

**Universidad Nacional
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Escuela de Ciencias Biológicas
Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos Naturales**

Informe Escrito Final

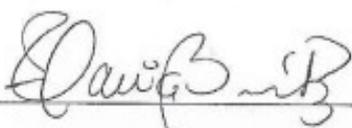
Evaluación del impacto del efluente de un Sistema de Lagunas de Estabilización Facultativa mediante parámetros físicos químicos y biológicos (microalgas betónicas) en un sector del río Cañas, Guanacaste, Costa Rica.

“Modalidad del trabajo de graduación” presentado como requisito parcial para optar al grado de Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos Naturales.

Patricia Vanessa Zamora Díaz

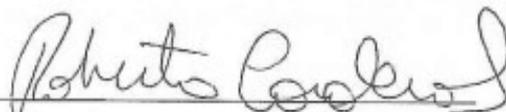
**Campus Omar Dengo
Heredia, 2021**

Este trabajo de graduación fue APROBADO por el Tribunal Examinador de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Manejo de Recursos Naturales.



M.Sc. Tania Bermúdez Rojas

Representante, Decano, quién preside



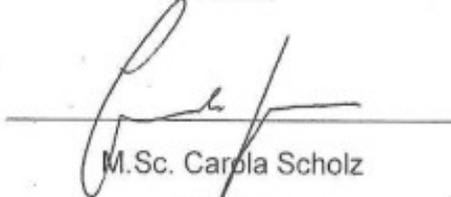
Dr. Roberto Cordero Solórzano

Representante, Unidad Académica



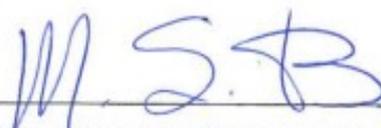
Licda. Nancy Villalobos Sandí

Tutora



M.Sc. Carla Scholz

Asesora



Dra. Margarita Silva Benavides

Resumen

Los ecosistemas ribereños sufren de constantes amenazas antropogénicas las cuales deterioran su estado ecológico y por ende la calidad de las aguas que llevan. Para solventar esta problemática se han presentado opciones como las lagunas de estabilización facultativa, las cuales permiten tratar aguas residuales residenciales y municipales y así evitar la contaminación en los cuerpos de agua receptores, sin embargo, es requerido su monitoreo y así controlar su buen funcionamiento. En la presente investigación se evaluó el impacto del efluente de un sistema de lagunas de estabilización facultativa en un sector del río Cañas, Guanacaste, Costa Rica, mediante parámetros físicos químicos y biológicos (microalgas betónicas), para esto se muestrearon cuatro sitios del Río Cañas en la época seca, lluviosa y las respectivas transiciones de estas dos épocas. Con los resultados obtenidos, se logró determinar un incremento en los parámetros físicos y químicos aguas abajo del río, con excepción del oxígeno disuelto, el cual disminuyó. Con relación al parámetro biológico, el grupo taxonómico de microalgas con mayor abundancia en el ecosistema béntico del río fue el de las diatomeas, dentro de este grupo sobresalieron los géneros *Encyonema*, *Gomphonema*, *Navicula*, *Nitzschia* y *Ulnaria*. La especie indicadora de altas concentraciones de carga orgánica, nutrientes y conductividad *Ulnaria ulna* fue la más abundante en los sitios S1, S2 y S4 y en la época seca. Además, se logró evidenciar que la diversidad de diatomeas cambia significativamente en la época seca ya que disminuye con relación a las otras épocas del año, esto debido a la poca dilución de carga orgánica y nutrientes. Con los análisis realizados se pudo concluir que el efluente de las lagunas de estabilización facultativa no aporta contaminación significativa en el río Cañas Guanacaste, ni tampoco afecta significativamente la diversidad de diatomeas.

Agradecimiento

Al grupo asesor: Licenciada Nancy Villalobos Sandí, M.Sc. Carola Scholz, M.Sc Andrés Lazo Paez por todo el apoyo y colaboración en la asesoría y revisión de este proyecto final de graduación, al Dr. Meyer Guevara Mora por su colaboración en el análisis estadístico de los datos de este informe y a los profesores de la carrera, por todas las enseñanzas en cada curso de la licenciatura. Además, un especial agradecimiento a FOCAES por la ayuda económica y al Laboratorio Nacional de Aguas de Acueductos y Alcantarillados por toda la colaboración técnica y económica a brindada para elaborar parte de este proyecto.

Dedicatoria

A mi familia, por apoyarme siempre en todo el proceso de mis estudios.

Índice

Miembros del Tribunal.....	II
Resumen.....	III
Agradecimientos.....	IV
Dedicatoria.....	V
Índice.....	VI
Índice de cuadros.....	VII
Índice de figuras.....	VIII
Índice Anexos.....	VIII
Abreviaturas.....	IX
Introducción.....	9
Material y Métodos.....	12
Sitio de estudio.....	12
Puntos de muestreo.....	13
Recolección de datos físicos y químicos.....	13
Recolección de datos biológicos.....	14
Tratamiento de muestras biológicas.....	14
Identificación de microalgas.....	15
Análisis de datos.....	15
Resultados.....	16
Parámetros físico químicos.....	16
Parámetros biológicos.....	19
Relación parámetros físicos químicos y biológicos.....	20
Discusión.....	23
Conclusiones.....	27
Referencias.....	27

Índice de tablas

Tabla 1. Resultados parámetros físicos y químicos cuatro muestreos Río Cañas.....	17
Tabla 2. Resultados parámetros químicos dos muestreos Río Cañas.....	18

Índice de figuras

Figura 1. Sitios de muestreo Río Cañas, Cañas, Guanacaste.....	13
Figura 2. Abundancia promedio de microalgas para los meses de agosto 2016, febrero y junio 2017, Río Cañas Guanacaste.....	19
Figura 3. Principales géneros de diatomeas por cada sitio de muestreo del Río Cañas.....	21
Figura 4. Índice de diversidad de Shannon de diatomeas muestreadas en cuatro puntos de muestreo del Río Cañas Costa Rica.....	22
Figura 5. RDA de los análisis de redundancia para las especies de diatomeas con respecto a los parámetros fisicoquímicos y cada punto de muestreo de un sector de Río Cañas, Guanacaste.....	22

Índice de Anexos

Anexo 1. Abundancia relativa y diversidad de diatomeas en cuatro puntos de muestreo en el Río Cañas, Guanacaste tomados en tres meses	33
---	----

Abreviaturas

AyA	Acueductos y Alcantarillados
DBO	Demanda Biológica de Oxígeno
DQO	Demanda Química de Oxígeno
BMWP	Biological Monitoring Working Party
ECB	Escuela de Ciencias Biológicas
LABMA	Laboratorio Biotecnología Microalgas
SST	Sólidos Suspendidos Totales
SLEF	Sistema de Lagunas de Estabilización Facultativa
UNA	Universidad Nacional

Evaluación del impacto del efluente de un sistema de lagunas de estabilización facultativa en un sector del río Cañas, Guanacaste, Costa Rica.

Zamora Díaz Patricia

Universidad Nacional de Costa Rica, Heredia Costa Rica

Resumen

Los ecosistemas riparios sufren de constantes amenazas antropogénicas las cuales deterioran su estado ecológico y por ende la calidad de las aguas que llevan. Para solventar esta problemática se han presentado opciones como las lagunas de estabilización facultativa, las cuales permiten tratar aguas residuales residenciales y municipales y así evitar la contaminación en los cuerpos de agua receptores, sin embargo, es requerido su monitoreo y así controlar su buen funcionamiento. En la presente investigación se evaluó el impacto del efluente de un sistema de lagunas de estabilización facultativa en un sector del río Cañas, Guanacaste, Costa Rica, mediante parámetros físicos químicos y biológicos (microalgas bentónicas), para esto se muestrearon cuatro sitios del Río Cañas en la época seca, lluviosa y las transiciones de estas dos épocas. Con los resultados obtenidos, se logró determinar un incremento en los parámetros físicos y químicos aguas abajo del río, con excepción del oxígeno disuelto, el cual disminuyó. Con relación al parámetro biológico, el grupo taxonómico de microalgas con mayor abundancia en el ecosistema béntico del río fue el de las diatomeas, dentro de este grupo sobresalieron los géneros *Encyonema*, *Gomphonema*, *Navicula*, *Nitzschia* y *Ulnaria*. La especie indicadora de altas concentraciones de carga orgánica, nutrientes y conductividad *Ulnaria ulna* fue la más abundante en los sitios S1, S2 y S4, en la estación seca. Además, se logró evidenciar que la diversidad de diatomeas cambia significativamente en la época seca ya que disminuye con relación a las otras épocas del año, esto debido a la poca dilución de carga orgánica y nutrientes. Con los análisis realizados se pudo concluir que el efluente de las lagunas de estabilización facultativa no aporta contaminación significativa en el río Cañas Guanacaste, ni tampoco afecta significativamente la diversidad de diatomeas. Palabras clave: calidad de agua, río, parámetros físicos y químicos, microalgas bentónicas, diversidad de diatomeas, laguna facultativa.

Introducción

El tratamiento de las aguas residuales es uno de los problemas ambientales fundamentales que enfrenta Costa Rica en la actualidad. Después de la Cumbre para el Desarrollo Sostenible realizada en el 2015, Costa Rica se comprometió con llevar a cabo acciones concernientes tanto con la disponibilidad y la gestión del agua, así como con el saneamiento (Moreira 2020). En este sentido hay mucho trabajo por realizar debido a que únicamente un 37% de las aguas residuales del país son tratadas antes de ingresar a los cuerpos de aguas (Valverde 2015).

Algunas instituciones gubernamentales han concentrado esfuerzos para implementar el uso de sistemas de tratamiento para las aguas residuales y así disminuir el impacto ambiental que estas generan. Tal es el caso del

Aquatic Ecology

Instituto de Acueductos y Alcantarillados (AyA), las Municipalidades, las Asociaciones Administradoras de Sistemas de Acueductos y Alcantarillados Sanitarios (ASADAS), la Empresa de Servicios Públicos de Heredia (ESPH) y operadores privados.

Por otro lado, uno de los primeros sistemas de tratamiento en ponerse en funcionamiento a nivel centroamericano para el manejo de las aguas crudas son los sistemas lagunares, los cuales además han demostrado ser eficientes (Noyola et al 2013). Algunas ventajas que se les atribuye son su fácil construcción y forma de operar en donde requieren poco mantenimiento, además, pueden soportar grandes variaciones en el flujo y tienen la ventaja de que, con un debido tratamiento terciario, el agua tratada puede ser utilizada en agricultura o acuicultura (Von Sperling 2007; Veliz et al. 2009; Barrantes y Cartín 2017).

Los sistemas lagunares se clasifican en tres grupos debido a la distinta función biológica que prevalezca en el sistema, aerobias en las cuales prevalecen los organismos que dependen de oxígeno en su metabolismo, anaerobias, las cuales trabajan en ausencia de oxígeno y las facultativas, las cuales pueden trabajar con y/o sin oxígeno (Comisión Nacional del Agua, 2007). Los sistemas lagunares de estabilización facultativa, amortiguan la llegada directa de las aguas crudas a los ríos a la vez que representan un tratamiento biológico para depurar en cierto porcentaje las mismas, mediante microorganismos que viven en estas (Veliz et al. 2009). Su mecanismo de purificación integra tres zonas: aerobia, anaerobia y facultativa (Sánchez y Matsumoto 2012).

No obstante, estos sistemas lagunares presentan algunas desventajas, como, por ejemplo, el requerimiento de una gran extensión de terreno para su construcción que le permita a las aguas tener un tiempo de retención adecuado con el fin de depurar las aguas tratadas. Sumado a esto, otra desventaja es el uso de materiales sólidos en su construcción, que impidan la infiltración de las aguas, además de la dependencia de factores ambientales que no son controlables, la carga hidráulica y contaminante de las aguas que llegan a las lagunas la cual no es homogénea y por último, que la descarga de estas aguas al cuerpo receptor generalmente contiene gran cantidad de algas que se contabilizan como sólidos suspendidos totales (SST) y que influyen en otros parámetros de calidad como la turbidez, Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) y Demanda Química de Oxígeno (DQO) (Feira y Martínez 2014; Villalobos et al 2016, Cortés et al. 2017).

Si bien, dichos sistemas permiten tratar las aguas residuales y disminuir la carga orgánica de las aguas tratadas, es necesario monitorear su funcionamiento a través de muestreos del efluente del sistema de tratamiento, así como el muestreo en algunos puntos del río receptor. Para esto en Costa Rica se utiliza el Decreto Ejecutivo N°33903, Reglamento para la Evaluación y Clasificación de la Calidad de Cuerpos de Agua Superficiales, el cual incorpora la valoración de la calidad para los cuerpos de agua superficiales basada en el Índice Holandés, el cual incluye parámetros físicos y químicos como la concentración de nitrógeno amoniacal, la DBO y el porcentaje de saturación de oxígeno. En el caso del monitoreo biológico, se utiliza el Índice BMWP (Biological Monitoring Working Party) modificado para Costa Rica, el cual emplea los macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores de la calidad del agua (MINAE 2007).

Otro grupo de organismos que ha sido utilizado en algunos países para generar información sobre la calidad de las aguas, ha sido el grupo de las microalgas, las cuales se han empleado como bioindicadores de contaminación, ya que son capaces de adaptarse a un amplio rango de condiciones de estrés ambiental y

Aquatic Ecology

permiten generar información del estado de salud del ecosistema (Cohn et al. 2009; Córdova et al. 2009; Prado et al. 2018). Su estudio, es un método sencillo y de bajo costo pues consiste en aprovechar la tolerancia de ciertos individuos a distintos niveles de contaminación e identificarlos taxonómicamente, su colecta y análisis requieren de poco presupuesto cuando se aplican técnicas convencionales de microscopía óptica (Arcos et al. 2005; Lobo et al 2016).

Debido al carácter indicador de las microalgas, algunos países cuentan ya con sus propios índices, los cuales consisten en la caracterización antes y después de un determinado evento ambiental para poder determinar el grado de salud del ecosistema y así conocer la tolerancia de ciertos grupos de microalgas a determinadas sustancias químicas. Lo anterior, complementa los resultados, físicos, químicos y biológicos y los lleva a una escala alfanumérica que permite la determinación del grado de contaminación (Potapova y Charles 2007; Oscoz et al 2007; Álvarez et al. 2011; Johansen 2012; Suarez et al. 2014; Pardo et al. 2018).

El metabolismo de las microalgas requiere dióxido de carbono (CO_2), agua, luz y nutrientes como el fósforo y el nitrógeno. El nitrógeno se considera uno de los elementos necesarios para su crecimiento, el cual está asociado a su metabolismo primario y lo obtienen principalmente del amonio disuelto (Bacellar y Vermelho 2013).

De acuerdo con las formas de vida de las microalgas de agua dulce, estas se pueden encontrar tanto en forma planctónica como bentónica. Las microalgas planctónicas se caracterizan por estar en altas cantidades y dar color al agua; además tienen picos de abundancia relacionadas a su ciclo de vida y a la concentración de nutrientes en el medio (Bellinger y Sigee 2010). Por otro lado, la permanencia de las microalgas bentónicas en un determinado sustrato va a depender del flujo de agua y de los nutrientes presentes en el medio, ya que se encuentran asociadas a cualquier sustrato en el fondo del agua, compartiendo el ecosistema con otras formas de vida como: bacterias, hongos e invertebrados, plantas superiores y colonias plantónicas de microalgas (Rivera y Díaz 2004; Lobo et al. 2016).

La utilización de microalgas en la determinación de la calidad del agua permite además detectar aquellos casos en que la contaminación es intermitente o acumulativa, ya que da un mejor panorama del estado ecológico del río, complementando así la información instantánea que puede ser revelada mediante los indicadores físicos y químicos (Mosleh et al. 2012; Ismaïl et al. 2015). Algunos de los grupos de microalgas más sobresalientes y utilizados como indicadores de la calidad del agua son las Chlorophytas (algas verdes), Cyanoprokaryota (Cianobacterias) y las Bacillariophyceae (diatomeas) (Rivera y Díaz, 2004; Blanco et al. 2007; Johansen 2012).

Las algas verdes juegan un papel ecológico importante debido a que generan oxígeno y nutrientes para otros organismos como las bacterias, ya que entre sus productos extracelulares se pueden encontrar polisacáridos que son utilizados rápidamente por estas (Arora y Sahoo, 2015). En cuanto a su capacidad indicadora, es conocido que algunos géneros se encuentran en ambientes con baja cantidad de nutrientes y ligeramente ácidos lo que las identifica más estrechamente con ambientes limpios, otras de este mismo grupo, pero de morfología filamentosa; tienen la capacidad de permanecer en ambientes con condiciones eutróficas, acidificados y con contaminación de metales (Arora y Sahoo, 2015).

Aquatic Ecology

Por otra parte, las cianobacterias poseen una gran capacidad para aprovechar distintas intensidades luminosas. Se encuentran en cuerpos de agua con altos niveles tróficos, siendo excelente fuente de proteínas y minerales; además son buenas competidoras en el ecosistema pues almacenan nitrógeno y fósforo aun cuando este se encuentre a bajas concentraciones en el ambiente. Gracias a su capacidad fijadora de N_2 , son a menudo los únicos habitantes de aguas extremadamente deficientes en este elemento (Garduño et al. 2011, Estrada y Menjívar, 2013). Estos microorganismos poseen plasticidad fisiológica y por tanto optimizan la captación de nutrientes en el ambiente en donde se encuentren por lo que su participación en la recuperación de un cuerpo de agua contaminado es crucial, ya que oxigenan el agua al mismo tiempo que favorecen la supervivencia de otros organismos del ecosistema (Acevedo *et al*, 2012).

Las diatomeas son otro ejemplo de microalga que tiene una función muy importante como bioindicador, debido a que poseen un alto grado de tolerancia ambiental relacionado con su rápida reproducción, su gran diversidad taxonómica, morfológica y ecológica en los ecosistemas acuáticos (Smol y Stoermer 2010; Chen et al. 2016). Ante los cambios en las propiedades físicas y químicas de un determinado río, algunas diatomeas sensibles no logran adaptarse y mueren mientras que otras resistentes sobreviven y se adaptan a las condiciones del ambiente lótico (Pandey et al. 2018). Ciertos géneros de diatomeas son sensibles a cambios en la composición física y química del agua, como el pH, la conductividad, la concentración de nutrientes, la materia orgánica y el oxígeno, sin embargo, otros géneros logran tolerar estos cambios. Estas características las hace valiosas para la elaboración de índices de evaluación ecológica de la calidad del agua, sumado a que son las más numerosas del fitobentos y fitoplancton (Bozarth et al. 2009; Álvarez et al. 2011, Bojorge y Cantoral 2016).

El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto del efluente de una planta de tratamiento de aguas residuales tipo ordinario, compuesta por un Sistema de Lagunas de Estabilización Facultativa (SLEF), en un sector del río Cañas, Guanacaste, mediante el análisis de factores físicos, químicos y biológicos (microalgas bentónicas).

Materiales y métodos

Sitio de estudio

Los muestreos se realizaron en el río Cañas, Guanacaste coordenadas $10^{\circ}25'23,2''N$ y $85^{\circ}05'33,9''O$. Este río recorre parte de la provincia de Guanacaste, en los cantones de Tilarán y Cañas, en los distritos de Bebedero y Cañas. Esta última localidad, presenta temperaturas promedio mensuales medias de 25.7 a 28.0 °C, siendo las mínimas de 20,5 a 22,2 y las máximas de 30,6 a 33,9°C. La estación lluviosa va de mayo a octubre con precipitaciones promedio que van desde los 6 mm en los meses más secos (enero) hasta de 336 mm en octubre, el mes más lluvioso (Datos Climáticos Mundiales, 2020). Cañas se encuentra dentro de la zona de vida del bosque húmedo tropical transición a seco, bosque húmedo premontano transición a basal y bosque húmedo tropical y Tilarán se encuentra dentro de la zona de vida de bosque húmedo tropical (Bolaños 1993).

Aquatic Ecology

Puntos de muestreo

Se seleccionaron cuatro puntos de muestreo. El primero de los sitios se tomó como punto control (S1), ya que se encuentra fuera del centro poblacional del distrito de Cañas, cuenta con la presencia de vegetación y no tiene vertidos de aguas residuales cercanas visibles. Este punto se ubica a 4 km oeste aproximadamente de la salida del efluente del SFEF del AyA.

En la selección de los otros tres sitios de muestreo se tomó en cuenta lo estipulado en el documento “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” el cual indica que “en ríos pequeños la muestra debe tomarse en un solo lado de este” (p.10-36) (Rice et al. 2012) además, considerando los puntos de monitoreo que realiza el AyA de rutina en esta zona (Figura 1). Según lo estipulado anteriormente, el sitio 2 (S2) se ubicó aproximadamente 1 km aguas arriba del efluente de la planta de tratamiento, cerca de la carretera interamericana norte. El sitio 3 (S3), se ubicó 200 m aguas abajo del efluente de la planta de tratamiento, caracterizado por presentar poca vegetación y con sitios abiertos donde se observan algunas viviendas colindando con el río. Y el último, el sitio 4 (S4) se ubicó 300 m aguas abajo del efluente de la planta, es una zona con presencia de pastizales y alteración con maquinaria pesada para el trabajo con movimiento de tierra.

Los muestreos de los parámetros físicos, químicos y biológicos se llevaron a cabo el 24 de agosto y el 30 de noviembre del 2016, el 28 de febrero y el 01 de junio de 2017, lo anterior contempla un periodo un periodo de tiempo que incluye época seca, lluviosa y transiciones.

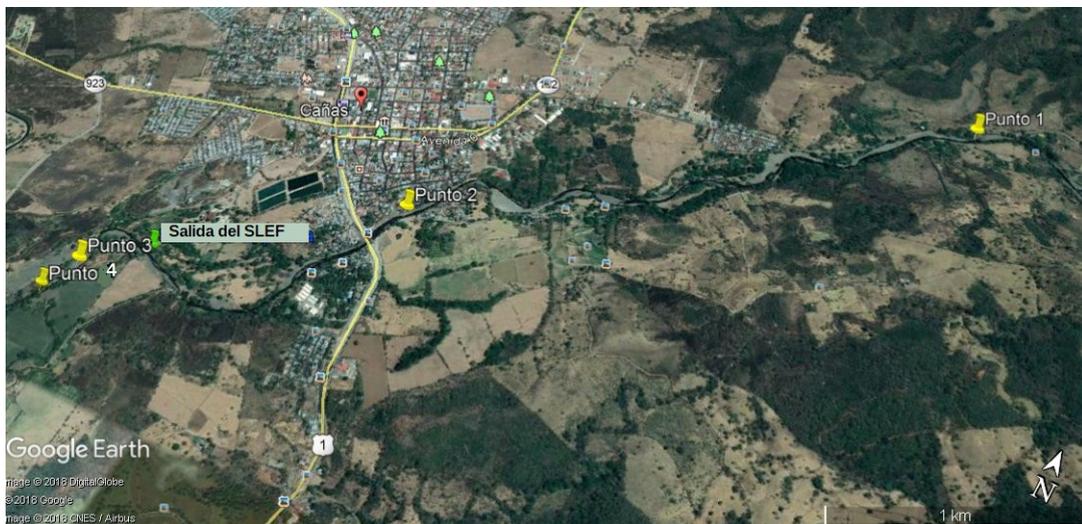


Figura 1. Sitios de muestreo Río Cañas, Cañas, Guanacaste. (Tomada de www.google.com/maps)

Recolección de datos físicos y químicos

Para la toma de los datos físicos y químicos, en cada sitio se efectuaron muestreos simples y puntuales del agua del río. El análisis de estos parámetros, se trabajaron en el Laboratorio Nacional de Aguas (LNA) del AyA y en el Laboratorio de Análisis Ambiental de la Universidad Nacional.

La temperatura y el pH, se midieron *in situ* con un equipo marca WTW pH 315i, el oxígeno disuelto se midió por la técnica de yodímetro. Además, para cada punto se determinó la turbiedad (UNT), SST(mg/L), la

Aquatic Ecology

DBO₅(mg/L), la DQO(mg/L), los nitratos(mg/L), el nitrógeno amoniacal(mg/L), el fósforo(mg/L), y los coliformes fecales(NMP/100ML). La determinación de caudales para estimar cargas contaminantes es importante, sin embargo, no se pudo realizar en este proyecto. Por otra parte, se tomaron muestras para la determinación de magnesio, calcio y sílice para los muestreos de agosto 2016 y junio 2017. Las muestras se mantuvieron en cadena de frío en una hielera durante el transporte hasta el laboratorio y posteriormente en refrigeración a 4 °C hasta que se realizaron los análisis. La metodología de análisis fue la establecida por el Laboratorio Nacional de Aguas del AyA para la turbiedad, los Sólidos Suspendidos Totales (SST), la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), la Demanda Química de Oxígeno (DQO), los nitratos, el nitrógeno amoniacal, el fósforo y los coliformes fecales y la metodología del Laboratorio de Análisis Ambiental de la Universidad Nacional para el magnesio, el calcio y el sílice.

Recolección de datos biológicos

Los grupos biológicos de microalgas que se analizaron en esta investigación fueron las cianobacterias, las algas verdes y las diatomeas. El muestreo de estos grupos se realizó de acuerdo con Bellinger y Sigee (2010) y en las mismas fichas en que se realizaron los fisicoquímicos. En cada sitio de muestreo se escogieron cinco rocas sumergidas en una zona del río expuesta al sol e inundada permanentemente, se raspó un área de 20 cm² de cada roca, este raspado se colocó en un recipiente disuelto en agua de río. Cada muestra se dividió en dos: una parte se les agregó Lugol para detener la división celular de los organismos en estudio; la otra parte se reservó para cultivarse mediante la técnica de enriquecimiento de la muestra con medio de cultivo en el laboratorio, esto con el fin de lograr una mejor identificación de los grupos de microalgas en estudio. Las muestras biológicas se trabajaron en el Laboratorio de Biotecnología de Microalgas (LABMA) de la Universidad Nacional.

Tratamiento de muestras biológicas

Para el conteo de las microalgas, se depositó un mililitro de la muestra fijada en una cámara de conteo Sedgewick Rafter; se realizaron tres conteos por muestra utilizando un microscopio binocular Nikon ECLIPSE Ni en un aumento de 4X. para determinar la abundancia por microlitro de cada uno los grupos encontrados: cianobacterias, algas verdes y diatomeas se calculó de acuerdo con Rice et al. 2012.

En el caso de las diatomeas, se realizó una digestión de las muestras con ácido clorhídrico concentrado, peróxido de hidrógeno y agua destilada (Céspedes 2014). Para esto se tomaron 15 ml del sedimento de cada muestra en un tubo cónico y se centrifugaron por 5 minutos a 3000 rpm, posteriormente se lavó el exceso de sedimento con agua destilada (tres lavados). Después de esto se agregaron 10 ml de ácido clorhídrico concentrado y se colocaron en baño María a 90°C por 30 minutos, luego se centrifugaron de nuevo para extraer el ácido y se lavó el sedimento con agua destilada tres veces. Por último, se añadió 10 ml de peróxido de hidrógeno concentrado a cada tubo, se colocaron en baño María a 90°C por 30 minutos, se centrifugaron, se extrajo el peróxido de hidrógeno y finalmente se lavó el sedimento con agua destilada tres veces (Céspedes 2014). Después de la digestión de las muestras, las frústulas se fijaron en portaobjetos con resina Permount.

Aquatic Ecology

Identificación de microalgas

Para la identificación taxonómica se utilizaron las claves de microalgas de Bellinger y Sigeo (2010); la de Bungartz (2002), clave de diatomeas de Krammer y Bertalot (1986), y la de clave de cianobacterias de Komarek y Anagnostidis (1989), fotografías de tesis de Michels (2003), el libro “The Diatoms”, de Round et al. (2007), el libro *The Freshwater Algal Flora of the British Isles*, John et al. (2011), la página en internet de la Guía de identificación de diatomeas de Estados Unidos y algaebase.org (Guiry y Guiry 2012).

Para estimar la abundancia y diversidad de diatomeas, se realizan conteos de 400 valvas con un aumento óptico de 100x, clasificándolas hasta nivel de morfoespecie y sólo un caso hasta nivel de especie. La diversidad se calculó con el índice de Shannon-Wiener únicamente para el caso de las diatomeas, el cual permitió medir la diversidad de individuos en un sector del río Cañas.

El enriquecimiento de la muestra se realizó usando tres diferentes medios de cultivo F/2, BBM, BG-11 por cuatro semanas con el fin de promover el crecimiento de las especies que se encontraban en etapas tempranas de crecimiento y además permitir el aislamiento de grupos específicos (Anderson 2005; Silva, Sili, y Torzillo, 2008). Posterior a esto, se llevó a cabo la identificación de las microalgas y cianobacterias mediante las claves antes mencionadas en la medida de lo posible hasta nivel de especie

Análisis de datos

La recopilación de los datos, los cálculos de concentraciones de microalgas y los cálculos de abundancia y diversidad de diatomeas se trabajaron en el programa Excel 360 de Microsoft. El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianzas (ANOVA), utilizando tres repeticiones por sitio de muestreo para los siguientes parámetros: temperatura, pH, turbiedad, SST, DBO, DQO, nitratos, nitrógeno amoniacal, fósforo, coliformes fecales y diversidad de diatomeas, esto con el fin de valorar si existe un efecto en la composición biológica del río Cañas. Este análisis se realizó con el software de Minitab 2018.

La relación entre los datos fisicoquímicos y biológicos se trabajaron a través de un análisis exploratorio de ordenamiento, usando el paquete Vegan de R Statistics 3.3.2. Los parámetros utilizados en este análisis fueron temperatura, pH, turbiedad, SST, DBO, DQO, oxígeno disuelto y abundancia relativa de morfoespecies de diatomeas. Para poder realizar la relación entre los parámetros fisicoquímicos y biológicos, fue necesario primeramente estandarizar los parámetros fisicoquímicos con la función *Satandarized* y a los datos biológicos se les realizó la transformación de Hellinger, esto con el fin de construir el modelo más parsimonioso para cada dato registrado. Posteriormente, se determinó el largo del gradiente con un análisis de correspondencia sin tendencia (DCA). Además, se aplicó un análisis de redundancia (RDA) para reducir la distorsión y determinar la relación entre parámetros fisicoquímicos y biológicos.

Después de esto se corrió un ajuste preliminar de regresión lineal múltiple para explorar el porcentaje de varianza explicado por los datos. Se aplicó un análisis de ordenación con los factores de inflación de varianza (VIF's) menores a 10 para buscar la bondad de ajuste de las dependencias lineales (colinealidad) de los parámetros fisicoquímicos y el criterio Akaike.

Se determinó el porcentaje de ocurrencia y el porcentaje de varianza generado por cada género de diatomeas lo que permitió establecer la relación entre la diversidad de diatomeas y los factores

Aquatic Ecology

fisicoquímicos. Con base en la información anterior se incluyeron las morfoespecies de diatomeas con los valores más altos en los dos ejes canónicos (> 0.1). Finalmente, se realizó de nuevo un RDA y una prueba de permutación de Monte Carlo (1000 permutaciones) para determinar la significancia estadística del análisis de redundancia y los ejes canónicos. Además, se realizó un análisis de partición de varianza, con el fin de determinar la cantidad de varianza explicada por los parámetros fisicoquímicos. Adicionalmente se realizó una prueba de correlación de Spearman entre la diversidad de diatomeas y los factores fisicoquímicos.

Resultados

Parámetros Físicos y químicos

Los parámetros físicos y químicos de la turbiedad, SST, DBO, DQO, los nitratos, el nitrógeno amoniacal, el fósforo y los coliformes fecales se pueden observar en la tabla 1. Con respecto a la temperatura del agua de los cuatro puntos y los cuatro meses muestreados, esta presentó un aumento en los puntos aguas abajo del río, el rango de temperatura osciló entre 18.3 y 23.3 °C. Los meses de agosto 2016 y junio 2017 presentaron en promedio la mayor temperatura, esta fue respectivamente de 26,5 y 26,0°C. Para las muestras tomadas, las temperaturas promedio antes y después del efluente del SLEF, fueron de 22,98 °C y de 23,73°C, respectivamente.

La turbiedad aumentó aguas abajo, sin embargo, para los meses de noviembre 2016 y junio 2017 se obtuvieron los rangos de turbiedad más elevados (entre 60 y 112 UTN) que los reportados en los meses de agosto 2016 y febrero 2017 (entre 3 y 25 UTN). En promedio, los valores antes del efluente del SLEF fueron de 46,75 UTN y después del efluente de 58,35 UTN.

El pH del agua osciló entre 7,1 y 8,63 en todo el estudio y sin presentar alguna tendencia en particular; en promedio, el pH antes del efluente del SLEF de estabilización facultativa fue de 7,68 y de 7,96 después del efluente del SLEF.

Los valores más altos de conductividad se registraron en el mes de febrero 2017, con relación a los restantes meses muestreados; sumado a esto, los mayores valores de conductividad se encontraron después del efluente del SLEF en S3 y S4. En promedio, se obtuvo que el valor de conductividad antes del efluente (S1 y S2) del SLEF fue de 149,37 uS/cm, mientras que después del efluente del SLEF fue de 162,12 uS/cm.

El oxígeno disuelto disminuyó aguas abajo, en promedio, la concentración de oxígeno disuelto antes del efluente del SLEF fue de 8,8 mg/L y después del SLEF de 8,63mg/. El mes de febrero, presentó las menores concentraciones de oxígeno disuelto, en un rango entre 8,2 y 8,5 mg/L.

Los sólidos suspendidos totales (SST) fluctuaron entre los sitios de muestreo en los meses de agosto y noviembre 2016. Durante el mes de agosto 2016 aumentaron consecutivamente en los sitios S1, S2 y S3, pero disminuyó en el sitio S4. El mes de noviembre 2016, tuvo una leve disminución en la concentración en el S2 con relación al S1, para luego aumentar en el S3 y disminuir de nuevo en el S4. Para los meses de febrero y junio 2017, este parámetro aumentó después del efluente del SLEF.

Aquatic Ecology

Tabla 1. Resultados parámetros físicos y químicos en el Río Cañas y ANOVA de cada parámetro con el valor estadístico de la prueba F para $p > 0,05$ de factor variable

Mes	Agosto 2016				Noviembre 2016				Febrero 2017				Junio 2017				
Sitio	S 1	S 2	S 3	S 4	S 1	S 2	S 3	S 4	S 1	S 2	S 3	S 4	S 1	S 2	S 3	S 4	F con $>0,05$
Temperatura °C	25,3	25,8	26,4	26,6	20	20,1	20,3	20,3	18,6	18,6	20,9	21,9	26,3	26,3	26,6	26,8	0,13
pH	7,34	7,26	7,10	7,56	7,48	8,05	8,01	8,03	7,89	8,33	8,63	8,43	7,9	8,02	7,97	8	0,46
Turbiedad (UTN)	15,0	16,0	25,0	23,0	100,0	107,0	110,0	112,0	3,0	3,0	4,0	4,0	60,0	70,0	105,0	84,0	0,09
Conductividad (uS/cm)	152	155	163	162	122	124	125	125	172	172	204	206	147	151	156	156	0,43
O2 disuelto (mg/l)	9,1	9,1	8,8	8,9	9,1	8,9	8,9	8,9	8,5	8,4	8,2	8,2	8,7	8,6	8,6	8,6	0,29
SST (mg/l)	8,0	14,0	19,0	7,0	10,0	8,05	23	20	14,0	17,0	24,0	29,0	22,0	27,0	31,0	36,0	1,5
DBO (mg/l)	2,6	1,4	5,2	4,8	6,2	7	6,7	6,6	0,65	1,2	2,1	2,5	2,3	2,5	3,1	3,2	0,44
DQO (mg/l)	3,0	4,0	10,0	10,0	16,0	17,0	17,0	17,0	2,0	3,0	5,0	5,0	16,0	18,0	21,0	22,0	0,33
Coliformes fecales (NMP/100ml)	2200	1700	1400	1400	1300	1100	3300	3300	330	330	2800	7900	7900	13000	17000	33000	0,72
Nitrato (mg/l)	0,60	0,60	1,60	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,88
Fósforo (mg/l)	<0,10	0,25	0,53	0,40	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	0,56
Amonio	<0,10	<0,10	0,38	0,14	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	0,10	0,19	0,35	0,32	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	1,31
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	<0,10	<0,10	0,30	0,12	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	0,14	0,28	0,26	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	1,44

Aquatic Ecology

Para los meses de febrero y junio 2017, la concentración de DBO aumentó aguas abajo del río y la misma fue mayor en S3, punto que se encuentra después del efluente del SLEF. En cambio, en los meses de agosto y noviembre 2016, su valor fluctuó y no hubo una tendencia en particular. En el mes de agosto 2016 el DBO fluctuó de un sitio a otro. Estas fluctuaciones también se dieron para el mes de noviembre 2016 (Tabla 1). En cuanto a la concentración de DQO, la misma aumentó conforme el sitio de muestreo aguas abajo del río, en promedio, el DQO antes del efluente del SLEF fue de 9,87mg/L y de 13,37mg/L después del efluente del SLEF.

Los coliformes fecales, estuvieron presentes en los cuatro puntos de muestreo en todas las fechas. En el mes de agosto 2016 se presentaron más coliformes fecales antes del efluente del SLEF que después de la misma con valores de 2200 NMP/100 ml, 1700 NMP/100 ml, para los sitios S1 y S2 y de 1400 NMP/100ml para S3 y S4 respectivamente. Para los restantes meses sí existió un incremento de este parámetro posterior al efluente del SLEF.

En el caso de los nitratos sólo se obtuvieron resultados mayores al límite de detección en el mes de agosto 2016 y estos tuvieron un aumento después del efluente del SLEF (Tabla 1). En el mes de agosto 2016 el amonio tuvo un valor mayor al límite de detección en S3, sin embargo, este parámetro disminuyó en S4. Para el mes de noviembre la concentración de amonio fue menor al límite de detección. En el mes de febrero 2017, el amonio aumentó aguas abajo y en el mes de junio 2017 la concentración fue nuevamente menor al límite de detección para todos los puntos de muestreo. El nitrógeno amoniacal aumentó levemente después del efluente del SLEF, en el mes de agosto 2016 y febrero 2017. Durante los meses de noviembre 2016 y de junio 2017 la concentración de este compuesto fue menor al límite de detección para todos los sitios de muestreo.

Para el caso del fósforo, los valores reportados fueron menores al límite de detección en los meses de noviembre 2016, febrero 2017 y junio 2017, solamente en el mes de agosto 2016 se vio un incremento de este parámetro aguas abajo y después del efluente del SLEF.

El calcio, magnesio y sílice sólo fue posible cuantificarlos en los meses de agosto 2016 y junio 2017, en la tabla 2 se puede ver el comportamiento de los elementos en los dos meses de muestreo. En cuanto al calcio, este disminuyó en los puntos de muestreo durante el mes de agosto 2016, presentándose las menores concentraciones después del efluente del SLEF. Para el mes de junio 2017, S1 mostró una concentración de calcio menor que en los sitios S2, S3 y S4.

El magnesio aumentó levemente su concentración después del efluente del SLEF tanto en el mes de agosto 2016 como en el mes de junio 2017. Por último, en cuanto al sílice, en el mes de agosto se reportaron concentraciones muy bajas, en un rango de <2 y 5,7 mg/L contrario al mes de junio 2017, que presentó concentraciones mayores (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados parámetros químicos dos muestreos Río Cañas

Mes	Agosto 2016				Junio 2017			
	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
Calcio (mg/l)	7,30	7,45	5,40	2,40	12,10	14,40	13,9	14,00
Magnesio (mg/l)	3,30	3,26	3,50	3,40	2,80	2,92	3,04	3,00
Sílice (mg/l)	5,5	<2,0	4,7	5,7	40,5	27,3	32,6	29,1

Aquatic Ecology

Pese a que las diferentes concentraciones de los parámetros cuantificados (temperatura, pH, turbiedad, SST, DBO, DQO, coliformes fecales, los nitratos, el nitrógeno amoniacal y el fósforo) aumentaron en la mayoría de los casos después del efluente del SLEF ó disminuyeron como es el caso del oxígeno disuelto, no se encontraron diferencias significativas entre los sitios de muestreo para dichos parámetros (Tabla 1).

Parámetros biológicos

Se obtuvieron resultados biológicos en los meses de agosto 2016, febrero y junio 2017. Pese a que se colectaron muestras biológicas en noviembre 2017, no obstante, este evento coincidió con la llegada del Huracán Otto, razón por la cual el río se encontraba crecido y sin posibilidad de acceso a los puntos habituales de muestreo debido a las rápidas corrientes de agua. Al igual que para los otros meses de muestreo se analizaron las muestras, sin embargo, no se obtuvieron resultados de microalgas en las muestras colectadas.

En las muestras colectadas para los muestreos de agosto 2016, febrero y junio 2017 se obtuvo que el taxón más dominante fue el de las diatomeas, las cuales presentaron una mayor concentración de individuos por microlitro (Figura 2) y con concentraciones promedio mayores al 1,94 unidades/ul de diatomeas. Las algas verdes no sobrepasaron las 0,39 unidades/ul y las cianobacterias no sobrepasaron las 0,2 unidades/ul.

Dentro del grupo de algas verdes encontradas, se identificaron individuos de los géneros *Chlorella* Beijerinck, *Desmodesmus* Chodat S.S.An, T.Friedl & E.Hegewald, y varios fragmentos de algas verdes filamentosas. En cuanto a las cianobacterias, se pudieron identificar individuos de los géneros *Phormidium* Kützing ex Gomont, *Aphanocapsa* Nägeli, *Anabaena* Bory ex Bornet & Flahault, *Calothrix* C.Agardh ex Bornet & Flahault, *Oscillatoria* Vaucher ex Gomont y *Merismopedia* Meyen.

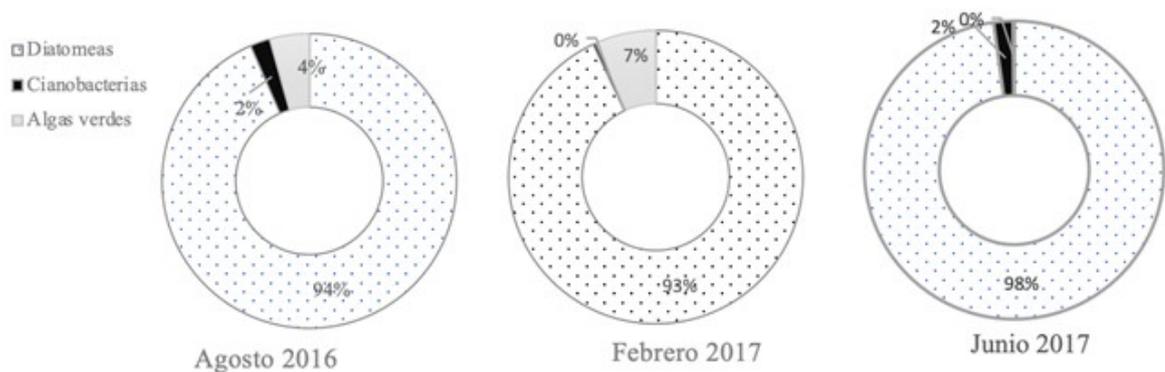


Figura 2. Abundancia promedio de microalgas para los meses de agosto 2016, febrero y junio 2017, Río Cañas Guanacaste.

Aquatic Ecology

Para el caso de las diatomeas, se identificaron un total de 82 morfoespecies (Anexo 1) en todo el estudio, distribuidas en 29 géneros. La distribución de la abundancia de los principales géneros por muestreo se puede observar en la figura 3. En el mes de agosto 2016, los géneros con mayor abundancia relativa fueron *Encyonema*, *Navicula* y *Nitzschia*. En febrero 2017 el género más abundante fue el de *Ulnaria* y para el mes de junio 2017 los géneros más abundantes fueron *Cocconeis*, *Gomphonema*, *Navicula* y *Nitzschia*.

Con base al índice de Shannon, la diversidad de diatomeas disminuyó con respecto a los puntos de muestreo aguas abajo del Río Cañas para los meses de agosto 2016 y junio 2017 (ver figura 4). Sin embargo, para el mes de febrero 2017 se obtuvo mayor diversidad en S3 (justo después del efluente del SLEF) que en los restantes sitios. Al realizar el cálculo del análisis de varianza de la diversidad, no se obtuvieron diferencias significativas entre los sitios de muestreo ($p > 0,05$, $F = 0,04$).

Relación parámetros físicos químicos y biológicos

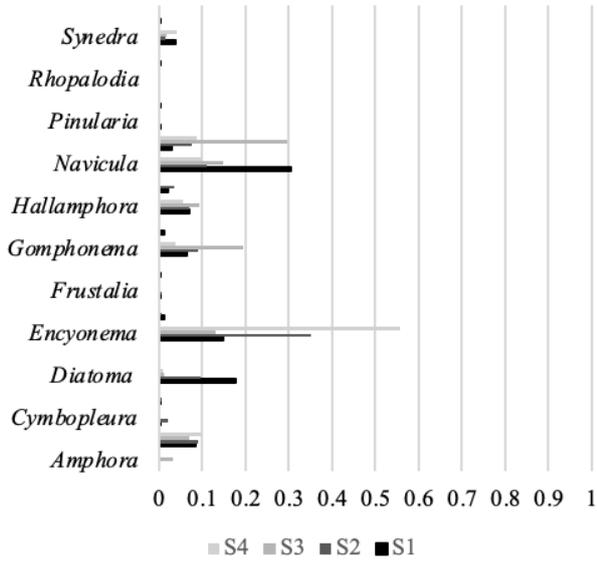
En la figura 5, de acuerdo con el Análisis de Redundancia (RDA) se puede observar de manera general, que el ecosistema en estudio se comportó de manera homogénea en cada muestreo. No se observaron grandes diferencias entre sitios de muestreo, pero sí una marcada diferencia entre los distintos meses muestreados.

El mes de agosto 2016 presentó las más altas concentraciones de oxígeno disuelto, en este mes las morfoespecies más abundantes fueron *Encyonema* sp 1, *Encyonema* sp 3 y *Navicula* sp 13 quienes se asociaron en mayor medida al S4 y a las condiciones particulares que se presentaron en este sitio como lo fue una menor turbiedad, concentración de SST, DQO, un menor pH y temperatura. *Hallamphora* sp 2 fue la diatomea que mejor se estableció en el S3 de agosto 2016, que además estuvo caracterizado por una concentración de DBO alta con relación a los restantes parámetros. *Gomphonema* sp 2, *Nitzschia* sp 6 y *Diatoma* sp también caracterizaron este mes y estuvieron explicadas por el aumento de la concentración de oxígeno disuelto (Figura 5). La abundancia relativa de especies de diatomeas en este mes fue similar a obtenida para el sitio 3 en el mes de febrero 2017.

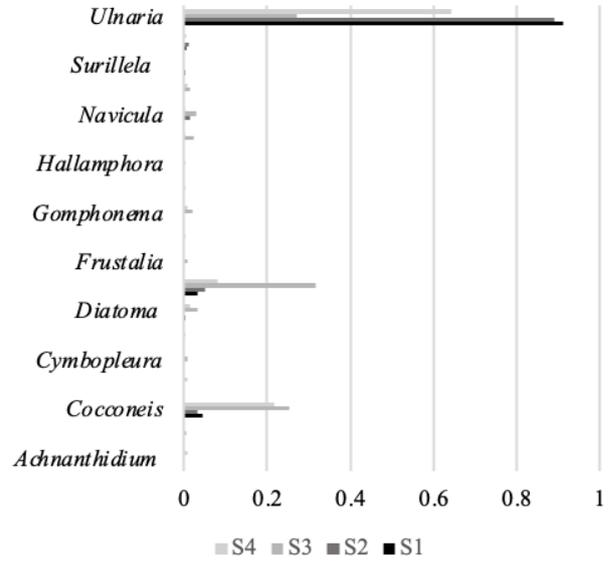
La especie con mayor abundancia en el mes de febrero 2017 fue *Ulnaria ulna*, la cual también se relacionó positivamente con la conductividad (Figura 5), parámetro que presentó los mayores valores en este mes. Asimismo, se observó la abundancia más alta de esta especie en los sitios S1, S2 y S4. El S3 tuvo para este mes una variación en la diversidad de morfoespecies, con tendencia al aumento y una variación en las concentraciones de parámetros físicos y químicos, lo cual lo hizo distinto al resto de muestreos realizados en tiempo y espacio.

En el mes de junio 2017, una de las especies más abundantes fueron *Nitzschia* sp 2, la cual, tuvo mayor abundancia en los sitios S2 y S3 y donde también se registraron los mayores valores de turbiedad y concentración de DQO. *Navicula* sp 7, *Frustalia* sp3, *Anemastus* sp 1, tuvieron una mayor relación con el S1 y el parámetro de SST. *Gomphonema* sp 3 se relacionó más con S4 y también se vio afectada por las concentraciones de turbiedad y DQO (Figura 5).

Agosto 2016



Febrero 2017



Junio 2017

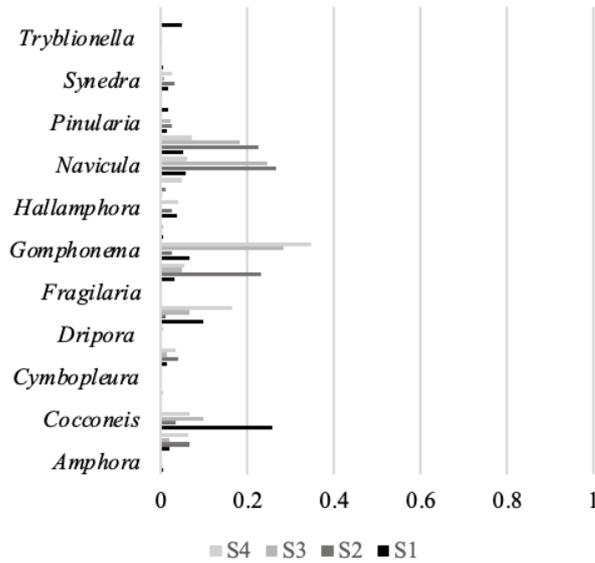


Figura 3. Principales géneros de diatomeas por cada sitio de muestreo del Río Cañas.

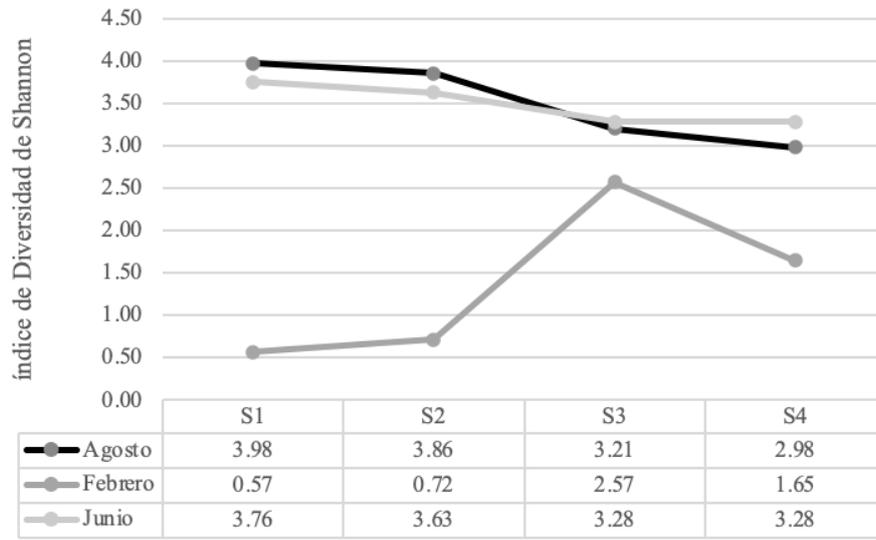


Figura 4. Índice de diversidad de Shannon de diatomeas muestreadas en cuatro puntos de muestreo del Río Cañas Costa Rica.

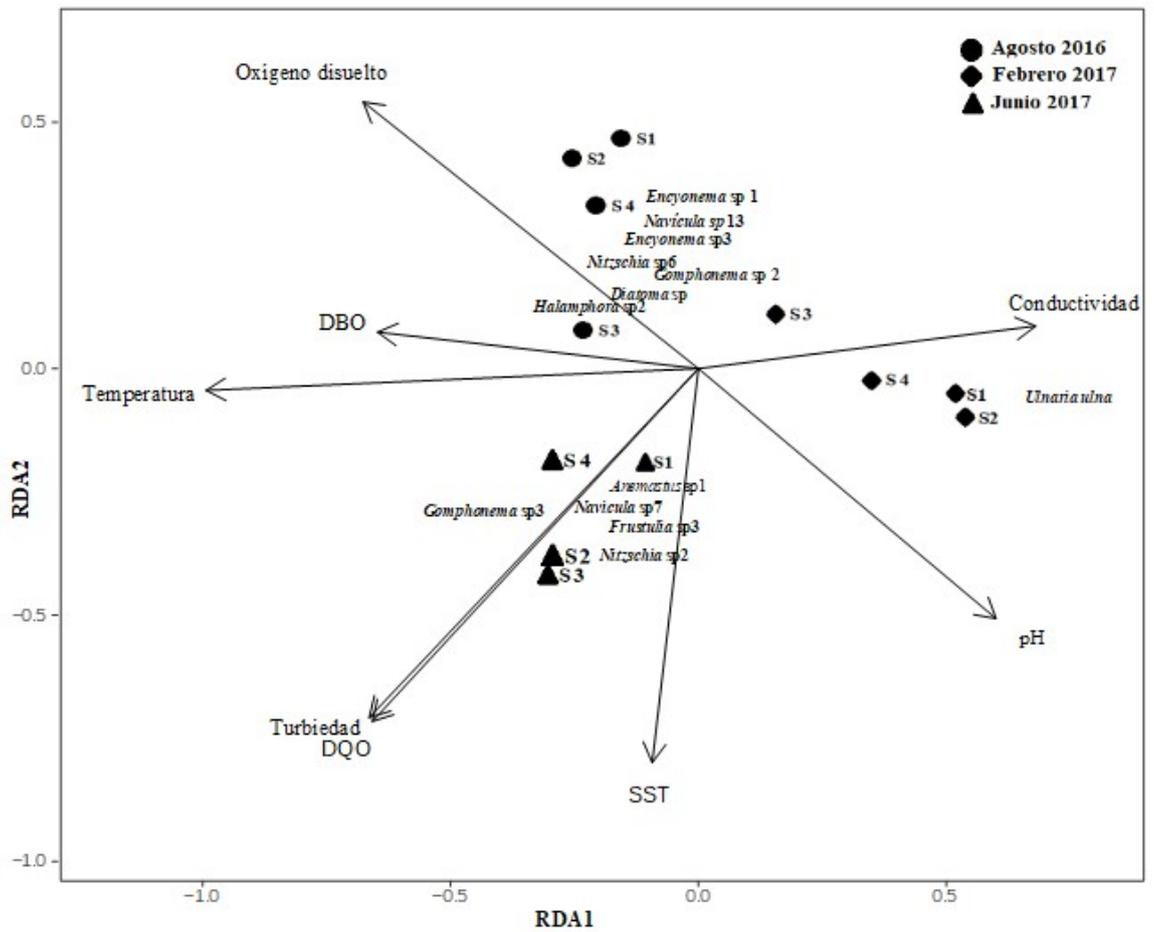


Figura 5. Análisis de redundancia (RDA) de los análisis de redundancia para las especies de diatomeas con respecto a los parámetros físicos y químicos y cada punto de muestreo del Río Cañas, Guanacaste.

Se pudieron observar e identificar varios géneros de cianobacterias y algas verdes en los medios de cultivo BBM y BG11. En los mismos se identificaron grupos que no se registraron en la muestra inicial ya que estos se pudieron observar con más detalle pues se desarrollaron en los medios de cultivo y en algunos casos hasta con sus estructuras reproductivas. Algunos de los que se encontraron fueron la especie *Pediastrum angulosum* Ehrenberg ex Meneghini, los géneros *Chlorococcus*, *Desmodesmus* (Chodat) S.S.An, T.Friedl & E.Hegewald, *Westella botryoides* (West) De Wildeman, entre las cianobacterias *Oscillatoria princeps* Vaucher ex Gomont, *Phormidium subfuscum* Kützing ex Gomont.

Discusión

El río Cañas es receptor de muchos efluentes de diversos tipos de aguas, como lo son las aguas provenientes de residenciales (crudas y tratadas), aguas de plantas de tratamiento de empresas, aguas para riego y ganadería, entre otras, haciendo que de manera general este río incremente su contaminación aguas abajo, lo cual se pudo confirmar con los parámetros medidos como temperatura, pH, conductividad, turbiedad, SST, DBO, DQO, nitratos, amonio, nitrógeno amoniacal, fósforo y coliformes fecales, mismos que mostraron un aumento en sus concentraciones aguas abajo con excepción del oxígeno disuelto, que mostró una disminución. El aumento de estos parámetros o disminución como es el caso del oxígeno disuelto son indicadores de un detrimento en la calidad del agua un ecosistema lótico (Bolaños 2015; Aveiga et al, 2019). Pese al aumento en la concentración estos parámetros, no se obtuvieron diferencias significativas entre los sitios de muestreo, demostrando que el SLEF del AyA no impacta significativamente en la calidad del río y que en los distintos puntos muestreados no se evidenciaron eventos contaminantes significativos. Las principales actividades que aprovechan el recurso hídrico del río en mención son la agricultura, la ganadería, la acuicultura, no obstante, estas suelen encontrarse en la parte baja del río, kilómetros después del sitio en estudio, un ejemplo de esto es el Ingenio Taboga que se encuentra en la cuenca baja del río. Además, tampoco se presentaron evidencias de eutrofización pues las concentraciones de fósforo y nitrógeno resultaron bajas en todo el estudio (Tabla 1) según lo establecido en el Reglamento de Evaluación y Clasificación de Cuerpos de Aguas Superficiales de Costa Rica (MINAE 2007).

Los valores de las concentraciones de turbiedad, SST, DQO, pH y Nitratos categorizaron al sector estudiado del Río Cañas como clase 2 según el uso potencial que estipula el Reglamento de Evaluación y Clasificación de Cuerpos de Aguas Superficiales de Costa Rica, sin embargo, las concentraciones del parámetro de coliformes fecales en los puntos de muestreo posteriores a la planta de tratamiento, hacen que esta clasificación descienda de uso potencial a clase 4, habilitando su uso limitadamente para la generación de energía hidroeléctrica y algunos usos para abastecimiento de actividades industriales. La presencia de coliformes fecales, los cuales se cuantificaron en todos los puntos de muestreo, son indicativo de asentamientos humanos. Para los puntos posteriores al efluente del SLEF existió un aumento de este parámetro el cual puede atribuirse a la descarga del SLEF que trata en mayor medida aguas residuales residenciales, además, puede que el sistema de lagunaje de estabilización facultativa no esté removiendo considerablemente la cantidad de coliformes fecales (Rojas et al. 2010), pese a que la norma nacional no solicita desinfección de este componente para su vertido en ríos (MINAE 2007). Esta falta de eficiencia en la remoción de coliformes fecales, puede deberse a una carencia de un sistema terciario de tratamiento o debido al

Aquatic Ecology

poco tiempo de retención que se mantiene la carga orgánica en el SLEF (Barrantes y Cartín 2017). Eventos aislados como el aumento de concentración de coliformes fecales en el S1 y el S2 para agosto 2016 evidenciaron, que además existen vertidos de aguas residuales domésticas adicionales al efluente del SLEF del AyA en otros sectores del río.

Como es característico de la época seca, el caudal del Río Cañas disminuye, lo cual provoca una menor dilución de los efluentes que se descargan en los ríos. Peinador (1999), evaluó la calidad de agua del río Cañas y durante los meses de época seca obtuvo una menor dilución de los efluentes y por ende una mayor concentración en las sustancias contaminantes. Durante este mes, las concentraciones de oxígeno disuelto se vieron levemente disminuidas en comparación con los restantes meses, el pH, la conductividad, el amonio y nitrógeno amoniacal presentaron un leve incremento en sus concentraciones aguas abajo del río. Los aumentos de los distintos compuestos de nitrógeno se debe a dos razones: una a que en condiciones normales la fuente de nitrógeno amoniacal en aguas superficiales proviene de la degradación natural de la materia orgánica presente en la naturaleza y dos, a que la descarga de aguas residuales domésticas provocan entre otras consecuencias, la disminución de los niveles de oxígeno disuelto de los ríos, el cual es consumido en los procesos de degradación bacteriana de nitrógeno amoniacal (González 2013).

La ausencia de algas bentónicas en periodos de alto caudal como lo fue el mes de noviembre 2016 puede atribuirse a la alta velocidad de corriente ya que esto impide el asentamiento y estabilización de estas comunidades (Jiménez et al. 2014). Además, al presentarse un fenómeno como lo fue el huracán Otto en noviembre del 2016, elevó el caudal del río Cañas, razón por la que no se obtuvieron resultados biológicos para el muestreo correspondiente al mes de noviembre 2016, debido a que a pesar de que se muestreó en el mismo punto que los demás muestreos, en esta ocasión no se pudo acceder al centro del río donde se encontraban las piedras sumergidas permanentemente.

El grupo taxonómico de microalgas con mayor aparición durante los meses de agosto 2016, febrero 2017 y junio 2017 fue el de las diatomeas, lo cual concuerda con estudios similares realizados con organismos bentónicos donde se ha obtenido una dominancia mayor por este grupo de algas (Arcos y Gómez 2006; Jiménez et al. 2014; López et al. 2016). Esto se debe a que las diatomeas representan alrededor del 80-90% de la comunidad del fitoplancton y a que poseen un exoesqueleto de sílice, elemento que lo obtienen de las rocas y arenas de los ríos y que les otorga estabilidad en el ecosistema béntico en el cual habitan (Vélez et al. 2016). Por el contrario, la mayoría de las cianobacterias y microalgas verdes suelen predominar suspendidas en el fitoplancton y específicamente las primeras prefieren los ambientes de pH neutros a alcalinos (Pineda et al. 2011).

Las microalgas bentónicas, especialmente las diatomeas, son uno de los grupos de microalgas que se utiliza como bioindicador, ya que tienen una amplia distribución geográfica y responden rápidamente a los cambios ambientales (Tan et al. 2013). Sumado a esto, los índices de diversidad pueden ser aplicados a un ecosistema para realizar evaluaciones de la composición de microalgas o ser asociados con la calidad del agua de un río (Alarcón & Peláez, 2012, Shulkin y Nickulina 2015), al calcular el índice de diversidad de Shannon para las diatomeas, permitió visualizar de una mejor manera la calidad de agua del ambiente lótico estudiado y además, permitió observar una mejor representación del estado ecológico del río Cañas en comparación a que sólo se hubiesen usado parámetros físicos y químicos (Mangadze y Mwed 2016).

De manera general tal y como se muestra en el RDA, el ecosistema en análisis se comportó homogéneamente entre cada sitio de muestreo (Figura 5), sin embargo, se presentó una marcada diferencia estacional de la diversidad de diatomeas. Los meses de agosto 2016 y junio 2017 presentaron valores del índice de diversidad de Shannon altos, entre 2,98 a 3,98, y no se vieron diferencias significativas entre los sitios de muestreo ($p > 0.05$) pero sí una leve disminución de la biodiversidad en los puntos de muestreo posteriores al sistema de lagunaje. En otros estudios se ha señalado que la biodiversidad de diatomeas aguas abajo de un río disminuye, debido a que aumenta la contaminación, es decir, se incrementa la concentración de carga orgánica y nutrientes que la vez se relacionada con la presencia de asentamientos humanos (Calizaya et al 2013, Chen et al. 2016, Pandey et al. 2018).

Por el contrario, en el mes de febrero, el cual corresponde a la época seca, la diversidad de diatomeas incrementó después del efluente del SLEF, debido a que los sistemas de lagunaje que tratan el agua residual están hechos para remover la materia orgánica e inorgánica, con el objetivo de cumplir con una calidad de agua requerida por la legislación vigente y además impactan positivamente en la época seca porque aumentan el caudal (Sánchez y Matsumoto 2012), factores que colaboraron a aumentar la diversidad de diatomeas en este mes de muestreo al aportar una descarga de agua tratada que promovió la aparición de otros géneros de diatomeas adicionales a los géneros de los sitios S1, S2 y S4. Al relacionar de la diversidad de diatomeas con los parámetros físicos y químicos se pudo dejar en evidencia que esta mostró una relación con la conductividad y el oxígeno disuelto (Figura 5), la variación en las concentraciones de estos parámetros son factores que controlan el crecimiento de las diatomeas en los ríos (Li et al. 2014, Mbaio et al. 2020).

El mes de agosto 2016, el género predominante del muestreo fue *Encyonema* (Figura 2), el cual es indicador de sitios limpios (Silva 1996; Céspedes 2014), durante este mes se reportaron las mayores concentraciones de oxígeno disuelto de todo el estudio (Figura 5). También se observó la presencia de especies de los géneros *Gomphonema*, *Navicula* y *Nitzschia*. (Figura 4), estos, son tolerantes a sitios contaminados e indicadores de sitios con concentraciones altas de nitrógeno, fósforo y carbono (Jiménez et al. 2014; Dalu et al. 2017; Flores et al. 2017; Pardo et al. 2018). El género *Gomphonema* y varias especies del género *Nitzschia* se reconocen como indicadores de enriquecimiento orgánico, se ha asociado a sitios agrícolas (contaminación por nutrientes) mientras que *Nitzschia* se relaciona más con sitios ganaderos, en este mes se reportó una influencia de DBO cercana al S3 (Vilches et al. 2016).

El mes de febrero se caracterizó por la predominancia de la especie *Ulnaria ulna*, su presencia se fundamenta en que es considerada una especie oligotrófica, que ha sido reportada en ambientes alcalinos, con una conductividad alta, tolerante a la contaminación, nutrientes y presente en corrientes bajas (Michel 2003; Rhonda et al. 2010; Céspedes 2014). En este mes se presentaron los valores de conductividad y pH más altos de en relación con los otros dos meses. La conductividad está relacionada a la vez con la concentración de sales en el agua por lo que puede que existiese en este mes una menor dilución de sales y compuestos de Calcio y Magnesio. La presencia de estos compuestos también se puede asociar a sitios perturbados con recarga de materia orgánica, nutrientes y mayor concentración de iones producto del impacto humano (Aveiga et al. 2019).

Durante el muestreo realizado en mes de junio 2017, el género dominante fue *Gomphonema* seguido de *Navicula* y *Nitzschia* (Figura 3) los cuales son tolerantes a sitios contaminados como se indicó anteriormente. En

Aquatic Ecology

este mes se presentaron las mayores concentraciones de SST, DQO y turbiedad del estudio, parámetros que se relacionan con dicha contaminación. Por otra parte, la temperatura, no fue un factor que influyera en los sitios de muestreo o en la diversidad de diatomeas.

Otros géneros de diatomeas presentes en el estudio fueron los géneros *Cymbella*, *Cocconeis*, *Encyonopsis* y *Diatoma*, los cuales son considerados géneros susceptibles a contaminación orgánica y tolerantes a medios alcalinos (Tolotti et al. 2018), estos dos últimos factores presentes en este estudio para los meses de agosto 2016 y julio 2017. Otros autores por el contrario han reportado el género *Cocconeis* como tolerante a contaminación orgánica por lo que al existir contradicción en que, si dicho género es tolerante para algunos autores y para otros no a este factor, no es posible considerarla una buena indicadora de contaminación (Céspedes 2014).

Se ha detectado que grupos específicos de microalgas permiten comprender mejor los procesos de alteración de las aguas (Bojorge y Cantoral 2016). De esta manera, existieron géneros predominantes en los muestreos de los meses de agosto 2016 y junio 2017, no obstante, estos meses presentaron una diversidad alta por lo que no se puede concretar que hubiese un evento contaminante importante que solo permitiese la sobrevivencia de pocas especies de diatomeas indicadoras de contaminación, por el contrario, el ecosistema se consideró diverso. El mes de febrero 2017, si estuvo marcado por una disminución en la diversidad en los S1, S2 y S4 y una predominancia de una especie en particular, lo cual sugiere que para este muestreo, existieron días atrás condiciones de alta carga orgánica, nutrientes y alta conductividad, esta última reflejada en los resultados cuantificados, que permitieron la supervivencia de *Ulnaria ulna* por encima de otros géneros y especies que no toleraron estas condiciones ambientales (Michel 2003; Rhonda et al. 2010; Céspedes 2014).

Las diatomeas utilizan el sílice como principal fuente para la generación de su exoesqueleto, poseen una pared de sílice (frústulas) que las hacen ser particulares dentro de las microalgas, el sílice, en forma de ácido silícico, es transportado en las diatomeas por proteínas transportadoras de sílice (Durkin et al. 2016, Annenkov et al. 2020), por esta razón se consideró medir el parámetro de sílice en el agua, sin embargo, no fue posible obtener la cantidad de muestreos necesarios para realizar un análisis respaldado estadísticamente. Los meses de agosto 2016 y junio 2017 presentaron concentraciones similares de sílice y la diversidad de diatomeas en ambos meses fue similar también. Parámetros como el calcio y el magnesio son considerados en la evaluación de calidad de agua en ríos y también han sido cuantificados en estudios similares a estos sin tener alguna influencia con la aparición o ausencia de distintos grupos de diatomeas (Tan et al. 2013).

En cuanto a los géneros que pudieron desarrollarse en medios de cultivo, ya que algunos de ellos se encontraban en estadios tempranos a la hora de la colecta, se pudieron identificar organismos como *Scenedesmus* el cual es un género que está presente en todos los estados de calidad del agua y pueden crecer en aguas contaminadas en gran abundancia (Phinyo et al. 2017), en este caso su abundancia fue baja. También se observaron los géneros de *Phormidium* y *Oscillatoria*, los cuales son géneros de cianobacterias bentónicas, son indicadores de contaminación orgánica y, no obstante, difíciles de observar en el conteo inicial por su morfología y tamaño (Arora y & Sahoo 2015).

Conclusiones

El río Cañas mostró un leve deterioro ambiental aguas abajo, esto se evidenció de manera general en el aumento de la concentración de los parámetros fisicoquímicos muestreados (temperatura, pH, conductividad, turbiedad, SST, DBO, DQO, nitratos, amonio, nitrógeno amoniacal, fósforo y coliformes fecales), una disminución en el oxígeno disuelto y una disminución en la biodiversidad de diatomeas específicamente. Sin embargo, el aumento de estos parámetros, así como la disminución del oxígeno disuelto no estuvo influenciado significativamente por la descarga del efluente del SLEF de estabilización facultativa del AyA.

Existió una marcada diferencia estacional entre el mes de febrero 2017 y los meses de junio 2017 y agosto 2017 para con los parámetros fisicoquímicos y diversidad de diatomeas,

El grupo taxonómico de microalgas con mayor abundancia en el ecosistema béntico del río fue el de las diatomeas, dentro de este grupo sobresalieron los géneros *Encyonema*, *Gomphonema*, *Navicula*, *Nitzschia* y *Ulnaria*. La diversidad obtenida en los meses de agosto 2016 y junio 2017 fue alta en cambio para el mes de febrero 2017 disminuyó pese a que no se reflejaron altas concentraciones de DBO, DQO y nutrientes como fósforo y nitrógeno. Durante el mes de febrero 2017 la especie *Ulnaria ulna* fue la más abundante en los S1, S2 y S4, esta especie es indicadora de ambientes contaminados, enriquecidos con nutrientes, alta carga orgánica y con alta conductividad.

El método de cultivo de microalgas en medios enriquecidos permitió el desarrollo de géneros de estos organismos que no se observaron durante los análisis con muestras frescas y fijadas. Estos géneros pertenecen principalmente al grupo taxonómico de microalgas verdes y de las cianobacterias y puede ser un complemento para ser usado en este tipo de estudios.

Referencias

- Acevedo V, Kruk DC, Bonilla DS (2012). Floraciones de Cianobacterias en el Uruguay: Niveles Guía y Descriptores Ambientales. Universidad de la República, Montevideo Uruguay.
- Alarcón N, Peláez F (2012) Calidad del agua del río Sendamal (Celendín, Cajamarca, Perú): determinación mediante uso de diatomeas. REBIOL 34(2): 29–37.
- Álvarez I, Cejudo C, Bécares E, Blanco, S (2011) Spatiotemporal changes in diatom ecological profiles: implications for biomonitoring. *Limnology*, 12, 157–168. doi:10.1007/s10201-010-0333-1
- Anderson R (2005) *Microalgas Culturing Techniques*. El Silver. California. USA.
- Annenkov, V, Gordon R, Zelinsky S, Danilovtseva E (2020) The probable mechanism for silicon capture by diatom algae: assimilation of polycarbonic acids with diatoms, is endocytosis a key stage in building of siliceous frustales. *Journal Phycology* Accepted Manuscript. Doi:10.1111/jpy.13062
- Arora, M, Sahoo D (2015) *Green Algae. The Algae World*. 100-129pp. London New York. Springer Dordrecht Heidelberg.
- Arcos MP, Gómez AC (2006) Microalgas perifíticas como indicadoras del estado de las aguas de un Humedal urbano: Jaboque, Bogotá D.C., Colombia. http://unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA6_ARTORIG6.pdf. Visitado el 16/11/18.

Aquatic Ecology

- Arcos MP, Ávila SL, Estupiñán SM, Gómez AC (2005) Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova Publicación Científica* 3(4): 69–79.
- Aveiga AM, Noles P, De la Cruz A, Peñarrieta F, Alcatarra F (2019) Variaciones Físico-Químicas de la calidad del agua del Río Carrizal en Manabí. *Enfoque UTE* 10(3): 30-41.
- Bacella LB, Vermelho AB (2013) Allelopathy as a potential strategy to improve microalgae cultivation. *Biotechnology for Biofuels* 6(1):152. doi:10.1186/1754-6834-6-152.
- Barrantes EA, Cartín M (2017) Eficacia del tratamiento de aguas residuales de la Universidad de Costa Rica en la Sede de Occidente, San Ramón, Costa Rica. *Cuadernos de Investigación UNED* 9(1): 193-197.
- Bellinger EG, Sigeer DC (2010) *Microalgas de agua dulce. Identificación y uso como bioindicadores*. Wiley Blackwell. Barcelona. España.
- Bungartz F (2002) Clave para la identificación de Fitobentos.
- Bolaños R, Watson V (1993) Mapa Ecológico de Costa Rica, según el sistema de clasificación de Zonas de Vida del mundo de L. R. Holdridge (Escala: 1:200 000). CCT, San José, Costa Rica.
- Bolaños D, Montero N, Rodríguez N, Sánchez A (2015) Calidad de aguas superficiales: estudio de la quebrada Estero, ubicada en el cantón de San Ramón, Costa Rica. *Revista Pensamiento Actual* 15(25): 61-76.
- Bojorge MG, Cantoral E (2016) La importancia ecológica de las algas en los ríos. *Hidrobiológica* 26(1): 1-8
- Bozarth A, Maier U, Zauner S (2009) Diatoms in biotechnology: modern tools and applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 82(2):195–201. doi:10.1007/s00253-008-1804-8.
- Calizaya J, Avendaño M, Delgado I (2013) Evaluación de la calidad del agua fluvial con diatomeas (*Bacillariophyceae*), una experiencia en Tacna, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 30(1):58-63.
- Céspedes E (2014) Análisis taxonómico de las principales especies de diatomeas (*Bacillariophyceae*) en seis sitios en la cuenca del río Sarapiquí, Heredia, Costa Rica. Tesis para optar por la licenciatura en Biología, con énfasis en Ecología y Gestión del Recurso Hídrico. Universidad Costa Rica.
- Chen X, Zhou W, Pickett S, Li W, Han L, Rena, Y (2016) Diatoms are better indicators of urban stream conditions: A case study in Beijing, China. *Ecological Indicators* 60: 265–274.
- Comisión Nacional del Agua, 2007. *Manual de Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento*. Editorial de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Tlapan, México, DF.
- Datos Climáticos Mundiales. 2020. <https://es.climate-data.org>. Visitado el 5/09/2020.
- Cortés F, Treviño A, Tomasini AC (2017) *Dimensionamiento de las lagunas de estabilización*. México. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- Córdova S, Gaete H, Aránguiz F, Figueroa R (2009) Evaluación de la calidad de las aguas del estero Limache (Chile central), mediante bioindicadores y bioensayos. *Revista Lat. Am. J. Aquat. Res* 37(2): 199–209. doi:10.3856/vol37-issue2-fulltext-7.
- Dalu T, Wasserman RJ, Magoro ML, Mwedzi T, Froneman PW, Wely, OLF (2017) Variation partitioning of benthic diatom community matrices: Effects of multiple variables of benthic diatom communities in an Austral temperate river system. *Science of the Total Environment* 601: 71-82.

Aquatic Ecology

- Durkin C, Koestes J, Bender S & Armbroust S (2016) The evolution of silicon transporters in diatoms. *Journal Phycology*. 52 (5): doi.org/10.1111/jpy.12441.
- Estrada RM, Menjívar RF (2013) Rol Ecológico de las cianobacterias y su presencia en los ríos Torola, Tintihupa y Jiboa de El Salvador. *Revista Bioma*, (8)
- Feira JJ, Martínez LE (2014) Tratamiento de lodos de fondo de lagunas facultativas con estabilización en condiciones de laboratorio. *Revista EIA* 11: 113-122.
- Flores E, Villalovos N, Piedra L, Scholz C (2017) Evaluación breve de la presencia de diatomeas y su relación con algunos parámetros físicos y químicos en el río Pirro, Heredia, Costa Rica. *Revista UNICIENCIA* 31(2): 99-10.
- Garduño G, Rodríguez MC, Martínez M, Quintanar RE, Lozano C, Campos JE, Monsalvo AC (2011) Cultivos de microalgas del Lago de Catemaco, Veracruz. *Revista Latinoamericana Biotecnológica Ambiental Microalgas* 2(2): 67–80.
- González L (2013) Nitrógeno Amoniacal, importancia de su determinación. *Revista Mente y Materia* 4 (1): 12-13.
- Guiry MD, Guiry GM (2012) *Algae Base*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway, Ireland. (Consultado 12 junio 2016, www.algaebase.org).
- Ismail H, Zeaiter Z, Farkh S, Abou-Hamdan, H (2015) Comparative Analysis of Results Obtained From 3 Indexes (SEQ-Eau, IBD, IPS) Used To Assess Water Quality Of The Berdawni, A Mediterranean Stream At The Beqaa Region – Lebanon. *Internacional Journal of Scientific y Technology Research* 4(3).
- Jiménez P, Toro B, Hernández E (2014) Relación entre la comunidad de fitoperifiton y diferentes fuentes de contaminación en una quebrada de los andes colombianos. *Bol.cient.mus.hist.nat* 18(1): 49–66.
- Johansen M, 2012 *Microalgas, Biotecnología, Microbiología y Energía*. Nueva York. Editorial Nova Science Publishers, Inc.
- John DM, Whitton BA, Brook AJ (2011) *The Freshwater Algal Flora of the British Isles*. New York. United States. Cambridge University.
- Komarek J, Anagnostidis K (1989) Modern approach to the classification system of Cyanophytes. 4. Nostocales. *Arch. Hydrobiol.Algol. Stud* 82: 247-345.
- Krammer K, Lange H (1986) *Bacillariophyceae*. New York. 876pp.
- Li YP, Tang C, Yu ZB, Acharya K (2014) Correlations between microalgas and water quality: factors driving eutrophication in Lake Taihu, China. *Int. J. Envirom. Sci. Technol* 11: 169-182.
- Lobo E, Heinrich C, Wetzel C, Schuch M, Hector L (2016) Diatoms as bioindicators un rivers. In: Necchi JR O. (eds) *River Algae*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-31984-1_11.
- López O, Montejano G, Carmona J, Cantonal E, Becerra I (2016) Diversidad algal de un ambiente extremo: el manantial geotermal Los Hervideros, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*: 87, 1-9.
- Mangadze T, Mwed, T (2016) Choice of biota in stream assessment and monitoring programs intropical streams: A comparison of diatoms, macroinvertebrates andfish. *Ecological Indicators*:63, 128–143

- Mbao E, Gao J, Wang Y, Sitoki L, Pan Y, Wang P (2020) Sensitivity and reliability of diatom metrics and guilds in detecting the impact of urbanization on streams. *Ecological indicators* 116: 106506. doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106506
- Michels A (2003) *Ecología y distribución de diatomeas en ríos de Costa Rica, como base para la evaluación biológica de la calidad de aguas en los trópicos*. Berlin. Alemania.
- MINAE 2007. Reglamento para la Evaluación y Clasificación de la Calidad de Cuerpos de Agua Superficiales. Decreto Ejecutivo N°33903 del 09 de marzo de 2007. Publicado en La Gaceta No.178 de 17 de setiembre del 2007.
- MINAE 2007. Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales. Decreto Ejecutivo N°33601 del 09 de marzo de 2007. Publicado en La Gaceta No.55 de 19 de marzo del 2007.
- Moreira A (2020) II Informa Nacional Voluntario Objetivos de Desarrollo Sostenible Costa Rica. https://documentos.mideplan.go.cr/share/s/KnmDPk5cT76rag_g2JclZw Consultada el 23/08/2020
- Mosleh MA, Manssor H, Malek S, Milow P, Salleh A (2012) A preliminary study on automated freshwater algae recognition and classification system. *BMC Bioinformatics* 13(17): 2-17.
- Noyola A, Sagastume JM, Güereca LP (2013) Selección de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales municipales. México. Universidad Autónoma de México.
- Oscos J, Goma J, Ector L, Cambra J Pardos M, Durán C (2007) Estudio comparativo del estado ecológico de los ríos de la cuenca del Ebro mediante macroinvertebrados y diatomeas. *Rev Limnetica* 26 (1): 143-158.
- Pandey L, Lavoie I, Morin S, Park J, Lyu J, Choi S, Lee, H, Han T (2018). River water quality assessment based on a multi-descriptor approach including chemistry, diatom assemblage structure, and non-taxonomical diatom metrics. *Ecological indicators* 84: 140-151.
- Peinador M (1999). Las cianobacterias como indicadores de contaminación orgánica. *Revista Biología Tropical* 47(3): 381-391.
- Pineda R, Martínez F, Garduño G, Olvera R (2011) Caracterización morfológica y molecular de Cianobacterias filamentosas aisladas de florecimientos de Tres lagos urbanos eutróficos de la ciudad de México. *Polibotánica* 31: 31-50.
- Pardo I, Delgado C, Abraína R, Gómez C, García E, García L, Reynoldson T (2018). A predictive diatom-based model to assess the ecological status of streams and rivers of Northern Spain. *Ecological Indicators* 90: 519-528.
- Phinyo K, Pekkoh J, Peerapornpisal Y (2017) Distribution and ecological habitat of *Scenedesmus* and related genera in some freshwater resources of Northern and North-Eastern Thailand. *Biodiversitas* 18(3): 1092-1099 DOI: 10.13057/biodiv/d180329
- Rice E, Baird R, Eaton A, Clesceri L (2012) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22th Edition. Washington, USA.
- Rivera CA, Díaz C (2004) Grandes taxones de fitobentos y su relación con la hidrología, física y química de pequeños ríos andinos. *Revista Facultad de Ciencias Universidad Pontificia* 9: 75-86.

Aquatic Ecology

- Rhonda B, Zori D, Byock J (2010) Diatoms as bioindicators of site use: locating turf structures from the Viking Age. *Journal of Archaeological Science* 37: 2920-2928.
- Rojas N, Sánchez A, Matiz A, Salcedo J, Carrascal A, Pedroza A (2010). Evaluación de tres métodos para la inactivación de coliformes y *Escherichia coli* presentes en agua residual doméstica, empleada para riego. *Universitas. SCIENTIARUM* 15(2): 139-149.
- Round FE, Crawford RM, Mann DG (2007). *The Diatoms, Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge University Press. New York, Unaided States. 747p.
- Sánchez IA, Matsumoto T (2012) Evaluación del desempeño de la planta de tratamiento de aguas residuales urbanas de ILHA Solteira (SP) por lagunas facultativas primarias. *Revista Ingeniería en Desarrollo* 30(2): 199-222.
- Shulkin VM, Nikulina TV (2015) Comprehensive Assessment of River-Water Quality in Primorskii krai, Russian Federation, with Respect to Chemical Characteristics and Composition of Periphyton Microalgae. *Inland Water Biology* 8(1): 15-24.
- Silva, M (1996) The epilithic diatom flora of a pristine and a polluted river in Costa Rica, Central America. *Diatom. Res*: 11: 105-142.
- Silva AM, Sili C, Torzillo G (2008) Cyanoprokaryota y micromicroalgas (Chlorophyceae y Bacillariophyceae) bentónicas dominantes en ríos de Costa Rica. *Revista Biología Tropical*, 56: 221-235.
- Smol JP, Stoermer EF (2010) *The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences*. Cambridge University. New York. United States of America.
- Suarez A, Baldioceda A, Golcher C, Rojas D (2014) Evaluación de la calidad del agua y las áreas ribereñas en la subcuenca del Río Liberia, Guanacaste, Costa Rica. *Rev. Clima, Agua y Energía: pilares para el desarrollo sostenible* 1: 107-123.
- Tan X, Peiming M, Xia X, Zhang Q (2013) Spatial Pattern of Benthic Diatoms and Water Quality Assessment Using Diatom Indices in Subtropical River, China. *Spil, Air Water* 42 (1): doi.org/10.1002/clem.201100152.
- Tolotti R, Consani S, Carbone C, Vagge G, Capello M, Cutroneo L (2018) Benthic diatom community response to metal contamination from an abandoned Cu mine: Case study of the Gromolo Torrent (Italy). *Journal Environmental Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.03.034>
- Valverde R (2015) Disponibilidad, distribución, calidad y perspectivas del agua en Costa Rica. *Rev Ambientales* 45: 6-12.
- Vélez A, Lozano S, Cáceres K (2016) Diversidad de fitoplancton como indicador de calidad de agua en la Cuenca Baja del Río Lurín, Lima, Perú. *Ecología aplicada* 15(2): 69-79. DOI: <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v15i2.745>.
- Vilches, C., Casco, M.A & Giorgi, A. 2016. El perifiton como indicador de contaminación difusa: el caso de la cuenca superior del Río Reconquista (Buenos Aires, Argentina). *Revista Bol.Soc.Argent.Bot*, 51 (4), 579-595
- Veliz E, Llanes JG, Asela L, Bataller V (2009) Reuso de aguas residuales domésticas para riego agrícola. Valoración crítica. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 40 (1): 35-44.

Aquatic Ecology

Villalobos N, Scholz C, Quirós JD, Lazo A (2016) Presencia de microalgas y cianobacterias en la laguna facultativa de Lomas de Buenos Aires, Puntarenas, Costa Rica. Manuscrito no publicado para la revista Hidrogénesis (AyA).

Von Sperling, M. (2007). Waste stabilisation ponds (Vol. 3). IWA publishing.

Anexo 1. Abundancia relativa y diversidad de diatomeas en cuatro puntos de muestreo en el Río Cañas, Guanacaste tomados en tres meses (agosto 2016, febrero y junio 2017)

Especie	Agosto				Febrero				Junio			
	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
<i>Achnantheidium</i>								0,01				
<i>Amphora</i> sp1			0,03						0,01	0,00		
<i>Amphora</i> sp2		0,00										
<i>Anemastus</i> sp							0,01		0,02	0,07	0,02	0,06
<i>Cocconeis fluviatilis</i>			0,00	0,00		0,03		0,01	0,02			
<i>Cocconeis placentula</i>	0,08	0,09	0,07	0,09	0,05		0,25	0,21	0,24	0,04	0,10	0,07
<i>Cocconeis</i> sp	0,00			0,01								
<i>Craticula</i> sp								0,01				0,01
<i>Cymbella</i> sp1	0,01											
<i>Cymbella</i> sp2		0,01										
<i>Cymbella</i> sp3							0,00					
<i>Cymbopleura</i> sp	0,00	0,02					0,01					0,00
<i>Diatoma</i> sp	0,18	0,10	0,01	0,01	0,00		0,03	0,02	0,02	0,04	0,02	0,04
<i>Dripora</i> sp												0,01
<i>Encyonema</i> sp 1	0,07	0,05		0,12			0,01					
<i>Encyonema</i> sp 2	0,00								0,00			
<i>Encyonema</i> sp3	0,08	0,30	0,13	0,44	0,03	0,05	0,31	0,08	0,10	0,01	0,07	0,17
<i>Encyonopsis</i> sp		0,01										
<i>Fragilaria</i> sp1		0,00		0,00								
<i>Fragilaria</i> sp2												0,00
<i>Fragilaria</i> sp3		0,01		0,00								
<i>Fragilaria</i> sp4							0,01					
<i>Fragilaria</i> sp5	0,01											
<i>Frustalia</i> sp1		0,01					0,01		0,01			0,05
<i>Frustulia</i> sp2	0,01											
<i>Frustulia</i> sp3									0,02	0,23	0,05	0,01
<i>Gomphoneis</i> sp	0,01						0,00					
<i>Gomphonema</i> sp1	0,00	0,02										
<i>Gomphonema</i> sp 2	0,03	0,03		0,01								
<i>Gomphonema</i> sp3	0,00	0,03	0,07	0,02			0,02	0,01	0,07	0,03	0,29	0,35
<i>Gomphonema</i> sp4	0,04	0,01										
<i>Gomphonema</i> sp5			0,12	0,01			0,00					
<i>Gomphosinica</i> sp							0,00					
<i>Gyrosigma</i> sp	0,01	0,01							0,01	0,00	0,01	0,00
<i>Halamphora</i> sp1	0,02	0,02										
<i>Halamphora</i> sp2	0,05	0,06	0,09	0,06			0,00		0,04	0,03	0,00	0,04
<i>Halamphora</i> sp3									0,00			
<i>Meridion</i> sp	0,02	0,04		0,00			0,02	0,00	0,00	0,01		0,05
<i>Navicula</i> sp1	0,14	0,00				0,01	0,03	0,00	0,01	0,10		0,05
<i>Navicula</i> sp2		0,01										
<i>Navicula</i> sp3		0,01										
<i>Navicula</i> sp4			0,01									
<i>Navicula</i> sp5											0,02	
<i>Navicula</i> sp6	0,01											
<i>Navicula</i> sp7			0,12	0,04					0,02	0,14	0,20	0,01

Aquatic Ecology

<i>Navicula</i> sp8	0,02	0,02			0,00		0,00					
<i>Navicula</i> sp9									0,01			
<i>Navicula</i> sp10	0,01			0,01								
<i>Navicula</i> sp11									0,01			
<i>Navicula</i> sp12			0,01	0,01							0,01	
<i>Navicula</i> sp13	0,02	0,01	0,02	0,03	0,01			0,02	0,01	0,03		
<i>Navicula</i> sp14	0,11	0,06		0,02								
<i>Navicula</i> sp15										0,01		
<i>Navicula</i> sp16						0,00		0,00		0,00	0,01	
<i>Nitzschia</i> sp1			0,00									
<i>Nitzschia</i> sp2						0,00		0,03	0,10	0,12	0,06	
<i>Nitzschia</i> sp3									0,01	0,02	0,00	
<i>Nitzschia</i> sp4						0,00						
<i>Nitzschia</i> sp5		0,02		0,01		0,01	0,01	0,01	0,10	0,03	0,01	
<i>Nitzschia</i> sp6	0,02	0,04	0,28	0,08			0,00	0,01	0,01	0,00		
<i>Nitzschia</i> sp7		0,01										
<i>Nitzschia</i> sp8	0,01	0,01				0,00		0,01		0,01	0,01	
<i>Nitzschia</i> sp9									0,01			
<i>Nitzschia</i> sp10		0,00										
<i>Nitzschia</i> sp11			0,02									
<i>Pinnularia</i> sp1	0,01											
<i>Pinularia</i> sp2			0,00					0,01		0,02		
<i>Pinularia</i> sp3								0,01		0,01	0,00	
<i>Pinularia</i> sp4									0,03			
<i>Planothidium</i> sp	0,00	0,00		0,00								
<i>Rhoicosphenia</i> sp												
<i>Rhopalodia</i> sp1		0,00						0,02		0,00		
<i>Rhopalodia</i> sp2								0,00				
<i>Surirella</i> sp 1	0,00											
<i>Surirella</i> sp2	0,00	0,00										
<i>Surirella</i> sp3						0,00						
<i>Synedra</i> sp1				0,00	0,00	0,00		0,00		0,00	0,00	
<i>Synedra goulardii</i>	0,04	0,02	0,02	0,04	0,00	0,01	0,01	0,02	0,03	0,01	0,02	
<i>Tabellaria</i> sp								0,01				
<i>Tryblionella</i> sp										0,00		
<i>Ulnaria ulna</i>	0,00				0,91	0,89	0,27	0,64	0,05		0,00	
Diversidad	3,98	3,86	3,21	2,98	0,57	0,72	2,57	1,65	3,76	3,63	3,28	3,28