

Relación entre la determinación del pigmento Clorofila *a* y el Biovolumen geométrico algal en un lago de planicie de inundación (Ciénaga de Ayapel, Córdoba-Colombia)

Relationship between chlorophyll *a* pigment and algal geometric biovolume determination in a floodplain lake (Ciénaga Ayapel, Córdoba-Colombia)

*Esnedy Hernández**, *Nestor Jaime Aguirre*, *Jaime Alberto Palacio*.

Grupo de Investigación en Gestión y Modelación Ambiental (GAIA), Sede de Investigación Universitaria (SIU). Universidad de Antioquia. Calle 62 N.º 52-59. Medellín, Colombia.

(Recibido el 10 de septiembre de 2010. Aceptado el 25 de mayo de 2011)

Resumen

La estimación de la biomasa de algas planctónicas puede realizarse por dos métodos, la cuantificación del biovolumen geométrico y la concentración de clorofila *a*. En este trabajo, el cual tiene como escenario ambiental la Ciénaga o planicie de inundación de Ayapel-Córdoba, se detallan los protocolos de cuantificación de biovolumen y clorofila *a* y se demuestra como ambas variables representan efectivamente las diferencias en biomasa en el espacio y en el tiempo, registrando además un alto grado de correlación. Se demostró que mediante un adecuado protocolo de extracción de la clorofila *a* se obtiene una rápida y efectiva estimación de la biomasa de algas que puede ser utilizada para aplicar una clasificación trófica, lo que también puede ser obtenido por medio del conteo y estimación de dimensiones geométricas al microscopio.

----- *Palabras clave:* fitoplancton, biovolumen, clorofila *a*

Abstract

The estimation of biomass of planktonic algae can be done by two methods, the quantification of geometric biovolume and chlorophyll *a*. This work which considers as environmental scenario the Ayapel-Cordoba flood-plain lake, introduces (presents) the two protocols for geometric

* Autor de correspondencia: teléfono + 57 + 4 + 219 65 64, fax. + 57 + 4 + 219 65 68, correo electrónico: esheat@udea.edu.co (E. Hernández)

biovolume and chlorophyll *a* quantification, and shows that both variables actually represent differences in biomass in space and time, also recording a high degree correlation. The results show that by using an appropriate extraction method for chlorophyll *a*, it is possible to have a quick and effective method for determining the biomass of algae that can be used to apply a trophic classification, which can also be obtained by counting and estimation microscopic geometric dimensions.

----- *Keywords:* phytoplankton, biovolume, chlorophyll *a*

Introducción

Para evaluar el estado ambiental de un sistema acuático son utilizadas diferentes variables, entre ellas algunas de carácter biológico relacionadas con los productores primarios como el fitoplancton. Estas variables comprometen dos tipos de estimación, la concentración de la clorofila *a* y el biovolumen geométrico basado en la morfología de las algas; la primera es considerada como un indicador robusto del fitoplancton [1, 2] mientras que la segunda es reconocida como un factor altamente potente para evaluar la ecología y los patrones de distribución de las comunidades fitoplanctónicas considerando el volumen de las formas dimensionales en combinación con el conteo al microscopio [3].

Por su parte, la concentración de clorofila *a* se utiliza para estimar en forma indirecta la biomasa de las comunidades fitoplanctónicas ya que es el principal pigmento fotosintético presente en los diferentes grupos de algas, también es un indicador del estado fisiológico del fitoplancton y del estado trófico de los sistemas acuáticos [1].

Para estimar la clorofila existen diferentes métodos, procedimientos y modelos matemáticos desarrollados con el objeto de minimizar los errores ocasionados por la presencia de otros pigmentos fotosintéticos y de algunos compuestos químicos en el agua [4, 5]. La literatura reporta diferentes solventes (acetona, metanol, etanol, entre otros) y procedimientos de extracción (maceración, sonicación, calentamiento y congelamiento), además de la aplicación de ecuaciones que utilizan distintas longitudes de onda [5, 6]. Así mismo algunas revisiones detalladas analizan los

inconvenientes que ofrecen estos procedimientos en la exactitud de la cuantificación de la clorofila [7].

Los algoritmos con los que se estiman los pigmentos por diferentes métodos buscan aumentar la precisión en escala regional y local, dado el gran número de factores que afectan su cálculo. Uno de los métodos disponibles y abordado en este estudio es el desarrollado por ISO código 10260, protocolo probado para el análisis de la calidad del agua desde métodos físicos, químicos y biogeoquímicos. Este método es espectrofotométrico y con respecto a los modelos de regresión la tendencia de los resultados es altamente coherente en contraste con el método fluorométrico [5].

La clorofila *a* como variable estimadora de biomasa es comúnmente utilizada para evaluar el estado trófico de los ambientes acuáticos ya que una de las consecuencias de la eutrofización es el crecimiento masivo de algas, lo cual genera problemas ambientales en el uso del agua como el suministro de agua potable, corrosión de equipos hidroeléctricos y dificultades en los procesos de tratamiento entre otros [8]. El centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS) convocó en 1981 el análisis de las metodologías para la evaluación de la eutrofización. En este estudio se desarrolló un programa regional de metodologías óptimas para lagos cálidos tropicales debido a las diferencias con los sistemas templados y de ahí se obtuvo el sistema de clasificación de estado trófico utilizando la clorofila *a* como un método eficiente en la evaluación de sistemas en países tropicales, por lo cual fue considerado en este estudio.

Este trabajo brinda un contraste entre ambas variables de estimación en diferentes profundidades de la zona fótica, establecimiento la relación entre el biovolumen y la clorofila *a* como variable corroborativa, sugiriendo que estas metodologías son complementarias y eficientes en la evaluación ambiental de los ecosistemas acuáticos.

Metodología

Área de estudio

El municipio de Ayapel se encuentra localizado en el extremo oriental del departamento de Córdoba, en límites con los departamentos de Sucre, Bolívar y Antioquia. Geográficamente la zona se ubica entre las coordenadas 8° 04' -8° 30' de latitud norte y 74° 84' -75° 20' de longitud oeste, sobre la vertiente oriental del río San Jorge, el sistema hídrico más importante y alrededor del cual gira la actividad económica regional (Figura 1). La Ciénaga de Ayapel tiene una extensión aproximada de 45 km² en época de aguas altas y posee un sistema hidrológico propio que recoge las precipitaciones de las quebradas de los costados oriental y sur (quebrada Quebradona, quebrada Escobilla, caño Trejos, caño Muñoz, y caño Don Matías). Su principal nexo hidrológico establece el flujo de intercambio con el río San Jorge por el caño Grande. El territorio se ubica en una zona de bosque húmedo tropical (bh-T), en donde se presenta una época de lluvias de abril a noviembre y una época seca de diciembre a marzo. El promedio anual de lluvias fluctúa entre 2000 y 2500 mm. La temperatura ambiente alcanza valores mayores a 25 °C [9].

Diseño de muestreo

Entre los años 2006 y 2008 fueron monitoreadas entre 3 y 8 estaciones de muestreo seleccionadas con base a la representación de puntos extremos e intermedios del sistema cenagoso de Ayapel. Las estaciones corresponden a los sectores denominados Los Toros (N 8° 23' 38,67'', O 75° 04' 31,03''), La Caimanera (N 8° 26' 20,69'', O 75° 3' 58,98''), La Miel (N 8° 21' 43,52'', O 75°

03' 06,10''), Ayapel (Centro o frente al pueblo) (N 8° 19' 0,165'', O 75° 04' 31,03''), Hoyo de los Bagres (N 8° 17,46' 35'', O 75° 06' 22,06''), Quebradona (N 8° 17' 26,41'', O 75° 09' 07,37''), Escobilla (N 8° 23' 38,67'', O 75° 04' 31,03'') y Los Cawises (N 8° 16' 22,19'', O 75° 3' 51,75''). Los muestreos fueron ejecutados en julio y septiembre del año 2006, marzo y agosto de 2007 y enero y abril de 2008, períodos en los cuales se diferentes niveles limnimétricos.

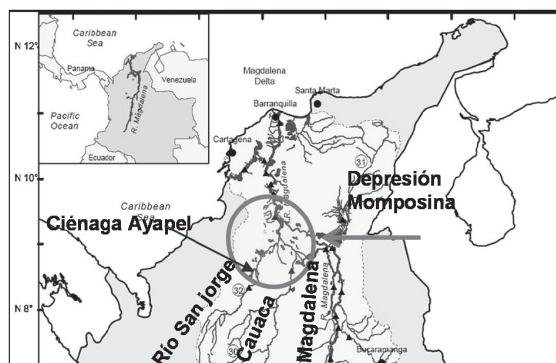


Figura 1 Localización del área de estudio, Ciénaga de Ayapel-Córdoba, Colombia. Tomado de Chalarca [10]

En cada una de las estaciones se tomaron muestras para el análisis de clorofila *a* y algas planctónicas en la subsuperficie (1D), profundidad Secchi (2D) y profundidad Secchi x 3 (3D), estas muestras fueron obtenidas por medio de una botella tipo Kemmerer. Para la toma de clorofila *a* se dispusieron 500 ml del agua colectada en recipientes oscuros e inmediatamente refrigerados; en el menor tiempo posible un volumen conocido de estos recipientes fue filtrado mediante una bomba de succión utilizando filtros de fibra de vidrio de 0.45 µm, los cuales fueron congelados para el transporte al laboratorio, lugar donde se realizó la fase de extracción. Las muestras de fitoplancton de 1 litro se fijaron en una solución de lugol al 10%.

VARIABLES FÍSICAS Y QUÍMICAS

In situ fueron medidos el oxígeno disuelto, el pH y la conductividad eléctrica por medio

de un oxímetro modelo WTW. 300/Set, un pechímetro modelo WTW.330/Set-1 y un conductímetro WtW 300/set respectivamente; la transparencia fue obtenida por medio del disco Secchi. En el laboratorio fueron determinadas las concentraciones de nitratos (NO_3^-), amonio (NH_4^+) y ortofosfatos (PO_4^{3-}) con un espectrofotómetro Spectroquant Nova 60 modelo KGaA 62293.

Análisis de laboratorio

Para la observación de las muestras de fitoplancton se utilizó un microscopio invertido LEICON y la utilización de una cámara de conteo de **Utermöhl** sedimentando un volumen de 50ml. Las observaciones al microscopio se efectuaron según Ros [11] por medio de un conteo en 30 campos; para ello se seleccionaron varias áreas o campos de observación siguiendo un sistema de muestreo al azar. El conteo se realizó con una magnificación total de 400X.

Para estimar el biovolumen de las algas planctónicas, se utilizó el método del volumen celular medio obtenido a partir de las dimensiones de al menos 20 células seleccionadas aleatoriamente en el microscopio y la correspondencia de la forma celular a un sólido geométrico según Hillebrand [12]. La densidad absoluta (cel/ml) de un taxa, así como el promedio del número de células de algas que formaban colonias fue multiplicado por su volumen celular medio para obtener un estimativo de la biomasa de cada taxa. El resultado final de la estimación de la biomasa fue expresado en su volumen celular (mm^3/l).

Para el análisis de la clorofila *a* se utilizó el protocolo de extracción B,[13] el cual contempla la utilización de un filtro de fibra de vidrio de $0,45 \mu\text{m}$ que proviene congelado (4°C) y protegido de la luz después de la filtración de la muestra en campo. La refrigeración no debe sobrepasar 3 días para la extracción en laboratorio, la cual utiliza como solvente de extracción etanol al 90% (10ml), calentamiento a 75°C durante 5 minutos e inmediato equilibrio a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifuga a 3000 rpm con el fin de obtener un

sobrenadante claro y finalmente la etapa de medición de absorbancias a 665 y 750 nm sin acidificar y acidificadas con HCl (3M); las absorbancias fueron estimadas por medio de un espectrofotómetro SECOMAM Uvi Ligh xs2 y el programa de análisis Lab Power Junior. La preparación del blanco debe cumplir todos los pasos de la preparación de las muestras problema y la lectura de las muestras después de agregar el HCl debe verificar la relación ácida 1,7 como es recomendado por el protocolo.

Procesamiento y análisis de la información

Se presenta una tabla con los valores medios y la desviación estándar de las variables ambientales analizadas (tabla 1). Para cada estación, profundidad y muestreo son presentados los perfiles del biovolumen de los gremios fitoplanctónicos y la concentración de clorofila *a*. Para determinar si ambas variables presentaban diferencias estadísticamente significativas entre estaciones, profundidades y momentos de muestreo se aplicó la prueba Kruskal-Wallis. La significancia estadística de la relación entre el biovolumen y la clorofila *a* fue establecida por medio de la correlación por rangos de Spearman.

Resultados y discusión

Variables físicas y químicas

A excepción de la profundidad total y la transparencia Secchi las variables físicas y químicas registraron baja variación espacial según los valores de desviación estándar (tabla 1). Las mayores profundidades y transparencias se presentaron en las estaciones Centro, Hoyo los Bagres y Los Toros.

En términos generales la conductividad eléctrica presentó valores entre 112 y $157 \mu\text{S}/\text{cm}$, el oxígeno disuelto registró valores superiores a $6,1 \text{ mg}/\text{l}$ y el pH a 7,0, indicio de actividad fotosintética positiva.

Tabla 1 Registro de las variables físicas y químicas monitoreadas en los diferentes sectores de la ciénaga de Ayapel en enero y febrero 2008. Valores medios (\bar{x}) y de desviación estándar (DE) entre las estaciones

<i>Estación de muestreo /Variable</i>	<i>La Miel</i>	<i>Quebradona</i>	<i>Caño Grande</i>	<i>Centro</i>	<i>Hoyo los Bagres</i>	<i>Escobilla</i>	<i>Playa Blanca</i>	<i>Los Cawises</i>	<i>Los Toros</i>	$\bar{x} \pm DE$
Prof. T (m)	2,22	1,31	1,81	5,14	3,66	3,84	3,67	2,30	3,37	3,04±1,21
Secchi (m)	0,95	0,65	0,48	1,24	1,45	1,62	0,97	0,40	0,67	0,94±0,43
Prof. Z. Fótica (m)	2,60	1,70	1,30	3,30	3,90	4,37	2,60	1,08	1,80	2,52±1,16
Cond.(µS/cm)	157	129	112	112	109	118	127	121	144	125,44±16,06
Temp. Agua (°C)	31,40	31,0	31,00	31,40	29,70	30,7	31,40	28,3	29,60	30,50±1,08
O.D (mg/L)	6,61	6,12	6,12	7,41	6,45	6,84	6,71	4,80	6,34	6,38±0,71
pH	7,48	7,02	7,05	7,58	7,24	7,20	7,48	6,29	7,48	7,20±0,40
NO ₃ ⁻ (mg/L)	0,20	0,18	0,50	0,10	0,15	0,17	0,20	0,11	0,30	0,21±0,12
NH ₄ ⁺ (mg/L)	0,01	0,03	0,04	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02±0,01
PO ₄ ⁻³ (mg/L)	0,73	0,84	1,30	0,97	0,92	0,85	0,73	0,96	1,10	0,93±0,18

Las concentraciones de nitratos (NO₃⁻) fluctuaron en intervalos indicadores de sistemas libres de altas cargas de nutrientes, ya que las concentraciones no superan 1 mg/l [14,15]; por su parte el nitrógeno amoniacal (NH₄⁺) no registró variaciones importantes y las concentraciones fueron menores a 0,01 mg/l. Con respecto a los ortofosfatos (PO₄⁻³) se registraron concentraciones consideradas bajas a intermedias, en consecuencia no se presenta limitación por fósforo para los productores primarios en los sectores de muestreo considerados.

Se destaca que durante el período de estudio en el sistema cenagoso se observaron ambientes de pH moderado, altamente turbios, con reducidas transparencias cuya profundidad Secchi no supera los 1,62 m y concentraciones relativamente bajas de nutrientes representada en las formas de nitrato, amonio y ortofosfatos. [16], basándose en el estudio de diferentes sistemas cenagosos

de Colombia han reportado que la turbidez con respecto a la disponibilidad de nutrientes juega un papel importante en el desarrollo de las densidades fitoplanctónicas, ya que la reducida transparencia limita la disponibilidad de luz.

Es importante resaltar que el sistema de estudio se ha caracterizado por presentar columnas de agua someras o poco profundas mezcladas por el viento. El efecto de mezcla ha sido reportado para este sistema en los trabajos de [9,10, 17 - 19].

Fitoplancton

La asociación fitoplanctónica registrada en la zona de estudio estuvo representada por siete divisiones algales, Chlorophyta, Cyanoprocariota, Euglenophyta, Bacillariophyta, Xantophyta, Dynophyta y Cryptophyta. Las algas verdes (cloroficeas), cianoprocariontas y las diatomeas agrupan el mayor número de taxones registrados,

así mismo las dinofiteas, euglenofitas y principalmente las cianobacterias y diatomeas registraron el biovolumen más importante en el período de estudio contemplado (figura 2).

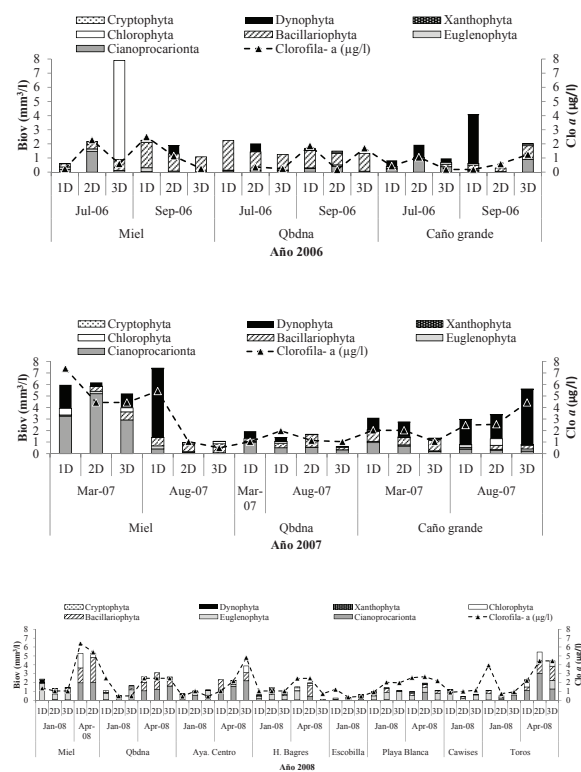


Figura 2 Perfil espacial y temporal del biovolumen y las concentraciones de clorofila *a* durante el período de estudio. Profundidades de muestreo: subsuperficie (1D), profundidad Secchi (2D) y profundidad Secchi x 3 (3D)

El perfil del biovolumen de cada gremio fitoplanctónico en cada estación, profundidad y período de muestreo presentó variaciones. En términos generales se puede observar que las cuantificaciones del biovolumen oscilaron entre 0,11 y 7,42 mm³/l (figura 2), lo cual se encuentra relacionado con un rango relativo de densidades entre 293 y 8.779 cel/ml. En términos generales y según la clasificación de Margalef [20] las densidades cuantificadas (menores a 5000 cel/ml) son bajas y se relacionan con cuerpos de agua con baja concentración de nutrientes.

Adicionalmente, con respecto a la serie espacial y temporal del biovolumen se observó dominancia alternada por parte del gremio de las Cyanoprocariontas, Bacillariophyta, Dinophyta y Euglenophyta, mientras el biovolumen de otros gremios como Xanthophyta, Chlorophyta y Cryptophyta fue menor. Los grupos dominantes han sido registrados previamente en este sistema [18] y su predominancia ecológica se encuentra favorecida por tratarse de ambientes de aguas cálidas y capas mezcladas con tolerancia a deficiencias de nitrógeno y luz [21], como en el caso del sistema estudiado.

Otras características de los gremios dominantes es que se encuentran representados por algas consideradas como oportunistas o de rápido crecimiento, como la cianobacteria filamentosa *Cylindrospermopsis raciborskii*; probablemente también se presenta capacidad heterotrófica facultativa de flagelados pertenecientes a Euglenophyta y Dinophyta, gremios particularmente favorecidos en ambientes con bajas concentraciones de nutrientes mineralizados en donde ocurre alta turbidez [21]. En relación a la presencia de algas Bacillariofitas o diatomeas representadas especialmente por el género *Aulacoseira*, estos organismos poseen alto grado de variabilidad morfológica asociado a capacidad de adaptación en diversas condiciones hidráulicas gracias a lo cual pueden encontrarse tanto en ambientes lóticos como lénticos, pero preferiblemente someros [18].

Aunque entre las estaciones hubo baja diferenciación temporal en la composición de los gremios dominantes, se presentó variación en el volumen total de distribución de grupos en cada estación (figura 2). Con respecto a estas diferencias se observó que el sitio La Miel registra los mayores valores mientras en Hoyo Bagres tienen lugar los menores. Las series temporales y anuales registraron diferencias significativas en estaciones como Caño Grande entre julio y septiembre del 2006 y La Miel entre marzo y agosto del 2007; durante el año 2008 se observó en todas las estaciones excepto Hoyo Bagres y Playa Blanca un incremento considerable en el biovolumen obtenido entre enero y abril, mes en

el cual tuvieron lugar la mayoría de los registros más altos durante el estudio (Figura 2, Tabla 2).

Particularmente entre profundidades de cada estación no se presentaron diferencias significativas en la composición ni el biovolumen registrado.

Esto sugiere que la zona fótica de la columna de agua presenta poca variación en la distribución de los grupos en razón del efecto de mezcla en la zona fótica y profundidad total, tal como fue mencionado en la presentación de las variables ambientales.

Tabla 2 Valores medios, máx y min de biovolumen y colorofila *a* y estadístico Kruskal-Wallis (H) en las diferentes estaciones de monitoreo utilizando como factores de variación los muestreos y las profundidades; (diferencias significativas valor $p < 0,05$). Muestreo (Mto), Profundidad (Prof)

Estación de muestreo	Biovolumen (mm ³ /l)			Clorofila <i>a</i> (µg/l)		
	Media (min-max)	Mto H (Valor p)	Prof H (Valor p)	Media (min-max)	Mto H (Valor p)	Prof H (Valor p)
La Miel (N= 17)	3,03 (0,61-7,42)	8,32 (0,01)	2,89 (0,23)	2,68 (0,23-7,40)	9,28 (0,02)	3,61 (0,16)
Quebradona (N= 15)	1,71 (0,53-3,10)	9,97 (0,07)	1,21 (0,55)	1,36 (0,17-2,48)	8,19 (0,15)	3,37 (0,19)
Caño Grande (N= 12)	2,45 (0,29-5,61)	5,20 (0,02)	0,50 (0,78)	1,69 (0,19-4,44)	8,26 (0,04)	0,38 (0,82)
Centro (N= 6)	1,89 (0,73-3,87)	3,85 (0,05)	0,85 (0,65)	1,66 (0,44-4,81)	3,23 (0,04)	0,98 (0,61)
Hoyo Bagres (N= 6)	1,09 (0,11-1,97)	0,43 (0,51)	2,57 (0,28)	1,47 (0,74-2,48)	0,48 (0,49)	2,26 (0,32)
Escobilla (N= 3)	0,40 (0,25-0,64)		2,00 (0,37)	0,67 (0,35-1,22)		2,00 (0,37)
Playa Blanca (N= 6)	1,24 (0,95-1,93)	0,48 (0,83)	4,57 (0,10)	2,05 (0,94-2,66)	3,86 (0,12)	0,86 (0,65)
Cawises (N= 3)	0,75 (0,39-1,18)		2,00 (0,37)	1,01 (0,89-1,130)		2,00 (0,37)
Toros (N= 6)	2,43 (0,51-5,43)	3,85 (0,05)	0,00 (1,00)	2,79 (0,74-4,44)	2,40 (0,05)	0,07 (0,96)

Clorofila *a*

El perfil de concentraciones de clorofila *a* en cada estación, profundidad y período de muestreo reveló tendencias similares de variación a las presentadas por el biovolumen (figura 2). Estas diferencias son representadas por el rango de concentraciones que osciló entre 0,17 y 7,42 µg/l

y se encuentran principalmente asociadas a los valores entre estaciones y/o entre muestreos de la misma estación tal como fue descrito por la distribución del biovolumen (figura 2 y tabla 2). Con respecto a los valores cuantificados y según la clasificación trófica de clorofila *a* del CEPIS [11] basada en la evaluación de lagos cálidos tropicales,

ninguna de las concentraciones de clorofila se encuentra relacionada con ambientes eutróficos, ya que no superan el valor de $17,4 \mu\text{g/l}$, el rango de valores registrados corresponden a ambientes oligo a mesotróficos en correspondencia a aguas libres de altas densidades de fitoplancton, tal como fue registrado por la cuantificación al microscopio. En relación a estos resultados se asume que uno de los factores que causan la baja densidad o biovolumen del fitoplancton en Ayapel es la reducida transparencia, lo cual ha sido reportado previamente [18].

Al igual que para el biovolumen durante el año 2008 se produjo una mayor concentración de clorofila *a* en el muestreo ejecutado en el mes de abril con respecto al mes de enero (figura 2). Estos resultados implicaron diferencias significativas entre los muestreos de las estaciones La Miel, Caño Grande, Centro y Los Toros (tabla 2).

Adicionalmente, no se presentaron diferencias significativas entre las concentraciones de las profundidades en cada estación, demostrando un perfil de distribución similar (figura 2, tabla 2). Lo que al igual que para el perfil de biovolumen sugiere que la zona fótica de la columna de agua presenta también poca variación en la distribución del pigmento fotosintético. Este resultado confirma que en los sitios considerados, las diferencias entre profundidades no son importantes, reduciendo diferenciaciones en la distribución de los grupos, su biovolumen y las concentraciones de clorofila *a*.

Tanto la cuantificación directa del biovolumen en el microscopio y la estimación de la concentración de clorofila *a* fueron efectivas en el sentido que reflejaron con tendencia similar diferencias, semejanzas y particularidades de la comunidad fitoplanctónica en distintos sitios de muestreo, corroborando la tendencia del monitoreo por ambos métodos, en consecuencia ambas variables representan eficientemente la biomasa de algas.

Una ilustración del espectro de clorofila *a* obtenida durante la medición del pigmento en la estación Escobilla se observa como ejemplo en la figura 3, en la que se distingue la formación

de dos picos acentuados ubicados a 420 y 680 nm aproximadamente, lo cual demuestra que entre los componentes detectados por el análisis espectrofotométrico los principales elementos detectados corresponden a los picos máximos de detección correspondientes a la clorofila *a*. La formación de algunos subpicos atenuados corresponden con la detección de cromóforos o radicales de la molécula de clorofila que son sensibles a la detección de las longitudes de onda medidas.

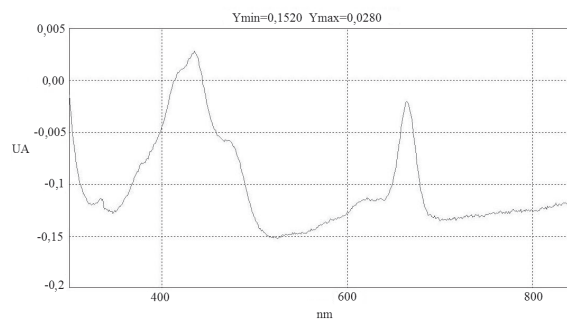


Figura 3 Espectro de clorofila *a* obtenido en la estación Escobilla. Unidades de Absorbancia (UA), longitud de onda en nanómetros (nm)

Relación Biovolumen Clorofila a

Para observar la relación entre las dos variables cuantificadas (Biovolumen y clorofila *a*) se realizó una correlación por rangos de Spearman con el fin de observar la correspondencia de estas variables, las cuales por medio de diferentes metodologías cuantifican la biomasa fitoplanctónica. La correlación arrojó un R-Spearman de 0,72 con un nivel de significancia de 0,001; estos resultados demuestran una alta y directa correlación entre ambas variables y demuestran que la clorofila *a* es una variable efectiva para cuantificar la biomasa o disposición de fitoplancton, evaluación que también puede obtenerse por medio del conteo y la medición directa de las comunidades en el microscopio (Figura 4). De esta manera la correlación permite obtener una corroboración directa de ambos métodos y tener mayor certidumbre de las biomásas algales que se disponen en un momento y espacio específico.

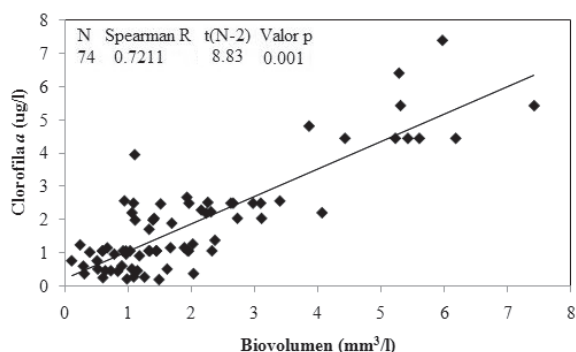


Figura 4 Relación entre las variables de biovolumen y Clorofila *a* y análisis de Correlación por rangos de Spearman

Una efectiva estimación de la clorofila *a* brinda una variable de clasificación trófica eficiente y rápida en los ambientes acuáticos y si bien el conteo y estimación de dimensiones geométricas al microscopio, requiere más experiencia y tiempo de evaluación por parte del observador, esta estimación permite corroborar los resultados ambos métodos. Sin embargo, si el objetivo de un trabajo persigue asunciones de la ecología del fitoplancton, será absolutamente necesario ejecutar la estimación del biovolumen, pero si se requiere de una evaluación trófica una medición correcta de clorofila *a* será pertinente.

Es necesario aclarar que ambos métodos implican dificultades y limitaciones técnicas, mientras la medida correspondiente al conteo y volumen es laboriosa y requiere especialistas en taxonomía y microscopía, la tasa de clorofila por célula depende de factores internos y externos, como la composición del fitoplancton, las condiciones fisiológicas de las células, la temperatura, las concentraciones de nutrientes y la intensidad de la luz [22].

La relación entre la clorofila *a* y el biovolumen del fitoplancton ha sido estudiada en escenarios acuáticos templados, por [22-24] y más recientemente por [25]. Sin embargo, estos autores anotan que el origen de la relación radica en la misma variabilidad ambiental la cual no ha sido suficientemente analizada, más aun considerando la variabilidad en las condiciones ambientales

de los ecosistemas acuáticos tropicales. Las distribuciones de estos dos parámetros en la columna de agua no siempre corresponden ya que se producen cambios en el contenido de clorofila en la célula debido a la fotoaclimatación o cambios de los nutrientes [26].

Es importante resaltar que la clasificación trófica obtenida por medio de la concentración de clorofila *a* debe validarse con el método microscópico al iniciar un monitoreo, ya que dependiendo de las condiciones ambientales el método espectrofotométrico puede estar fuertemente sesgado por el estado fisiológico de la clorofila afectando la exactitud de la cuantificación, apreciación que también ha sido documentado por [5]. Del mismo modo también podría existir interferencia de otras sustancias con absorbancia similar al pigmento; por esta razón es recomendable que en estudios ambientales que realicen la estimación del pigmento y utilicen esta medida para la clasificación trófica, se corrobore inicialmente si la concentración de clorofila *a* refleja en forma cercana las densidades estimadas por medio del conteo y su asociación a las dimensiones geométricas de los organismos, y si este no es el caso, sería importante descartar si existe alta presencia de ácidos húmicos u otros componentes de origen orgánico u inorgánico que interfieran con el método espectrofotométrico de la clorofila.

En relación a los factores que afectan el método espectrofotométrico, ha sido mencionado que en ambientes altamente enriquecidos y productivos la acumulación y descomposición de materia orgánica permite el aumento de algunos pigmentos que pueden interferir con la cuantificación. Los feoforbidos y feofitinas por ejemplo son dos productos comunes de la degradación de la clorofila que al igual que los carotenoides, podrían interferir con su determinación [4]. Es por esta razón que el estudio de los pigmentos degradados y otros componentes orgánicos e inorgánicos merece especial atención en futuras investigaciones con el fin de establecer el papel de tales sustancias en las determinaciones de la clorofila *a*. Sin

embargo, en este estudio además de que los resultados demostraron una buena correlación entre ambas medidas de cuantificación, el método espectrofotométrico puede utilizarse ya que ha sido reportado como óptimo en sistemas acuáticos con baja concentración de nutrientes y con concentraciones de clorofila *a* inferiores a 60µg/l [5], tal como fue el caso del sistema de estudio.

Conclusiones

En este trabajo se ha demostrado que el biovolumen y la clorofila *a* estiman efectivamente la biomasa de algas presente en un ambiente. Cada una de las variables expresó en forma similar patrones de distribución espacial y temporal del fitoplancton, por lo cual la biomasa estimada a partir del conteo y la dimensión geométrica de los organismos en el microscopio fue corroborada por las concentraciones de clorofila *a* obtenidas, de este modo la extracción de la clorofila *a* es un método válido para la clasificación trófica del sistema evaluado.

Agradecimientos

Los autores manifiestan su agradecimiento al Grupo de Investigación en Gestión y Modelación Ambiental (GAIA), COLCIENCIAS, CORPOA-YAPEL, las universidades de Antioquia y Nacional sede Medellín por la financiación y apoyo logístico de las campañas de muestreo, y a Julián Hernández por su asistencia técnica en las determinaciones de la clorofila *a*.

Referencias

1. J. Gregor, B. Marsálek. "Freshwater Phytoplankton Quantification by Chlorophyll *a*: A Comparative Study of *in vitro*, *in vivo* and *in situ* Methods". *Water Res.* Vol. 38. 2004. pp. 517-522.
2. D. P. Sartory, J. U. Grobelaar. "Extraction of Chlorophyll *a* from Freshwater Phytoplankton for Spectrophotometric Analysis". *Hydrobiologia.* Vol. 114. 1984. pp. 177-187.
3. J. Donato. "Fitoplancton de los Lagos Andinos del Norte de Sudamérica (Colombia). Composición y Factores de Distribución". *Rev. Acad. Colomb. de Cienc. Exact. Fis. Nat.* Colección Jorge Álvarez Lleras. Vol. 19. 2001. pp. 20-27.
4. American Public Health Association (APHA). American Waterworks Association (AWWA). Water Pollution Control Federation (WPCF). *Standard Methods for Examination of Water and Sewage and Wastewater.* 20ª. ed. New York (USA). 1998. pp. 31.
5. C. Rivera, A. Zapata, G. Pinilla, J. Donato, J. Chaparro, P. Jiménez. "Comparación de la estimación de la clorofila-*A* mediante los métodos espectrofotométrico y fluorométrico". *Acta Biológica Colombiana.* Vol. 10. 2005. pp. 95-103.
6. J. Ramírez, H. Alcaráz. "Dinámica de la Producción Primaria Fitoplanctónica en un Sistema Eutrófico Tropical: Laguna del Parque Norte, Medellín, Colombia". *Caldasia.* Vol. 24. 2002. pp.411-423.
7. K. Rowan. *Photosynthetic Pigments of Algae.* 1ª ed. Ed. Cambridge University Press USA. New York. 1989. pp. 20-22.
8. H. Salas, P. Martino. *Metodologías Simplificadas para la Evaluación de Eutroficación en Lagos Cálidos Tropicales.* CEPIS/OPS-HPE. 1990. pp. 20 - 31.
9. N. J. Aguirre, J. A. Palacio, M. T. Flórez, A. Wills, O. Caicedo, L. F. Jiménez, N. E. Villegas, C. A. Palacio, M. Toro, J. I. Vélez. *Análisis de la relación río-ciénaga y su efecto sobre la producción pesquera en el sistema cenagoso de Ayapel, Colombia.* COLCIENCIAS, Grupo de Investigación en Gestión y Modelación Ambiental GAIA, UdeA, Colombia. 2005. pp. 5-10.
10. D. Chalarca, N. J. Aguirre, R. Mejía. "Aproximación a la Determinación del Impacto de los Vertimientos de las Aguas Residuales Domésticas del Municipio de Ayapel". *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia.* Vol. 40. 2007. pp. 41-58.
11. J. Ros. *Prácticas de ecología.* Ed. Omega S. A. Barcelona. España. 1979. pp. 235.
12. H. Hillebrand, C. D. Dürselen, D. Kirschtel, U. P. Tamar. "Biovolume Calculation for Pelagic and Benthic Microalgae". *Journal of Phycology.* Vol. 35. 1999. pp. 403-424.
13. ISO 10260. *Water quality- Measurement of Biochemical Parameters - Spectrometric Determination of the Chlorophyll *a* Concentration.* 1992. pp. 4-6.
14. J. Bartram, R. Ballance. *Water Quality Monitoring: A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring*

- Programmes*. 1st ed. Ed. UNEP. WHO. Londres, Inglaterra. 1996. pp. 288-290.
15. D. Chapman. *Water Quality Assessments: A Guide to the Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring*. 2nd ed. Ed. UNESCO, WHO, UNEP. Londres, Inglaterra. 1996. pp. 89.
 16. A. Ramírez, G. Viña. *Limnología Colombiana: Aportes a su Conocimiento y Estadísticas de Análisis*. Ed. Panamericana. Bogotá, Colombia. 1998. pp. 145-148.
 17. J. F. Zapata. *Dinámica Hidrológica en la Ciénaga de Ayapel, Modelación del Balance Hídrico y Simulación Hidrodinámica*. Tesis de maestría. Maestría en Recursos Hidráulicos. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 2005. pp.78-80.
 18. E. Hernández, N. J. Aguirre, J. A. Palacio, J. J. Ramírez. "Variación Espacio-Temporal de la Asociación Fitoplanctónica en Diferentes Momentos del Pulso Hidrológico en la Ciénaga de Ayapel, Córdoba, Colombia". *Actual Biol.* Vol. 30. 2008. pp. 67-81.
 19. Y. Montoya, N. J. Aguirre. "Cambios Nictimerales de Variables Físicas y Químicas en la Ciénaga de Paticos, Complejo Cenagoso de Ayapel, Colombia". *Revista De Biología Tropical*. Vol. 57. 2009. pp. 635-646.
 20. R. Margalef. *Limnología*. Ed. Omega S.A. Barcelona, España. 1983. pp. 631.
 21. C. S. Reynolds, V. Huszar, C. Kruk, L. N. Flores, S. Melo. "Towards a Functional Classification of the Freshwater Phytoplankton". *Journal of Plankton Research*. Vol. 24. 2002. pp. 417-428.
 22. R. K. Kalchev, M. B. Beshkova, C. S. Boumbarova, R. L. Tsvetkova, D. Sais. "Some Allometric and Non-Allometric Relationships Between Chlorophyll *a* and Abundance Variables of Phytoplankton". *Hydrobiologia*. Vol. 341. 1996. pp. 235-245.
 23. A. Tolstoy. "Chlorophyll *a* in Relation to Phytoplankton Volume in Some Swedish Lakes". *Arch. Hydrobiol.* Vol. 85. 1979. pp. 133-151.
 24. L. Vörös, J. Padisak. "Phytoplankton Biomass and Chlorophyll *a* in Some Shallow Lakes in Central Europe". *Hydrobiologia*. Vol. 215. 1991. pp. 111-119.
 25. M. Felip, J. Catalan. "The Relationship Between Phytoplankton Biovolume and Chlorophyll in a Deep Oligotrophic Lake: Decoupling In Their Spatial and Temporal Máxima". *Journal of Plankton Research*. Vol. 22. 2000. pp. 91-105.
 26. W. K. W. Li. "Phytoplankton Biomass and Chlorophyll Concentration Across the North Atlantic". *Scientia Marina*. Vol. 58. 1994. pp. 67-79.