

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
VICERRECTORIA DE INVESTIGACION Y POSTGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGIA



PROGRAMA DE MAESTRÍA EN MICROBIOLOGIA AMBIENTAL

FACTORES AMBIENTALES QUE INFLUYEN EN LA PRESENCIA DE
MICROCISTINAS EN AGUAS DE LA CUENCA DEL CANAL DE PANAMA

MARISELA DEL CARMEN CASTILLO GÓMEZ

TESIS PRESENTADA COMO UNO DE LOS REQUISITOS PARA OPTAR AL
GRADO DE MAESTRA EN MICROBIOLOGIA AMBIENTAL

PANAMA, REPUBLICA DE PANAMA
2015

UNIVERSIDAD DE PANAMA
VICERRECTORIA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGIA

PROGRAMA DE MAESTRIA EN MICROBIOLOGIA AMBIENTAL

FACTORES AMBIENTALES QUE INFLUYEN EN LA PRESENCIA DE
MICROCISTINAS EN AGUAS DE LA CUENCA DEL CANAL DE PANAMA

MARISELA DEL CARMEN CASTILLO GÓMEZ

PANAMA, REPUBLICA DE PANAMA
2015

23 MAR 2016 87



Título de la Tesis **"Factores Ambientales que influyen en la presencia de Microcistinas en Aguas de la Cuenca del Canal de Panamá"**

TESIS

Sometida para optar al título de Maestría en Microbiología Ambiental

Vicerrectoría de Investigación y Postgrado
Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología

APROBADO POR

Margarita X6 Cornejo M

**Magister Margarita Cornejo
Presidente**

Yolanda Aguila S

**Doctora Yolanda Aguila
Miembro**

Alex Omar Martínez

**Profesor Alex Omar Martínez
Miembro**

REFRENDADO POR:

Hilva Jacin de Javida

**REPRESENTANTE DE LA VICERRECTORÍA
DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO**

FECHA:

Diciembre 14 de 2015

AGRADECIMIENTO

Deseo que estas líneas sirvan para expresar mi mas profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo, en especial a la Dra Marilyn Diéguez Pinto, supervisora de la Unidad de Calidad de Agua, Division de Agua, Departamento de Ambiente, Agua y Energia del Canal de Panamá, por confiar en mi y haberme permitido realizar este trabajo, contando siempre, con su apoyo incondicional en todos los aspectos académico, profesional y personal

Agradezco con mucho cariño a mi asesora de tesis Profesora Margarita Cornejo, por todo su apoyo, confianza, amistad y seguimiento durante la tesis Además, a la profesora Carmen Vergara, por ese compartir de conocimientos sobre las “algas verde-azules” Al profesor Gonzalo Carrasco, por su incondicional apoyo en la parte estadística, al Dr Alex Martinez Torres y al Profesor y compañero Jose Correa, quienes me brindaron respuestas a inquietudes en aspectos de biología molecular

Deseo agradecer a los investigadores Dr Wayne Carmichael profesor emeritus del Departamento de ciencias biologicas de la Universidad de Wright State, al Dr Luis C Mejia del Smithsonian Tropical Research y a al Dr Jason Woodhouse del Centre for Cyanobacteria and Astrobiology de la University of New South Wales, por atender mis dudas e inquietudes y hacerme recomendaciones vía electronica sobre diversos temas que surgieron durante el desarrollo de mi trabajo Infinitamente gracias

DEDICATORIA

Para todos aquellos que, simplemente, estan motivados en conocer sobre las cianobacterias y su toxicidad

A mis abuelos (que en paz descansan), a mi madre Aura E Gómez Castillo, a mi hijo Abel Adrián, a mis profesores, familiares, amigos, compañeros de trabajo, y a todos aquellos que han aportado a mi crecimiento personal y profesional, con todo mi cariño, es para ustedes

Quisiera hacer extensiva mi gratitud a mis compañeros de trabajo (EAA-CA), estudiantes de practica profesional de diferentes carreras biotecnología, biología, microbiología, ingeniería ambiental, química, ingeniería de alimentos, biomédica, estudiantes graduandos de secundaria, etc , quienes me apoyaron en cada una de las fases de este trabajo muestreo, análisis físico-químicos, entre otras tareas

Un agradecimiento muy especial a todos mis familiares y amigos que confiaron en mí y que tuvieron siempre una voz de aliento y fortaleza para mí ante las dificultades encontradas, a todos ustedes Muchas gracias

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
1 OBJETIVOS	5
1 1 OBJETIVO GENERAL	5
1 2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
2 HIPÓTESIS DE TRABAJO	6
3 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	
3 1 GENERALIDADES DE LAS CIANOBACTERIAS	7
3 2 EUTROFIZACIÓN CULTURAL Y CIANOBACTERIAS	8
3 3 PRIMEROS REGISTROS DE CIANOBACTERIAS	8
3 4 CONTEXTO MUNDIAL, REGISTROS DE CIANOBACTERIAS	9
3 4 1 <i>Brasil</i>	9
3 4 2 <i>Estados Unidos y Canadá</i>	11
3 4 3 <i>México</i>	15
3 4 4 <i>Guatemala</i>	16
3 4 5 <i>Uruguay</i>	17
3 4 6 <i>Argentina</i>	17
3 4 7 <i>China</i>	18
3 4 8 <i>España</i>	19
3 4 9 <i>Otros países</i>	20
3 5 REGISTROS DE CIANOBACTERIAS EN PANAMÁ	21
3 5 1 <i>Ostenfeld y Nygaard, 1925</i>	21
3 5 2 <i>Prescott, 1936</i>	21
3 5 3 <i>Drouet, 1937</i>	21
3 5 4 <i>Prescott, 1951</i>	22
3 5 5 <i>Diciembre, 1992</i>	23
3 5 6 <i>Registros fotográficos, Gamboa 1998-2000</i>	24
3 5 7 <i>Estudios de Abundancia y caracterización cualitativa de las microalgas observadas en seis estaciones del embalse Gatun, como parte del proyecto Profundización del cauce de navegación del canal, 2002-2004</i>	26
3 5 8 <i>Registros de algas y cianobacterias realizados por el Canal de Panamá, Unidad de Calidad de Agua</i>	30
3 6 FACTORES AMBIENTALES QUE INFLUYEN EN LA PRESENCIA DE CIANOBACTERIAS	37
3 6 1 <i>Oxígeno disuelto</i>	38
3 6 2 <i>Transparencia</i>	38
3 6 3 <i>Radiación solar</i>	39
3 6 4 <i>Turbiedad</i>	40
3 6 5 <i>pH</i>	41
3 6 6 <i>Nutrientes</i>	42
3 6 7 <i>Clorofila a</i>	44
3 6 8 <i>Temperatura</i>	45
3 7 MICROCISTINAS	46
3 8 VALORES GUÍA DE TOXINAS DE CIANOBACTERIAS (MICROCISTINAS EN AGUA POTABLE Y NATURAL), SEGUN LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) Y OTROS PAÍSES	49
3 9 NORMAS DE CALIDAD AMBIENTAL PARA AGUAS NATURALES Y CALIDAD DEL AGUA POTABLE DE LA REPUBLICA DE PANAMÁ	51

4	MATERIALES Y MÉTODOS	56
4 1	ÁREA DE ESTUDIO	56
4 1 1	<i>Embalse Gatun</i>	56
4 2	SITIOS DE MUESTREO	58
4 2 1	<i>Toma de agua de Paraiso</i>	58
4 2 2	<i>Toma de agua de Gamboa</i>	59
4 3	TÉCNICAS DE MUESTREO Y PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS	60
4 3 1	<i>Muestreo</i>	60
4 3 2	<i>Procedimiento de análisis físico-químicos</i>	61
4 3 3	<i>Análisis de microcistinas</i>	63
4 3 4	<i>Análisis estadístico</i>	65
5	RESULTADOS	68
5 1	DESCRIPCIÓN GENERAL DE LAS VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS EN LOS SITIOS DE ESTUDIO	68
5 2	DESCRIPCIÓN GENERAL DE LAS VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS POR SITIO DE ESTUDIO	69
5 3	DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE MICROCISTINAS EN LOS SITIOS DE ESTUDIO	70
5 4	APLICACIÓN DE MODELOS DE REGRESIÓN LINEAL MULTIPLE	72
5 4 1	<i>Modelo general</i>	72
5 4 2	<i>Modelo para Gamboa</i>	75
5 4 3	<i>Modelo para Paraiso</i>	79
5 4 4	<i>Modelo para la estación seca</i>	82
5 4 5	<i>Modelo para la estación lluviosa</i>	86
5 5	REGISTROS DE MICROCISTINAS DETECTADAS EN GAMBOA DURANTE 2009	89
5 5 1	<i>Alta concentración de clorofila a, 24 de agosto de 2009</i>	90
5 6	PRINCIPALES GÉNEROS Y ESPECIES DE CIANOBACTERIAS EN LA TOMA DE AGUA CRUDA DE GAMBOA DURANTE EL 2009	92
5 7	PRINCIPALES GÉNEROS Y ESPECIES DE CIANOBACTERIAS EN LA TOMA DE AGUA CRUDA DE PARÁISO DURANTE EL 2009	93
5 8	REVISIÓN DE REGISTROS TAXONÓMICOS DE ALGAS Y CIANOBACTERIAS PARA AGOSTO, SEPTIEMBRE Y DICIEMBRE DE 2009	94
5 8 1	<i>Agosto de 2009</i>	94
5 8 2	<i>Septiembre de 2009</i>	95
5 8 3	<i>Diciembre de 2009</i>	96
6	DISCUSIÓN	98
6 1	ANÁLISIS GENERAL DE LAS VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS EN LOS SITIOS DE ESTUDIO	98
6 2	FACTORES AMBIENTALES QUE INFLUYEN EN LA PRESENCIA DE MICROCISTINAS EN LOS SITIOS DE MUESTREO DEL EMBALSE GATUN 2009	102
6 3	ANÁLISIS DE LOS MODELOS DE REGRESIÓN LINEAL MULTIPLE, EMBALSE DE GATUN, 2009	103
6 3 1	<i>Modelo General</i>	103
6 3 2	<i>Modelo para Gamboa</i>	104
6 3 3	<i>Modelo para Paraiso</i>	104
6 3 4	<i>Modelo para la estación seca</i>	105
6 3 5	<i>Modelo para la estación lluviosa</i>	107
6 4	RESUMEN Y COMPARACIÓN ENTRE LOS MODELOS DE REGRESIÓN LINEAL MULTIPLE	108
6 5	EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DE LOS MODELOS DE REGRESIÓN LINEAL MULTIPLE	109
6 6	COMENTARIOS GENERALES DE LOS RESULTADOS ENCONTRADOS	110
6 7	ANÁLISIS DE LOS REGISTROS DE MICROCISTINAS DETECTADAS EN GAMBOA DURANTE 2009	113
6 8	ANÁLISIS DE LOS REGISTROS TAXONÓMICOS DE ALGAS Y CIANOBACTERIAS DURANTE EL 2009	114
6 8 1	<i>Análisis de los principales géneros y especies de cianobacterias en la toma de agua de Gamboa durante el 2009</i>	114

6 8 2	<i>Análisis de los principales géneros y especies de cianobacterias en la toma de agua de Paraiso</i>	115
6 9	ANÁLISIS DE LOS REGISTROS TAXONÓMICOS DE ALGAS Y CIANOBACTERIAS PARA AGOSTO, SEPTIEMBRE Y DICIEMBRE DE 2009	115
6 9 1	<i>Agosto de 2009</i>	115
6 9 2	<i>Septiembre de 2009</i>	116
6 9 3	<i>Diciembre de 2009</i>	116
	CONCLUSIONES	118
	RECOMENDACIONES	122
	BIBLIOGRAFÍA	124
	ANEXOS	133
I	SUPUESTOS DEL MODELO DE REGRESIÓN MÚLTIPLE PARA EL MODELO GENERAL	133
II	SUPUESTOS DEL MODELO DE REGRESIÓN MÚLTIPLE PARA EL MODELO DE GAMBOA	136
III	SUPUESTOS DEL MODELO DE REGRESIÓN MULTIPLE PARA EL MODELO DE PARAÍSO	139
IV	SUPUESTOS DEL MODELO DE REGRESIÓN MÚLTIPLE PARA EL MODELO DE LA ESTACIÓN SECA	142
V	SUPUESTOS DEL MODELO DE REGRESIÓN MULTIPLE PARA EL MODELO DE LA ESTACIÓN LLUVIOSA	145
VI	FOTOGRAFÍAS	148

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Ejemplo de intoxicaciones en humanos debido a la cianotoxinas microcistinas, tomados de Chorus y Bartram, 1999 Se destacan los casos registrados en Brasil	10
Cuadro 2 Intoxicaciones agudas en humanos por cianobacterias en Estados Unidos y Canadá	11
Cuadro 3 Estudio cronológico de artículos publicados sobre brotes de cianobacterias en los Estados Unidos 1883-2003 (US Environmental Protection Agency, 2007)	12
Cuadro 4 Porcentaje de toxicidad por afloramientos de cianobacterias en diferentes países	20
Cuadro 5 Cianobacterias reportadas para el embalse Gatun y Miraflores por diversos autores Fuente Informe de Colecta y Análisis de muestras biológicas de los lagos Gatun y Miraflores N°1 Fitoplancton, 2004	30
Cuadro 6 Principales géneros y especies de cianobacterias presentes en la toma de agua Cuadro 6 Principales géneros y especies de cianobacterias en la toma de agua de Gamboa y Paraíso	31
Cuadro 7 Cianobacterias presentes en la toma de agua de Paraíso, junio 2006	32
Cuadro 8 Países que han utilizado como referencia el valor básico de la OMS para microcistinas en el agua potable Fuente Curso de entrenamiento afloramiento de algas tóxicas Manejo, métodos de calidad de agua y salud ambiental y humana, noviembre 2011 Autoridad del Canal de Panamá-Universidad de Panamá, Panamá	50
Cuadro 9 Detalles relevantes de la Cuenca Hidrográfica	56
Cuadro 10 Métodos analíticos empleados segun parámetros de calidad de agua	62
Cuadro 11 Variable independiente y dependiente utilizada para los modelos de regresión lineal multiple	66
Cuadro 12 Estadísticos descriptivos para el modelo general	72
Cuadro 13 Matriz de correlación de las variables independientes con la microcistina en el modelo general	73
Cuadro 14 Modelo de regresión lineal multiple para el modelo general incluyendo todas las variables	73
Cuadro 15 Modelo de regresión lineal multiple para el modelo general incluyendo sólo a las variables significativas	74
Cuadro 16 Estadísticos de la regresión para el modelo general	75
Cuadro 17 Análisis de varianza para el modelo general	75
Cuadro 18 Estadísticos descriptivos para el modelo de Gamboa	76
Cuadro 19 Matriz de correlación de las variables independientes con la microcistina en el modelo para Gamboa	76
Cuadro 20 Modelo de regresión lineal multiple para el modelo de Gamboa incluyendo todas las variables	77
Cuadro 21 Modelo de regresión lineal multiple para el modelo de Gamboa incluyendo sólo a las variables significativas	77
Cuadro 22 Estadísticos de la regresión para el modelo de Gamboa	78
Cuadro 23 Análisis de varianza para el modelo de Gamboa	78
Cuadro 24 Estadísticos descriptivos para el modelo de Paraíso	79
Cuadro 25 Matriz de correlaciones entre las variables independientes y la microcistina en el modelo para Paraíso	80
Cuadro 26 Modelo de regresión lineal multiple para el modelo de Paraíso incluyendo todas las variables	80
Cuadro 27 Modelo de regresión lineal multiple para el modelo en Paraíso incluyendo sólo a las variables significativas	81
Cuadro 28 Análisis de varianza para el modelo en Paraíso	82
Cuadro 29 Estadísticos descriptivos del modelo para la estación seca	83
Cuadro 30 Matriz de correlaciones éntrelas variables independientes y la microcistina en el modelo de la estación seca	83
Cuadro 31 Modelo de regresión lineal multiple para el modelo de la estación seca incluyendo todas las variables	84
Cuadro 32 Modelo de regresión lineal multiple para el modelo de la estación seca incluyendo todas las variables	84
Cuadro 33 Estadísticos de la regresión para el modelo en la estación seca	85

Cuadro 34. Análisis de varianza para el modelo en la estación seca.....	86
Cuadro 35. Estadísticos descriptivos para el modelo de la estación lluviosa.....	86
Cuadro 36. Matriz de correlaciones entre las variables independientes y la microcistina en el modelo para la estación lluviosa.....	87
Cuadro 37. Modelo de regresión lineal múltiple para el modelo de la estación lluviosa incluyendo todas las variables.....	87
Cuadro 38. Modelo de regresión lineal múltiple para el modelo en la estación lluviosa incluyendo sólo a las variables significativas.....	88
Cuadro 39. Estadísticos de la regresión para el modelo en la estación lluviosa.....	89
Cuadro 40. Análisis de varianza para el modelo en la estación lluviosa.....	89
Cuadro 41. Concentraciones altas de microcistinas y clorofila a en la estación de Gamboa, 2009.....	89
Cuadro 42. Listado de formas, géneros y especies de cianobacterias presentes en muestras de agua de la toma de Gamboa durante el 2009.....	93
Cuadro 43. Listado de formas, géneros y especies de cianobacterias presentes en muestras de agua de la toma de Paraíso durante el 2009.....	94
Cuadro 44. Grupo de algas y cianobacterias presentes en la muestra del 25 de agosto de 2009.....	95
Cuadro 45. Grupo de algas y cianobacterias presentes en la muestra del 09 de septiembre de 2009.....	96
Cuadro 46. Grupo de algas y cianobacterias presentes en la muestra del 15 de diciembre 2009.....	97
Cuadro 47. Cuadro de resumen que contrasta entre los análisis de microcistinas realizados en este estudio y resultados de la ACP de muestras enviadas a un laboratorio en el extranjero.....	113

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Sistema de tratamiento y distribución de agua en Cuaruru, Brasil (izquierda) Reporte de pacientes fallecidos por intoxicación de toxinas producidas por cianobacterias (derecha) Fuente Curso de entrenamiento Ensayos toxicológicos con cianobacterias aplicados a la calidad ambiental, Universidad Federal de Sao Carlos, Brasil 2009	10
Figura 2 Imagen satelital de un afloramiento de cianobacterias en el lago de Atitlán Fuente Noticiero prensa libre de Guatemala, 20 de noviembre de 2009	16
Figura 3 Publicación sobre la presencia de cianobacterias tóxicas en el lago Atitlán Fuente Noticiero prensa libre de Guatemala, 20 de noviembre de 2009	16
Figura 4 Pueblos de Haimen y Qidong de la Republica de China asociada con alta incidencia de cáncer hepático en humanos (Yu, Tang, & Wu, 1989)	18
Figura 5 Algas en el lago pueden ser peligrosas Revista del canal de Panamá, volumen XXX, N°25	24
Figura 6 Manchas verdes en el cauce de navegación del embalse Gatun, posible afloramiento de cianobacterias <i>Microcystis</i> sp Fuente Unidad de Control y Respuesta a Contaminación del Canal de Panamá	25
Figura 7 Manchas verdes en el cauce de navegación del embalse Gatun (área de Gamboa), posible afloramiento de cianobacterias <i>Microcystis</i> sp Fuente Unidad de Control y Respuesta a Contaminación del Canal de Panamá	25
Figura 8 Afloramiento de cianobacterias en el área de Gamboa (muelle), embalse Gatun, posible afloramiento del género <i>Microcystis</i> sp 23 de agosto de 2006 Foto tomada por Iván Domínguez, ACP	32
Figura 9 Periódicos locales (La Prensa y El Siglo), informan quejas sobre sabor y olor en el agua debido a la presencia de algas	33
Figura 10 Manchas de color verde en la toma de agua de Paraíso, presencia de algas en la superficie	34
Figura 11 Embalse Gatun, área de Gamboa 23 de octubre de 2007 (izquierda), Toma de agua de Paraíso, afloramiento 25 de octubre de 2007 (derecha)	34
Figura 12 Observación bajo el microscopio de una muestra colectada en la Toma de agua de Paraíso (5 de enero de 2007)	35
Figura 13 Colonia de <i>Microcystis aeruginosa</i> (izquierda), asociación entre <i>M. aeruginosa</i> y <i>Phormidium muscicola</i> (derecha), foto de E. Aguilar (UP)	36
Figura 14 Toma de agua de Paraíso, coloración verde en el agua (10 de octubre de 2008)	36
Figura 15 Observación al microscopio de una muestra colectada en la toma de agua de Paraíso (10 de octubre de 2008)	37
Figura 16 Toma de agua de Paraíso, nótese la formación de espuma en la superficie del agua (izquierda) Area de Pedro Miguel, frente al edificio 105, 21 de octubre de 2008 (derecha)	37
Figura 17 <i>M. aeruginosa</i> PCC7806 Operón <i>mcy</i> (55 Kb) compuesto por 10 genes dispuestos en dos operones que se transcriben bidireccionalmente (<i>mcyABC</i> y <i>mcyDEFGHIJ</i>) (Carrasco, 2007)	47
Figura 18 Ejemplo de modularidad de las NPRS y las PKS C = dominio de condensación, A = Adenilación, Negro = Tiolación, KS = β -Cetoacil sintasa, AT = Acil tranferasa, CM = C-metiltransferasa, DH = Dehidratasa, KR = Cetoacil reductasa, ACP = Proteína transportadora del grupo acilo Extraído de Tillet et al, 2000 Fuente http://linux1.nu.res.in/~pkfdb/polyketide.html	49
Figura 19 Tabla de estándares de referencia para la clase 1C del Anteproyecto de normas de calidad ambiental para aguas naturales de la Republica de Panamá	53
Figura 20 Tabla de estándares de referencia para la clase 2C del Anteproyecto de normas de calidad ambiental para aguas naturales de la Republica de Panamá	54
Figura 21 Anexo 2 de la Resolución la resolución No 507 del Ministerio de Salud (30 de diciembre de 2003), la cual indica las características biológicas que se deben analizar y sus correspondientes valores máximos permisibles	55
Figura 22 Mapa de la Cuenca Hidrográfica del Canal de Panamá	58
Figura 23 Toma de agua de Paraíso (PRAW)	59
Figura 24 Toma de agua en Gamboa (GRAW)	60
Figura 25 Equipo de medición para la radiación solar, Kipp y Zonen modelo CMP-10, Canadá	62
Figura 26 Principio inmunológico y químico del método ELISA para la determinación de microcistinas en muestras de agua	63

Figura 27 Hoja de calibración y cálculo para las microcistinas	64
Figura 28 Diagrama de caja del pH, transparencia, nitratos, ortofosfatos, fósforo total, nitrógeno total, toxina (microcistina) y oxígenos disueltos Febrero-mayo y julio-diciembre, 2009	68
Figura 29 Diagrama de caja de la turbiedad, clorofila a, radiación solar y temperatura Febrero-mayo y julio-diciembre, 2009	69
Figura 30 Diagrama de caja de los parámetros de calidad de agua en los sitios de muestreo Gamboa y Paraíso	70
Figura 31 Distribución porcentual de las microcistinas en las tomas de agua cruda de Gamboa y Paraíso Febrero-mayo y julio-diciembre, 2009	71
Figura 32 Concentración de microcistinas en los sitios de muestreo Gamboa (GRAW) y Paraíso (PRAW)	71
Figura 33 Afloramiento de cianobacteria, 24 de agosto de 2009	91
Figura 34 Observación bajo el microscopio de la muestra del 24 de agosto de 2009, afloramiento de <i>Microcystis</i> sp	91
Figura 35 División de la columna de agua en zona trofógena y trofóbica (Segundo Esteves, 1988)	101
Figura 36 Gráfico P-P plot e histograma para la verificación de la normalidad de los residuos en el modelo general	133
Figura 37 Diagrama de dispersión para evaluar la homocedasticidad de los residuos en el modelo general	134
Figura 38 Gráfico de regresión parcial de la microcistina con las variables pH y clorofila a en el modelo general	135
Figura 39 Gráfico P-P plot e histograma para la verificación de la normalidad de los residuos en el modelo de Gamboa	136
Figura 40 Diagrama de dispersión para evaluar la homocedasticidad de los residuos en el modelo de Gamboa	137
Figura 41 Gráfico de regresión parcial de la microcistina con las variables pH y clorofila a en el modelo de Gamboa	138
Figura 42 Gráfico P-P plot e histograma para la verificación de la normalidad de los residuos en el modelo de Paraíso	139
Figura 43 Diagrama de dispersión para evaluar la homocedasticidad de los residuos en el modelo de Paraíso	140
Figura 44 Gráfico de regresión parcial de la microcistina con las variables temperatura, transparencia, pH, turbiedad y fósforo total en el modelo de Paraíso	141
Figura 45 Gráfico P-P plot e histograma para la verificación de la normalidad de los residuos en el modelo para la estación seca	142
Figura 46 Diagrama de dispersión para evaluar la homocedasticidad de los residuos en el modelo para la estación seca	143
Figura 47 Gráfico de regresión parcial de la microcistina con las variables temperatura, pH y transparencia en el modelo para la estación seca	144
Figura 48 Gráfico P-P plot e histograma para la verificación de la normalidad de los residuos en el modelo para la estación lluviosa	145
Figura 49 Diagrama de dispersión para evaluar la homocedasticidad de los residuos en el modelo para la estación lluviosa	146
Figura 50 Gráfico de regresión parcial de la microcistina con las variables temperatura, nitratos y clorofila a en el modelo para la estación lluviosa	147
Figura 51 24 de agosto de 2009, Gamboa	148
Figura 52 Colonias de cianobacterias en muestra de agua	148
Figura 53 Análisis de microcistinas en muestras de agua	149
Figura 54 Manchas de color verde en la superficie del agua, Paraíso	149
Figura 55 Toma de agua de Gamboa, poca profundidad	150
Figura 56 Análisis de microcistinas en muestras de agua, suspensión de cianobacterias	150
Figura 57 Análisis de clorofila a en muestras de agua	151
Figura 58 Colonia de cianobacterias, género <i>Microcystis</i> sp	151

ABREVIATURAS UTILIZADAS

CHCP	Cuenca Hidrográfica del Canal de Panama
CHL_A	Clorofila <i>a</i>
ACP	Autoridad del Canal de Panamá
IDAAN	Instituto de Acueductos y Alcantarillados Nacionales
m	Metro
Max	Máximo
MC	Microcistina
mg	Miligramo
mg/l	Miligramo por litro
µg/l	Microgramo por litro
Min	Mínimo
N-NO3	Nitrógeno como Nitrato
NTU	Nephelometric Turbidity Units por sus siglas en ingles, que significan unidades nefelométricas de turbiedad
OD	Oxígeno Disuelto
pH	Potencial de Hidrogeno
P-PO4	Fosforo como ortofosfato
PVSCA	Programa de Vigilancia y Seguimiento de la Calidad del Agua
SM	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, por sus siglas en ingles que significan Método Estándar para el análisis de Agua y Agua residual
T	Temperatura
Turb	Turbiedad
Cyano HABs	Cyanobacterial Harmful Algal Blooms
NASA	Administración Nacional de Aeronautica y del Espacio
MINSA	Ministerio de Salud
ASEP	Autoridad de Servicios Públicos
MC-LR	Microcistina cuyo aminoácido variables son leucina y Arginina
MC-RR	Microcistina cuyo aminoácido variables son Arginina y Arginina
MC-YR	Microcistina cuyo aminoácido variables son Tirosina y Arginina
DW	Peso seco

ADN	Acido desoxirribonucleico
OMS	Organización Mundial de la Salud
TMR	Toma de agua cruda de Paraiso
DC1	Gamboa (a un costado del Puente de Gamboa)
GRAW	Toma de agua cruda de Gamboa
PRAW	Toma de agua de Paraiso
YSI 556 MPS	Sistema multi-sonda
ELISA	Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas
ELISA ET039	Quantube Kit para detección de microcistinas
ELISA EP022	QuantPlate Kit para detección de microcistinas
N:P	Relación nitrógeno/fósforo
<i>mcvB</i>	Gen involucrado en la síntesis de la microcistina
CO₂	Dioxido de carbono
O₂	Oxígeno disuelto
NH₄-N	Nitrógeno amoniacal
NRPS	Enzimas sintetisas peptídicas no-ribosómicas
PKS	Enzimas poliquetido sintasas
Adda	3-amino-9-methoxy-2,6,8-trimethyl-10-phenyldeca-4,6-dienoic acid
NOAEL	Nivel sin efecto adverso observable
TDI	Ingesta diaria tolerable
1C, 2C	Clasificación de los cuerpos de agua según el anteproyecto de normas de calidad ambiental para aguas naturales en la República de Panamá, capítulo III
SRFAA	Estación de Balboa, encima de la caseta próxima al mercado de abastos donde se encuentra ubicado el medidor de radiación solar
APHA	American Public Health Association
AWWA	American Water Works Association
WEF	Water Environment Federation
HCL	Acido clorhídrico
BCS Laboratories	Biological Consulting Services
EAA-CA	Unidad de calidad de agua

RESUMEN

Muchos son los factores que influyen en la presencia-abundancia de cianobacterias, y la producción de toxinas en un cuerpo de agua. Estas especies planctónicas, son importantes en virtud de los problemas que pueden causar en los ecosistemas acuáticos, desde el punto de vista ecológico y sanitario. El embalse Gatun, además de servir como ruta de tránsito para el paso de barcos, provee agua cruda para el abastecimiento público en algunas áreas de la capital de Panamá. Reportes previos indican la presencia de cianobacterias en este cuerpo de agua, en especial del género *Microcystis sp*. Con el objetivo de analizar que factor(es) ambiental(es) tiene(n) mayor incidencia en la presencia de microcistinas en las tomas de agua cruda del embalse Gatun, Gamboa y Paraiso, se analizaron los siguientes parámetros: temperatura (T °C), pH, transparencia (m), turbiedad (NTU), nitratos (mg/l), ortofosfato (mg/l), fósforo total (mg/l), nitrógeno total (mg/l), radiación solar (Langley), y la concentración de clorofila (µg/l). Durante los meses de febrero a mayo y julio a diciembre de 2009, se colectaron muestras en cada toma de agua cruda realizando dos muestreos por mes. Para ello, se utilizó una sonda YSI 556 MPS (Yellow Springs, Estados Unidos) para mediciones de temperatura y pH en campo, un disco de Secchi para medir la transparencia y se realizaron observaciones en campo. Las muestras fueron colectadas, preservadas y analizadas conforme a los criterios de colecta, almacenamiento y análisis establecidos en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. La detección de microcistinas se realizó utilizando el *Quantitube kit* ET039 de Envirologix (Portland, Estados Unidos). A través de un modelo de regresión lineal múltiple se espera conocer qué factor(es) ambiental(es) está(n) influyendo en la presencia de estas toxinas en las tomas de agua cruda del embalse de Gatun.

SUMMARY

Many factors influence the presence/abundance of algae blooms and toxin production in a water body. These planktonic species are important due to the fact that they can cause problems in aquatic ecosystems, from an environmental and health perspective. Gatun lake, in addition to serving as a transit route for the passage of ships, the lake serves as a raw water source for public consumption in some areas of Panama City. Previous reports indicate the presence of cyanobacteria in this reservoir, chiefly, the genus *Microcystis sp*. In order to analyze which factor(s) have greater environmental impact on the presence of microcystins in the raw water intakes of Gamboa and Paraiso, the following parameters were analyzed: temperature, pH, transparency, turbidity, nitrates (NO₃), orthophosphates (PO₄), total phosphorus (TP), total nitrogen (TN), solar radiation (SR), and chlorophyll concentration (Chl a). During the months of February to May and July to December 2009, two water samples were collected per month at each raw water intake. Other field environmental observations were done using an YSI 556 MPS (Yellow Springs, USA) probe for measuring temperature and pH in the field, a Secchi disk to measure the transparency. The samples were collected, preserved and analyzed according to the criteria of collection, storage and analysis given in the *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. The detection of Microcystins was conducted using a *Quantitube kit* ET039 from Envirologix (Portland, USA). By means of multiple regression models, it's expected to understand which factor/s are triggering the environmental presence of this toxin in the raw water intakes of Gatun lake.

INTRODUCCION

El planeta Tierra cuenta con una cantidad casi ilimitada de agua, pero solo una fracción muy pequeña del agua en la tierra es dulce y renovable. El ambiente, el ciclo del agua y las actividades humanas determinan la calidad del agua. A diario nuestras vidas dependen del acceso al agua dulce, sin embargo, el deterioro progresivo de la calidad de las aguas continentales para uso recreativo, abastecimiento a poblaciones, riego y/o actividades pesqueras o acuícolas, conlleva riesgos a la salud pública, a los ecosistemas naturales y por ende, generan impactos negativos a la economía de un país.

Naturalmente, los ecosistemas acuáticos experimentan el proceso de eutrofización (enriquecimiento de las aguas por aporte de nutrientes). Sin embargo, las actividades antropogénicas influyen fuertemente llevando a un aumento en el vertido de efluentes ricos en nutrientes, estos a su vez, determinan importantes cambios en la calidad de los cuerpos de agua, acelerando la eutrofización (ANAM, 2006). Esto se evidencia por los cambios cuantitativos y cualitativos en la comunidad del fitoplancton y en particular de cianobacterias, las cuales desplazan a otros grupos de algas, así como, un incremento en el desarrollo de macrofitas acuáticas, flotantes, emergentes y sumergidas. Este fenómeno está ligado a la degradación de los recursos hídricos. Las cianobacterias, producen un amplio rango de metabolitos secundarios bioactivos, algunos de los cuales son tóxicos. Las toxinas de cianobacterias (cianotoxinas), son compuestos químicamente diversos que se agrupan según su modo de acción en hepatotoxinas, neurotoxinas y dermatotoxinas. Dichos tóxicos incluyen a las microcistinas, cilindrospermopsina, saxitoxinas, nodularinas y anatoxinas (Giannuzzi, 2009).

La cianobacteria del género *Microcystis* es la más asociada con afloramientos en todo el mundo. Generalmente, cinco (5), especies de *Microcystis* (*M. aeruginosa*, *M. ichthyoblabe*, *M. novacekii*, *M. viridis* y *M. wesenbergii*), han sido reconocidas como especies dominantes. Estas han sido definidas en base a las características morfológicas como “morfoespecies” (Tanabe *et al.*, 2003). La clasificación taxonómica de *Microcystis* *sp.* es difícil, sin embargo, varios morfotipos característicos fueron usualmente clasificados como especies tradicionales que ocurren en diferentes regiones. En el presente solo pueden caracterizarse convencionalmente como morfotipos a morfoespecies que pertenecen a un genotipo con ecología similar. Tales especies tradicionales con fenotipo y caracteres ecofisiológicos distintos, no pueden ser omitidos, su identificación es útil y necesaria para investigaciones ecológicas y estudios ecotoxicológicos (Komarek y Komarkova, 2002).

La identificación de géneros de cianobacterias mediante morfología y/o análisis moleculares no indican el potencial para la producción de toxinas. Diferentes cepas de una misma especie pueden ser morfológicamente idénticas, pero pueden diferir en toxicidad. Por ejemplo, *M. aeruginosa* tiene ambas cepas, tóxicas y no tóxicas (Baker *et al.*, 2002). Las diferencias entre cianobacterias tóxicas y no tóxicas en respuesta a condiciones externas no son comprendidas actualmente (Vézic *et al.*, 2002).

Los embalses destinados al suministro de agua potable se encuentran entre los ambientes de mayor riesgo para la salud humana.

En Panamá, son escasas las investigaciones básicas y estudios de toxicidad relacionadas a afloramientos de cianobacterias. La falta de laboratorios y equipos especializados causa

dificultades para el desarrollo de investigaciones de toxicidad y por lo tanto, de las posibles consecuencias para el ambiente y la salud pública. El conocimiento de los efectos perjudiciales que las cianobacterias pueden tener para el ambiente y la salud, justifica la necesidad de abordar la existencia de estos organismos con mayor atención en el contexto de la gestión de la calidad de agua. A partir del presente estudio, se espera conocer qué factor(es) ambiental(es) está(n) influyendo en la presencia de microcistinas en las tomas de agua cruda del embalse Gatún.

Objetivos

1.1 Objetivo general

Evaluar los factores ambientales asociados con la presencia de microcistinas en dos sitios (tomas de agua de Gamboa y Paraiso), del embalse Gatun en la Cuenca Hidrográfica del Canal de Panamá, durante el 2009

1.2 Objetivos específicos

- Realizar una revisión bibliográfica de la presencia de algas y cianobacterias en Panamá, principalmente en los sitios de interés
- Determinar la presencia de microcistinas en muestras de agua
- Determinar si las concentraciones de microcistinas están correlacionadas con la temperatura, pH, transparencia, turbiedad, nitratos, ortofosfatos, fósforo total, nitrógeno total, clorofila, radiación solar y oxígeno disuelto
- Comparar la influencia de parámetros físico-químicos y biológicos con respecto a las microcistinas en Gamboa y Paraiso
- Comparar la influencia de parámetros físico-químicos y biológicos con respecto a las microcistinas para ver si influye la estacionalidad
- Formular ecuaciones que podrían predecir la concentración de microcistinas en función de las variables que influyan en la detección de sus concentraciones
- Describir la calidad de agua en los sitios de muestreo

Hipótesis de trabajo

Se desconoce a ciencia cierta qué factores influyen en la presencia de afloramientos de cianobacterias en los ecosistemas acuáticos, y estos a su vez, en la producción de toxinas. Revisiones bibliográficas sugieren que los factores que intervienen en la presencia de cianobacterias en los embalses, podrían ser el aporte de nutrientes y las condiciones físico químicas del embalse, tales como el pH y la temperatura, el viento, entre otros, las cuales, podrían jugar un papel importante en el desarrollo o la manifestación de afloramientos de cianobacterias y estos a su vez, la producción de toxinas como las microcistinas.

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

3.1 Generalidades de las cianobacterias

Las cianobacterias, cianofitas, cianoprocariontas o algas verde-azules, son organismos procariontas muy primitivos, autotrofos y que realizan fotosíntesis con liberación de oxígeno. Habitan en casi todos los ambientes acuáticos: charcas, lagos, embalses, reservorios, aguas tranquilas y corrientes, agua dulce, salobre o marina, así como en ambientes terrestres. Las cianobacterias, pueden ser planctónicas o bentónicas. Las planctónicas, bajo condiciones favorables se desarrollan en forma abundante, originando “afloramientos acuáticos” (en inglés conocidos como “*Bloom*”). Esto ocurre, por ejemplo, en aguas dulces con géneros tales como *Microcystis*, *Anabaena*, entre otros. Los niveles de organización biológica son unicelulares, coloniales y filamentosos. Algunas cianobacterias tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, lo que favorece el desarrollo masivo en ambientes con baja relación nitrógeno/fósforo (N/P).

Pueden ser evidentes a simple vista por la coloración generalmente verde y la turbiedad que le confieren al agua o por la presencia de acumulaciones o franjas densas superficiales. Además, regulan su posición en la columna de agua, mediante la presencia de vesículas de gas que se agrupan en las células. Todas las cianobacterias secretan mucilago en mayor o menor grado. Esta secreción constituye el estuche mucilaginoso que rodea a los individuos solitarios y a las formas coloniales y filamentosas. Difieren en la cantidad de mucilago secretado en su consistencia firme y difluente, homogénea o estratificada, coloreada o hialina. Estas características dependen en muchos casos de las condiciones ambientales tales como la luz, el pH y los nutrientes (Giannuzzi, 2009).

Un aspecto negativo relacionado con los afloramientos de cianobacterias, es la alteración de las características organolépticas del agua (sabor y olor) Esto se debe a la liberación de metabolitos por parte de ciertas especies. Compuestos tales como la geosmina y/o el 2-metilisoborneol, no tóxicos (Falconer *et al*, 1999, Falconer, 1998), pero que suelen generar trastornos respiratorios y/o digestivos a personas sensibles. Otra situación nociva, está relacionada con su potencial capacidad de generar sustancias tóxicas (metabolitos secundarios) hepatotóxicas, neurotóxicas y/o dermatotóxicas, las cuales son liberadas al ambiente produciendo serios efectos negativos al ecosistema y consecuentemente, al hombre.

3.2 Eutrofización cultural y cianobacterias

Naturalmente, en los ecosistemas acuáticos ocurre el proceso de eutrofización (enriquecimiento de las aguas por aporte de nutrientes). Sin embargo, las actividades antropogénicas determinan importantes cambios en la calidad de los cuerpos de agua, lo que acelera este proceso. El reconocimiento de los fenómenos de eutrofización se inició aproximadamente en la década de 1950, no fue hasta alrededor de cuatro décadas atrás que estos comenzaron a asociarse con la proliferación masiva de cianobacterias planctónicas, en muchos casos productoras de sustancias nocivas de diversa naturaleza química (Chorus y Bartram, 1999). Los afloramientos de cianobacterias ocurren muy frecuentemente en sistemas eutróficos.

3.3 Primeros registros de cianobacterias

La aparición en el tiempo de las primeras cianobacterias tóxicas es difícil de precisar, pero existen registros paleontológicos que han llevado a plantear directamente una

relacion entre ciertas mortandades de vertebrados y proliferaciones de cianobacterias tóxicas en el Pleistoceno (Braun y Pfeiffer, 2002)

Segun Francis (1878 En Echenique y Aguilera 2009) la primera referencia mundial relacionada con aspectos de toxicidad de cianobacterias en ambientes acuáticos continentales se remonta al año 1878, cuando en el lago Alexandrina (Australia), se produjo una mortandad de animales, entre ellos vacas, caballos, perros, ovejas y cerdos, luego que estos bebieran agua del mencionado cuerpo de agua donde se desarrollaba un afloramiento de *Nodularia spumigena* (*N spumigena*) Las intoxicaciones en poblaciones humanas por ingesta de agua contaminada con toxinas producidas por especies tóxicas de cianobacterias ya han sido descritas, entre otros, en países como Austria, Inglaterra, Brasil, China, y Sudáfrica (Carmichael y Falconer, 1993)

3 4 Contexto mundial, registros de cianobacterias

3 4 1 Brasil

El primer registro de muertes humanas causadas por cianotoxinas ocurrió en 1996, en una clínica de la ciudad de Cuaruqu (Brasil) En esa ocasión, 130 pacientes renales crónicos, luego de ser sometidos a sesiones de hemodialisis, presentaron un cuadro clínico compatible con una grave hepato-toxicosis Del total (130), aproximadamente 60 pacientes fallecieron antes de los 10 meses posteriores al inicio de los síntomas Los análisis confirmaron la presencia de microcistinas y cilindrospermopsina en el carbón activado utilizado en el sistema de purificación del agua de la clínica y microcistinas en muestras de sangre e hígado de los pacientes intoxicados (Carmichael, 1996) Así mismo, las observaciones microscópicas en muestras de agua del embalse que proveía de agua a

