, J., Salmaso, N., Morabito, G., Zohary, T., … Rimet, F. (2015). Occurrence and mass development of Mougeotia spp. (Zygnemataceae) in large, deep lakes. *Hydrobiologia*, *745*(1), 17–29. http://doi.org/10.1007/s10750-014-2086-z

Travaini-Lima, F., Milstein, A., & Sipaúba-Tavares, L. H. (2016). Seasonal Differences in Plankton Community and Removal Efficiency of Nutrients and Organic Matter in a Subtropical Constructed Wetland. *Wetlands*, *36*(5), 921–933. http://doi.org/10.1007/s13157-016-0804-1

Tuney, I., & Maroulakis, M. (2014). *Phytoplankton sampling methods* (Primera). Ankara: ENVECO.

Vásquez, C., Ariza, A., & Pinilla, G. (2006). DESCRIPCIÓN DEL ESTADO TRÓFICO DE DIEZ HUMEDALES DEL ALTIPLANO CUNDIBOYACENSE. *Universitas Scientiarum; Vol 11, No 2 (2006)*. Retrieved from http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/4971/3829

Vásquez Zapata, G. L., Orozco, L. H., Castaño, J. R. C., Galvis, A. Z., Cardona, Diana, … Hurtado. (2012). Metodología para Determinar Niveles de Eutrofización en Ecosistemas Acuáticos. *Revista de La Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, *1*(24), 112–128.

Vijayaraghavan, K., & Hemanathan, K. (2009). Biodiesel Production from Freshwater Algae. *Energy & Fuels*, *23*(11), 5448–5453. http://doi.org/10.1021/ef9006033

Wan Maznah, W. O., & Makhlough, A. (2015). Water quality of tropical reservoir based on spatio-temporal variation in phytoplankton composition and physico-chemical analysis. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *12*(7), 2221–2232. http://doi.org/10.1007/s13762-014-0610-3

Wang, P., Li, Z., Bai, J., Lang, Y., & Hu, H. (2016). Optimization of microalgal bead preparation with Scenedesmus obliquus for both nutrient removal and lipid production. *Ecological Engineering*, *92*, 236–242. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.04.009

Wilkins, M. F., Boddy, L., Morris, C. W., & Jonker, R. R. (1999). Identification of Phytoplankton from Flow Cytometry Data by Using Radial Basis Function Neural Networks. *Applied and Environmental Microbiology* , *65*(10), 4404–4410. Retrieved from http://aem.asm.org/content/65/10/4404.abstract

Xavier, L., Vale, M., & Vasconcelos, V. M. (2007). Eutrophication, phytoplankton dynamics and nutrient removal in two man-made urban lakes Palácio de Cristal and Serralves, Porto, Portugal. *Lake Reserv Manage*, *12*. http://doi.org/10.1111/j.1440-1770.2007.00336.x

Xiaoyi, W., Junyang, Y., Yan, S., Tingli, S., Li, W., & Jiping, X. (2016). Research on hybrid mechanism modeling of algal bloom formation in urban lakes and reservoirs. *Ecological Modelling*, *332*, 67–73. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2016.03.007

Xin, L., Hong-ying, H., & Jia, Y. (2010). Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, Scenedesmus sp. LX1, growing in secondary effluent. *New Biotechnology*, *27*(1), 59–63. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2009.11.006

Xin, L., Hong-ying, H., Ke, G., & Jia, Y. (2010). Growth and nutrient removal properties of a freshwater microalga Scenedesmus sp. LX1 under different kinds of nitrogen sources. *Ecological Engineering*, *36*(4), 379–381. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.11.003

Zhang, W., Zhao, Y., Cui, B., Wang, H., & Liu, T. (2016). Evaluation of filamentous green algae as feedstocks for biofuel production. *Bioresource Technology*, *220*, 407–413. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.106