

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

**Hot-spots metabólicos y su diversidad de algas bénticas en ríos
intermitentes del Chocó Andino**

Milena Domenique Campaña Delgado

Biología

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Bióloga

Quito, 27 de mayo de 2022

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Hot-spots metabólicos y su diversidad de algas bénticas en ríos
intermitentes del Chocó Andino**

Milena Domenique Campaña Delgado

Nombre del profesor, Título académico

Andrea Carolina Encalada, Ph.D.

Nombre del profesor, Título académico

Daniela Rosero López, Ph.D.

Quito, 27 de mayo de 2022

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Milena Domenique Campaña Delgado

Código: 00200226

Cédula de identidad: 1726236563

Lugar y fecha: Quito, 27 de mayo de 2022

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

Los ríos intermitentes son cuerpos de agua con flujos temporales (estacionales o episódicos) que pueden generarse por distintas condiciones naturales o antropogénicas. Las algas son uno de los principales productores primarios en los ríos intermitentes y en conjunto con otros microorganismos forman biopelículas. Las cuales son importantes interfases biológicas en los ríos y se consideran como “hot-spots metabólicos”. El objetivo de esta investigación es comprender cómo cambia la diversidad de algas bénticas de los “hot spots metabólicos” en ríos naturalmente intermitentes del Chocó andino ecuatoriano. Para lo cual se tomaron muestras de arroyos de cabecera en la cuenca del río Cube (ubicado al noroeste de Ecuador, provincia de Esmeraldas) durante las estaciones seca y húmeda del 2021. Se recolectó la suspensión de biopelículas de rocas de las piscinas y rápidos de los arroyos en ambas estaciones, y se conservaron filtros y muestras de agua para análisis de identificación morfológica. Además, se recolectaron múltiples variables ambientales asociadas a cada estación. Los resultados de este estudio demuestran una mayor actividad autótrofa durante la estación seca. Representada por un incremento en la biomasa autótrofa (clorofila-a), riqueza y diversidad de algas bénticas, asociada con la heterogeneidad, presencia de agua y de nutrientes durante el cese del caudal. Los patrones son contrarios a lo que se describe en la literatura existente sobre los ríos intermitentes (que en general consideran ecosistemas en zonas templadas). Por lo que estos representan los primeros indicios de las dinámicas de las algas bénticas en corrientes neotropicales intermitentes. Donde comprender la diversidad estacional de las algas bénticas permitirá diseñar estrategias para mantener el estado ecológico de los arroyos intermitentes y efímeros. Así como comprender sus interacciones con otros grupos taxonómicos (ej. hongos, bacterias, herbívoros).

Palabras clave: algas bénticas, biopelícula, “hot-spots metabólicos”, ríos intermitentes, Chocó Andino, estacionalidad climática, biomasa, autótrofo, heterótrofo.

ABSTRACT

Intermittent rivers are bodies of water with temporary (seasonal or episodic) flows that can be generated by different natural or anthropogenic conditions. Algae are one of the main primary producers in intermittent rivers and together with other microorganisms form biofilms. These are important biological interfaces in rivers and are considered as "metabolic hot-spots". The objective of this research is to understand how the diversity of benthic algae changes in the "metabolic hot-spots" in naturally intermittent rivers of the Ecuadorian Andean Chocó. For this purpose, samples were taken from headwater streams in the Cube river basin (located in northwestern Ecuador, Esmeraldas province) during the dry and wet seasons of 2021. Biofilm suspension was collected from rock pools and stream rapids in both seasons, and filters and water samples were preserved for morphological identification analysis. In addition, multiple environmental variables associated with each station were collected. The results of this study demonstrate increased autotrophic activity during the dry season. This is represented by an increase in autotrophic biomass (chlorophyll-a), richness and diversity of benthic algae, associated with the heterogeneity, presence of water and nutrients during the cessation of flow. The patterns are contrary to what is described in the existing literature on intermittent rivers (which generally consider ecosystems in temperate zones). Thus, these represent the first indications of benthic algal dynamics in intermittent neotropical streams. Understanding the seasonal diversity of benthic algae will allow us to design strategies to maintain the ecological status of intermittent and ephemeral streams. As well as understanding their interactions with other taxonomic groups (e.g., fungi, bacteria, herbivores).

Key words: benthic algae, biofilm, metabolic hot-spots, intermittent rivers, Andean Chocó, climatic seasonality, biomass, autotrophic, heterotrophic

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	10
INTRODUCCIÓN.....	11
Justificación	11
Dinámica de los ríos intermitentes	14
Biopelículas y metabolismo	15
Adaptaciones de las biopelículas a la intermitencia	16
Intermitencia en ríos neotropicales.....	19
Estacionalidad en la biorregión del Chocó Andino	20
Objetivos e hipótesis.....	21
METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL	23
Área de estudio	23
Fase de campo y protocolos de muestreo	24
Procesamiento de laboratorio: medición de clorofila y biomasa.....	26
Análisis de identificación morfológica.....	27
Análisis estadístico	28
RESULTADOS	29
Variables ambientales.....	29
Identificación morfológica	31
DISCUSIÓN.....	35
CONCLUSIONES.....	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
Anexo A: PRUEBA t DE STUDENT PAREADA PARA TODAS LAS VARIABLES CONSIDERADAS EN EL ESTUDIO	48
Anexo B: COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON DE TODAS LAS VARIABLES CONSIDERADAS EN EL ESTUDIO	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ríos intermitentes tropicales en condiciones de inundación (a) y sequía (b).	14
Figura 2. Biopelículas en diferentes sustratos de ríos intermitentes tropicales	16
Figura 3. Cuenca del río Esmeraldas en donde se ubica la cuenca del río Cube y los ríos intermitentes de cabecera que fueron muestreados (puntos rojos) en la época húmeda (abril) y seca (octubre) del 2021.	24
Figura 4.- Análisis de componentes principales (PCA) que considera 10 variables [profundidad, temperatura, velocidad, ancho mojado, anchura de cauce, oxígeno disuelto, saturación de oxígeno, conductividad, clorofila, ash free dry mass (AFDM)] respecto a cada sitio en la época seca y la época húmeda.....	29
Figura 5. Gráficos de caja que muestran (a) los valores de clorofila ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) y (b) los valores de “ash free dry mass” (mg) registrados durante la estación húmeda y seca.	30
Figura 6. Gráficos de caja que muestran (a) los valores de biovolumen (μm^3) y (b) los valores de riqueza (# taxa) registrados durante la estación húmeda y seca.	31
Figura 7. Índices de diversidad.....	33
Figura 8. Taxones identificados durante cada estación de acuerdo a su abundancia de células	¡Error! Marcador no definido.
Figura 9. Imágenes los géneros de algas más comunes en la época húmeda (a - d) y seca (a - c, f -j) tomadas en un microscopio invertido.	34

INTRODUCCIÓN

Justificación

Los ríos son uno de los sistemas más dinámicos del planeta (Timoner et al., 2020) en donde se almacenan, transforman y transportan la mayor cantidad de nutrientes y sedimentos desde las cabeceras hacia las llanuras, planicies adyacentes, acuíferos y a la atmósfera (Benstead & Leigh, 2012). A nivel de biomas, los ríos y los sistemas acuáticos asociados se encuentran entre los más biodiversos y amenazados. Las principales fuentes de presión están asociadas al desarrollo humano y se pueden resumir en: a) represamiento de cauces y la alteración del régimen hidrológico, b) contaminación por vertidos, c) presencia de especies exóticas y d) disminución de los flujos naturales por efecto del cambio climático (Lukács et al., 2021; Reid et al., 2019). En todas las latitudes, los ríos se pueden clasificar como perennes o intermitentes, siendo los ríos intermitentes y arroyos efímeros (IRES) aquellos cuerpos de agua que se caracterizan por tener un flujo temporal natural que puede ser estacional y/o episódico (Datry et al., 2014). Entre los ríos intermitentes y arroyos efímeros existe una diferencia determinada por el tiempo que dura su flujo en el año, siendo los arroyos efímeros aquellos que solo fluyen durante un pequeño período, habitualmente después de las lluvias (Magand et al., 2020). Al contrario de lo que se cree, los ríos intermitentes están ampliamente extendidos en la red fluvial mundial y se estima que su proporción a nivel global puede ser mayor al 50% (Datry et al., 2014). Los ríos intermitentes se caracterizan por su alta variabilidad en el tiempo y en el espacio como producto de distintas condiciones naturales, así como: la climatología local y regional, la biogeografía y la hidrogeología (Datry et al., 2014). La variabilidad que caracteriza a los ríos intermitentes permite una activa interacción entre el medio acuático y el terrestre, asociándose con una intensa actividad biogeoquímica (Benstead & Leigh, 2012). A pesar de ello, el conocimiento

sobre la dinámica de los organismos responsables de las respuestas biogeoquímicas en ríos intermitentes es todavía muy limitado.

Por varios años el estudio de los ríos intermitentes se ha concentrado en zonas mediterráneas y regiones áridas; a pesar de ello, la mayoría de los ríos intermitentes y arroyos efímeros se encuentran entre los 84 °N y 84 °S de latitud (Larned et al., 2010). De forma complementaria, el monitoreo y modelación hidrológica a nivel global ha permitido reconocer la temporalidad de varios ríos y clasificar como intermitentes a un mayor número de sistemas antes considerados perennes. Por un lado, esto ha permitido estimar que la longitud y el número de ríos intermitentes podría aumentar en regiones donde se experimenten tendencias de sequía por efectos del cambio climático. Por otro lado, existen evidencias de que en los últimos 50 años la extracción de agua y el represamiento de ríos han provocado que ríos que antes eran perennes se conviertan en intermitentes (ejem., Nilo, Amu y Syr Darya, Amarillo, Indo, Río Grande y Colorado) (Datry et al., 2014). Las actividades antropogénicas responsables del cambio de regímenes hidrológicos perennes a regímenes intermitentes pueden generar modificaciones irreversibles en las comunidades de organismos acuáticos, en los procesos ecológicos y en los servicios ecosistémicos asociados. Por lo que es probable que las especies con menos capacidad de adaptación a estas nuevas condiciones resulten ser las más vulnerables y no sean capaces de enfrentar el régimen hidrológico de los nuevos ríos intermitentes (Datry et al., 2014). Las inminentes presiones que experimentan los ríos intermitentes a causa del cambio climático han impulsado el surgimiento de distintas iniciativas para investigar el funcionamiento de estos sistemas y establecer medidas adaptativas de gestión y monitoreo. Entre las iniciativas que ocurren en diferentes latitudes se encuentran: SMIRES (Science & Management of Intermittent Rivers and Ephemeral streams), ALICES (Improving the management of Atlantic Landscapes: accounting for biodiversity and ecosystem services), MANTEL (Management of Climatic Extreme Events in

Lakes & Reservoirs for the Protection of Ecosystem Services) y AIMS (Aquatic Intermittency Effects on Microbiomes in Streams) (Datry et al., 2021). Actualmente, el proyecto DRYvER (Securing biodiversity, functional integrity and ecosystem services in DRYing riVER networks) es la única iniciativa que se lleva a cabo en países como Ecuador, Bolivia y Brasil que forman parte de la Comunidad de Estados Latinoamericanos y Caribeños (CELAC). El proyecto DRYvER forma parte del programa de investigación e innovación de la Unión Europea en el marco de los proyectos Horizonte 2020. Su objetivo principal es recopilar, analizar y modelar datos de nueve estudios de casos en Europa y tres en Latinoamérica para crear un enfoque novedoso de meta-sistema global que incorpore la hidrología, socioeconomía, ecología y biogeoquímica de ríos intermitentes. Además, busca elaborar estrategias, herramientas y recomendaciones para la gestión adaptativa de las redes fluviales (Datry et al., 2021).

Dinámica de los ríos intermitentes

Los ciclos de expansión y contracción de las redes fluviales intermitentes son impulsados por el flujo superficial y el nivel de agua subterránea, que a su vez generan tramos secos, flujos alternados y desecación de pozas (Stanley et al., 1997). La dinámica de un sistema intermitente puede ocurrir a diferentes escalas de la red hidrográfica y con menor o mayor intensidad en el tiempo dando como resultado mosaicos de hábitats que cambian continuamente. La magnitud, duración, frecuencia, tasa de cambio y sincronización de los eventos del régimen hidrológico son responsables de la conectividad, disposición espacial, rotación y diversidad de hábitats durante la inundación y desecación en ríos intermitentes (Larned et al., 2010; Poff et al., 1997). La alternancia entre períodos marcados de inundaciones y sequía mantienen una elevada heterogeneidad de hábitats que viene acompañada de procesos biogeoquímicos particulares y biodiversidad altamente especializada para las condiciones que presentan los ríos intermitentes.

Figura 1. Ríos intermitentes tropicales en condiciones de inundación (a) y sequía (b).

Durante las inundaciones, los ríos intermitentes se caracterizan por tener niveles



elevados de agua que cubren gran parte del cauce y su zona de inundación lateral, así mismo se observan altas velocidades del agua que transportan partículas con un importante efecto abrasivo sobre hábitats bénticos y la vegetación de ribera (Figura 1a). En contraste, durante la sequía los ríos intermitentes pueden ser vistos como sistemas pobres en especies y

biológicamente inactivos (Figura 1b); no obstante, esta visión ha ido cambiando a medida que se conoce más sobre la dinámica en el gradiente húmedo-seco y se ha observado que en las piscinas desconectadas, las comunidades lénticas y semiacuáticas remplazan gradualmente a las comunidades lólicas (Datry et al., 2014; Stanley et al., 1997). Durante la sequía, los ríos intermitentes son colonizados por plantas lénticas y terrestres, invertebrados y vertebrados. Por ello, es probable que las comunidades acuáticas en ríos intermitentes representen una proporción significativa de la biodiversidad regional cuando se toman en cuenta de forma simultánea las tasas de rotación entre hábitats (Datry et al., 2014). La dinámica de los ríos intermitentes también influye en el transporte y reciclaje de la materia orgánica, ya que la eficiencia de asimilación y la velocidad del procesamiento, así como el consumo microbiano dependen principalmente de la hidrología del río (Ylla et al., 2010). Por lo tanto, es fundamental conocer a las comunidades responsables de la transformación de materia y energía y que hace posible la biodiversidad acuática local y regional.

Biopelículas y metabolismo

Algunos ríos intermitentes se caracterizan por tener redes tróficas basadas en el detrito y por tener una importante comunidad autótrofa presente al principio de su fase húmeda. Las algas, macrófitos y plantas ribereñas son los principales productores primarios en los ríos intermitentes y arroyos efímeros, ya que constituyen la base energética de niveles tróficos superiores. Su función basal es fijar la energía solar a través de sus pigmentos (Clorofila Clorofila y carotenos) y con ello convertir la materia orgánica e inorgánica que procede de aportes laterales y longitudinales (Sabater et al., 2017). Además de las algas, las bacterias y los hongos también juegan un rol importante en la transformación de la materia orgánica e inorgánica en los ríos y pueden agruparse en importantes conglomerados biológicos conocidos como “biopelículas”. Las biopelículas dominan la vida microbiana presente en ríos

y arroyos, impulsan procesos ecosistémicos cruciales y contribuyen sustancialmente a los flujos biogeoquímicos globales (Battin et al., 2016). En los ríos intermitentes las biopelículas pueden resistir la sequía y actuar como refugio para la recolonización entre zonas hiporréicas, pozas, permanentes, parches de briofitas y hojarasca (Figura 2) (Robson & Matthews, 2004). Las biopelículas pueden ser consideradas conglomerados biológicos con una alta diversidad de algas, bacterias, hongos, arqueas, protozoarios e incluso metazoarios (micro y meiofauna) que coexisten en una interfase acuosa conformada por una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) (Battin, 2000). El nivel de energía que transforman y transfieren los microorganismos en las biopelículas permite considerarlas como “hot-spots metabólicos”. El metabolismo de las biopelículas está íntimamente relacionado a la partición de recursos o a las interacciones positivas entre especies espacialmente cercanas, esta complementariedad les permite un consumo eficiente de materia y energía (Battin et al., 2016). Las biopelículas son sitios clave para la degradación de macromoléculas complejas por parte de enzimas extracelulares, metabolización de fósforo, absorción de nitrógeno y control del flujo de carbono, lo que puede representar hasta el 80% de la actividad microbiana en ríos y arroyos (Battin et al., 2016).



Figura 2. Biopelículas en diferentes sustratos de ríos intermitentes tropicales

Adaptaciones de las biopelículas a la intermitencia

La estructura física de las biopelículas y la plasticidad de los organismos que los habitan favorece su adaptación a la dinámica de los ríos intermitentes. De forma específica, la alta

capacidad de dispersión de muchas especies lólicas origina un alto flujo de genes entre poblaciones, algo que beneficia a especies evolutivamente estáticas (Datry et al., 2014). Además, los ciclos naturales de inundación y desecación pueden impactar en la evolución molecular y morfológica de las especies al cambiar las tasas de mutación y al exponer variaciones crípticas mediante interacciones ambiente-genotipo (Williams, 2006). Estos cambios evolutivos han contribuido a la variedad de adaptaciones fisiológicas, morfológicas y comportamentales características de las especies que habitan las biopelículas. Los procariontes (bacterias y arqueas) se caracterizan por tener formas de vida ancestrales con distintas características fisiológicas y vías metabólicas. Estos organismos cumplen importantes roles en las interfases óxicas-anóxicas características de los ríos intermitentes y arroyos efímeros ya que cumplen transformaciones biogeoquímicas clave al involucrarse en el metabolismo del carbono, nitrógeno y el azufre (Datry et al., 2017). Uno de los roles más reconocidos de las comunidades de bacterias bénticas heterótrofas en los ríos es la asimilación de materiales disueltos en el agua suprayacente (Hauer & Lamberti, 2017). En las biopelículas es común encontrar bacterias heterótrofas de los filos Actinobacteria, Bacteroidetes y Firmicutes, de estas tanto las Actinobacteria como los Firmicutes podrían ser particularmente dominantes en ríos intermitentes. La presencia de adaptaciones genéticas (ejem., múltiples operones ARN ribosomales) se consideran claves para competir exitosamente contra la desecación extrema (Datry et al., 2017). Otras adaptaciones evolutivas para enfrentar la desecación es la producción de esporas y paredes celulares grampositivas, particularmente en bacterias del grupo Firmicutes (Datry et al., 2017). Como se ha mencionado antes, además de las bacterias, los hongos también forman parte de las biopelículas y son importantes descomponedores de materia orgánica y colonizadores tempranos de hojarasca (Datry et al., 2017). Entre las innumerables adaptaciones que aportan los hongos al conglomerado de las biopelículas está la capacidad de secretar enzimas para degradar compuestos complejos (Williams, 2006). Los principales taxones

conocidos por su colonización temprana pertenecen al filo Ascomycota y son comunes en refugios húmedos (ej. zona hiporréica) desde donde puede dispersar sus esporas a través de los intersticios del sustrato. Otra de las principales adaptaciones a la desecación periódica es la que tienen los hongos mitospóricos aeroacuáticos, que pueden sobrevivir en una película de agua superficial que permita la diseminación de sus zoosporas (Datry et al., 2017). Como uno de los integrantes fundamentales de las biopelículas están las algas bénticas, en especial aquellas desarrolladas a partir de restos secos y afieltrados de especies filamentosas. Las algas que forman alfombras pueden ser cruciales para la supervivencia de otros organismos que podrían refugiarse debajo de estas estructuras y soportar extensos periodos de sequía (Williams, 2006). Las adaptaciones de las algas ante periodos prolongados de desecación incluyen: a) permanecer en estado latente, b) favorecer el crecimiento de paredes celulares engrosadas (ejem., Rhodophyta y Phaeophyta), c) fortalecer los tallos de mucílago que albergan células en un filamento protector (ejem., *Cymbella* o *Gomphonema*), d) acumular aceites, y otras formas de crecimiento, estructuras celulares y adaptaciones genéticas (Sabater et al., 2017; Williams, 2006). Otras adaptaciones tanto para la sequía como para la inundación son la migración hacia sustratos profundos (ejem., diatomeas) y la adhesión facultativa a diferentes sustratos (ejem., *Hildenbrandia rivularis* y *Gongrosira sp.*) (Sabater et al., 2017). En los ríos intermitentes ciertas adaptaciones traen consigo compensaciones como una baja tasa de crecimiento, para hacer frente a las condiciones extremas (ejem., *H. rivularis*).

La capacidad fotosintética que tienen las algas y cianobacterias está negativamente relacionada con la cantidad de humedad y positivamente relacionada con su capacidad de recuperar su condición acuosa (Timoner et al., 2012). Se conoce que la concentración de clorofila como una aproximación de la biomasa autótrofa disminuye progresivamente en las biopelículas durante la época seca (Timoner et al., 2012). Esta adaptación les permite a las algas bénticas en las biopelículas mantenerse en un estado de latencia y prolongar sus

condiciones hasta el inicio la época lluviosa. De igual manera, para resistir a prolongadas épocas de sequía y compensar la pérdida de humedad, las cianobacterias producen pigmentos como la escitonemina y solutos citoplasmáticos para protegerse de daños en su fotosistema (Williams et al., 2014). Además, tras la rehidratación, las cianobacterias están altamente adaptadas para comenzar la fotosíntesis en cuestión de minutos al iniciar la hidratación.

Intermitencia en ríos neotropicales

En el neotrópico existen importantes patrones de intermitencia que afectan a los ríos y arroyos de manera natural en un determinado periodo en el año. La intermitencia en el neotrópico presenta una complejidad añadida por la existencia de fenómenos meteorológicos globales con efectos locales y regionales (ejem., ENSO), que alteran las respuestas del régimen hidrológico de los ríos. A pesar de que la característica de sequía permite definir a los sistemas intermitentes, en el neotrópico existen condiciones de humedad predominante en donde puede ocurrir episodios de desconexión del flujo de los ríos. Este es el caso de los ríos de la costa del Pacífico, los sistemas de versea en la Amazonía, y las planicies áridas de la costa Atlántica.

La intermitencia en los ríos tropicales al igual que en el resto del mundo está definida por eventos marcados de sequía e inundación, sin embargo, en zonas como la biorregión del Choco, las condiciones climatológicas del neotrópico pueden tener una influencia local en los patrones de lluvia, en la humedad relativa y la temperatura del aire (Molinero et al., 2019). Además, la biogeografía tiene un rol preponderante en la distribución de las masas de aire que responden a una estacionalidad influyente del Norte y el Sur afectando la duración de los periodos de transición (Montoya et al., 2006).

Estacionalidad en la biorregión del Chocó Andino

La biorregión del Chocó Andino abarca un área aproximada de 100,000 km², un rango de elevación entre 0 - 3,000 m, y se extiende sobre dos importantes ecorregiones: las tierras bajas de bosque húmedo en la ecorregión Chocó-Darién (desde el este de Panamá hasta el noroeste de Ecuador), y los Bosques Montañosos del Norte de los Andes (en el centro de Colombia y Ecuador) (Jahn, 2011). Esta región biogeográfica neotropical se caracteriza por tener uno de los climas más húmedos y no estacionales del mundo. Su alta precipitación anual de hasta 10 metros (caracterizada por su variabilidad espacial y temporal) sustenta una de las biotas forestales más biodiversas del mundo, con niveles excepcionales de endemismo de varios taxones incluidas plantas, reptiles, anfibios, mariposas y aves (Herzog et al., 2017; Jahn, 2011). Además, la región se considera como uno de los 25 “puntos críticos” de biodiversidad en el mundo. Sin embargo, la región se encuentra cada vez más amenazada por actividades humanas. En la región del Chocó, las fuertes lluvias tienden a provocar escorrentía en ríos que fluyen hacia el Caribe o el Pacífico tropical. Los años ocasionales con temperaturas oceánicas relativamente cálidas, están influenciados por los cambios climáticos y atmosféricos durante la Oscilación del Sur (ENSO) que provoca precipitaciones en ambientes secos del noroeste de América del Sur aproximadamente cada tres a siete años (Herzog et al., 2017).

Hasta el momento, la literatura acerca de los ríos intermitentes y arroyos efímeros se encuentra limitada a sistemas principalmente europeos y tropicales, por lo que existen importantes vacíos de información sobre las dinámicas de estos sistemas en regiones Neotropicales Altoandinas. Este es el caso de la biorregión del Chocó Andino, en donde entender la dinámica de sistemas vulnerables no solo contribuye al conocimiento, sino

también a su aplicación para proporcionar herramientas y estrategias de conservación, gestión y monitoreo.

En este contexto, conocer el tipo de respuesta que tienen las biopelículas en ríos intermitentes de la biorregión del Choco es un elemento importante para comprender la estacionalidad climática en el Neotrópico. Al ser las biopelículas de los ríos intermitentes las interfases biológicas más activas, su rol como refugios contra la sequía y como islas de recolonización las hace los “hot-spots metabólicos” que dominan la vida microbiana en ríos y arroyos. Por ello, su relevancia para transformar y transferir energía y nutrientes a niveles tróficos superiores está íntimamente relacionada con la dinámica hidrológica de los ríos intermitentes

Objetivos e hipótesis

El objetivo general de este proyecto de titulación es describir las comunidades bénticas de algas que conforman las biopelículas epilíticas de ríos naturalmente intermitentes observados en la época seca y húmeda y que se encuentran en la región del Chocó Andino ecuatoriano. Para alcanzar el objetivo general se plantean tres objetivos específicos: 1)) evaluar la diversidad de algas y la biomasa de las biopelículas bénticas (clorofila y materia orgánica) en la época seca y húmeda, 2) comparar la diversidad de las algas y la biomasa en las épocas seca y lluviosa considerando las variables ambientales, y 3) identificar las comunidades de algas en las biopelículas bénticas mediante técnicas de identificación morfológica.

Considerando a la época húmeda y época seca como la representación de la intermitencia en el sistema y basados en las respuestas de las biopelículas de ríos intermitentes de zonas templadas (Depetris et al., 2022; Sabater et al., 2016; Timoner et al., 2012), se hipotetizó un mayor estrés hídrico (disminución del flujo y del caudal) durante la

estación seca que ocasionaría biopelículas con: 1) mayor diversidad de grupos taxonómicos durante la época húmeda, 2) mayor biomasa (materia orgánica) durante la época húmeda, y 3) menor biomasa y actividad autótrofa (clorofila) durante la estación seca.

METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Para cumplir con los objetivos planteados se concibió un diseño experimental que contempla una fase de campo en donde se describen los protocolos de muestreo, el procesamiento de laboratorio para biomasa y el análisis de identificación morfológica. La colección de muestras para este análisis se llevó a cabo en el 2021 en dos fechas: del 26 de abril al 10 mayo correspondiente a la época húmeda y del 10 al 22 de octubre correspondiente a la época seca. En las dos fechas se muestrearon cinco ríos de cabecera en donde se colectaron las biopelículas periféricas siguiendo los protocolos de muestreo descritos en la sección de “Análisis de identificación morfológica”. En cada tramo se tomaron además variables ambientales como el ancho, longitud, profundidad promedio, cobertura ribereña, velocidad del agua y caudal. En el sitio se midieron parámetros fisicoquímicos *In Situ* como el pH, Temperatura, Oxígeno disuelto, y Conductividad utilizando una sonda multiparamétrica (YSI ProSS, Xylem ©) y para el análisis de parámetros químicos en el agua (ejem., Na, Ca, Mg, Mn, Hg, Ba, Al, entre otros) se colectaron 500 ml de agua en botellas Nalgene©, previamente acidificadas HCl al uno por ciento por 48 h. Todas las muestras fueron almacenadas en termos portátiles a baja temperatura y luego preservadas en laboratorio a -4°C previo a su análisis.

Área de estudio

El área de estudio se encuentra en las cabeceras del río Cube que se encuentra dentro de la Reserva Ecológica Mache – Chindul (Figura 3). El río Cube se ubica en la cuenca hidrográfica Esmeraldas, y fluye en dirección Sur – Norte para unirse al río Viche y desembocar en el río Esmeraldas que llega al Océano Pacífico. Con un área de drenaje de alrededor de 165 km² este río se encuentra entre la cordillera costera ecuatoriana entre la ecorregión de los bosques húmedos del Occidente del Ecuador y la ecorregión del Chocó (Datry et al., 2021).

Caracterizada por su estacionalidad, los ríos de cabecera en el río Cube suelen desconectarse en la época seca que va desde agosto a diciembre y crecen de manera radical en la época lluviosa entre enero y julio. Los períodos de lluvias intensas se concentran en los meses de marzo y abril mientras que existe episodios de invierno “inviernillos” que se concentran en la parte alta en los meses de octubre y noviembre.

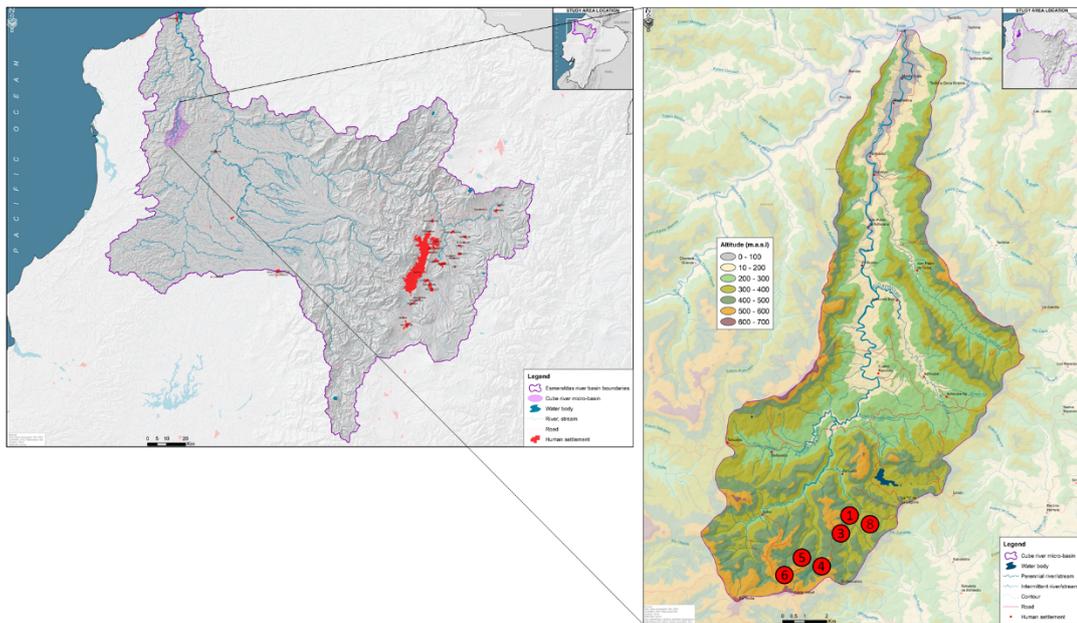


Figura 3. Cuenca del río Esmeraldas en donde se ubica la cuenca del río Cube y los ríos intermitentes de cabecera que fueron muestreados (puntos rojos) en la época húmeda (abril) y seca (octubre) del 2021.

Fuente: Instituto Biósfera, 2021.

Fase de campo y protocolos de muestreo

El protocolo de muestreo aplicado en la fase de campo corresponde al seguido por todos los países que forman parte del proyecto DRYvER (Datry et al., 2021). Para el muestreo de las biopelículas periféricas se colectaron tres rocas de los rápidos y tres rocas de las pozas de cada tramo de muestreo (n = seis). Aunque siempre se colectaron 6 rocas en

total, cabe mencionar que el número de rocas colectadas de los rápidos y de las piscinas varió dependiendo de los hábitats disponibles en los ríos. A continuación, se procedió a desprender la biopelícula solo de la superficie superior de cada roca utilizando un cepillo de cerdas plásticas, previamente enjuagado en HCl al uno por ciento. En cada tramo se utilizó 160 ml de agua destilada para enjuagar el material removido y se recolectó en una bandeja blanca plástica. El compuesto acuoso resultante se colocó en una probeta para su posterior distribución en diferentes muestras (ejem., Clorofila, AFDM, biovolumen, eDNA).

Adicionalmente, el área de las rocas se estimó a partir de la medición de los dos ejes perpendiculares más grandes (ejem., ancho y largo). Una vez homogenizado el volumen en la probeta se colectaron 40 ml de muestra en un tubo tipo Falcon estéril, que se etiquetó como ADN ambiental (eDNA) y 40 ml para la identificación morfológica. Los tubos se guardaron en un termo refrigerante para ser transportado al laboratorio para preservar a -18°C . Para el análisis de clorofila se utilizó 40 ml de volumen que pasaron a través de un filtro Whatman GFC 47mm, mediante una bomba de mano portátil. Cada filtro con el material colectado se dobló utilizando una pinza estéril y se colocaron dentro de un envase plástico oscuro previamente etiquetado. Igualmente, para masa libre de cenizas (AFDM: ash free dry mass) se utilizó 40 ml y un filtro Whatman GFC 47mm previamente secado a 60°C por 48h y luego pesado para analizar el peso final de la materia orgánica. Para evitar la contaminación cruzada entre sitios y muestras se utilizaron guantes de nitrilo y cepillos nuevos en cada sitio, así como herramientas esterilizadas con NaOCl 10%, HCl 1% y fuego. Los filtros también

permanecieron en una hielera con bolsas de hielo hasta el regreso al laboratorio, donde se los mantuvo a -18°C en un congelador.

Procesamiento de laboratorio: medición de clorofila y biomasa

Para extraer la clorofila de los filtros en laboratorio se colocó 10ml de una mezcla de etanol al 100% y tres μl de MgCO_3 , sobre la cara “sucia” de cada filtro mientras se mantenía cerrado en su recipiente oscuro, para evitar la exposición a la luz. Posteriormente las muestras se mantuvieron a 4°C durante 24 horas. Pasadas las 24 horas, se realizó una medición con un espectrofotómetro (Agilent Cary Spectrophotometer UV-Vis®). La primera lectura correspondió a la pre-acidificación (P_b) y se midió en un rango de longitud de onda de 750nm y 664nm de absorbancia. Después de esto se realizó una acidificación tras la adición de etanol al 100% + 10 μl de HCl 0.1N, esta lectura corresponde a la post-acidificación (P_a) y se leyó a una longitud de onda de 600nm y 750 nm de absorbancia. Finalmente se calculó la cantidad de clorofila-a por unidad de área con la siguiente fórmula (1):

$$\text{Clorofila } a / \text{Área} = \frac{\text{Constante} \times (P_b - P_a) \times \frac{\text{volumen de extracción ml} \times \text{volumen total ml}}{\text{área de roca m}^2 \times \text{submuestra}}}{1000} \quad (1)$$

Para la medición de la biomasa (AFDM) se sacaron los filtros preservados a -18°C y se mantuvieron por 15 minutos a temperatura ambiente, luego se los colocó en botes de aluminio y se los secó por 48h a 60°C , los filtros secados se pesaron en una balanza de cinco dígitos y se obtuvo el peso seco (W_f). Como los filtros fueron pesados previo al filtrado de la muestra ya se contó con el peso seco del filtro (W_a), para aplicar la fórmula (2) para el cálculo de la materia seca (DM). A continuación, se procedió a quemar los filtros en un horno mufla a 550°C durante 4 horas, para esto se pusieron los filtros en crisoles previamente

identificados con el código de la muestra. Finalmente, se pesó las cenizas (Wash). Con estos datos se calculó la materia organiza libre de ceniza (AFDM) con la *fórmula (3)*.

$$DM = \frac{Wa-Wf}{\text{área roca}} \quad (2)$$

$$AFDM = \frac{(Wa-Wf)-Wash}{\text{área roca}} \quad (3)$$

Análisis de identificación morfológica

Teniendo en cuenta los protocolos detallados en Hauer & Lamberti, 2017, se consideraron dos protocolos distintos para preparar las muestras para la identificación de diatomeas y no diatomeas. En el caso de las diatomeas, se utilizaron químicos oxidantes para remover la materia orgánica y apartar las frústulas de las algas. Se colocó entre 5 a 10 ml de muestra en un vaso de precipitados de 500ml para su limpieza con 5,25% de hipoclorito de sodio. La muestra se dejó reposar por 1-2 horas y se agitó periódicamente. Posteriormente el vaso de precipitados se llenó con agua destilada y se lo dejó reposar durante 8 horas para que así las diatomeas se depositen en el fondo. Luego, el sobrenadante se retiró cuidadosamente. Se añadió agua destilada y se filtró el sobrenadante repetidamente hasta obtener un pH neutro en la muestra (5 ocasiones). Se pipeteó tres mL del concentrado se pipeteó en un cubreobjetos desinfectado, se secó al aire y se procedió a montar la cámara. En el caso de las no diatomeas, la muestra se fijó con glutaraldehído al 2%, se colocó en un cubreobjetos, se añadió solución de glucosa Taft al 10% y se dejó en reposo hasta que estuviese pegajosa. Alternadamente, se colocó una gota de glucosa Taft al 100% en un portaobjetos y se colocó el cubreobjetos con la muestra seca. Ambos tipos de muestras se observaron bajo un microscopio invertido y en microscopio óptico para su comparación.

Análisis estadístico

Las unidades taxonómicas identificadas de algas bénticas se consideraron como riqueza taxonómica. Mientras que la diversidad taxonómica de cada ensamblaje se calculó mediante el Índice Efectivo de Shannon que se utiliza para comparar las verdaderas diversidades de dos o más ensamblajes, y se calcula obteniendo la exponencial del Índice de Shannon (Lukács et al., 2021). Para calcular el grado de parentesco de los taxones en los ensamblajes se utilizó una medida de diversidad filogenética basada en Chao et al., 2014. Esta medida provee el número efectivo de entidades filogenéticas, que en este caso se trata del número de ramas de longitud unitaria de un árbol filogenético ponderado por la abundancia relativa de los taxones (Lukács et al., 2021). Además, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para complementar la interpretación de la composición de taxones y rasgos durante la estación húmeda y seca. Y se comprobó las diferencias de diversidad y las variables ambientales registradas entre ambas estaciones mediante una prueba t de Student pareada ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Variables ambientales

Los sitios de muestreo durante la época húmeda y seca se agrupan de acuerdo con ciertas variables que caracterizan a cada una de ellas (Figura 4). Durante la época húmeda los sitios se caracterizan principalmente por los niveles de oxígeno disuelto, saturación de oxígeno, ash free dry mass (materia orgánica total), temperatura y velocidad. Mientras que los sitios durante la época seca se caracterizan principalmente por los niveles de clorofila (materia autótrofa) y conductividad.

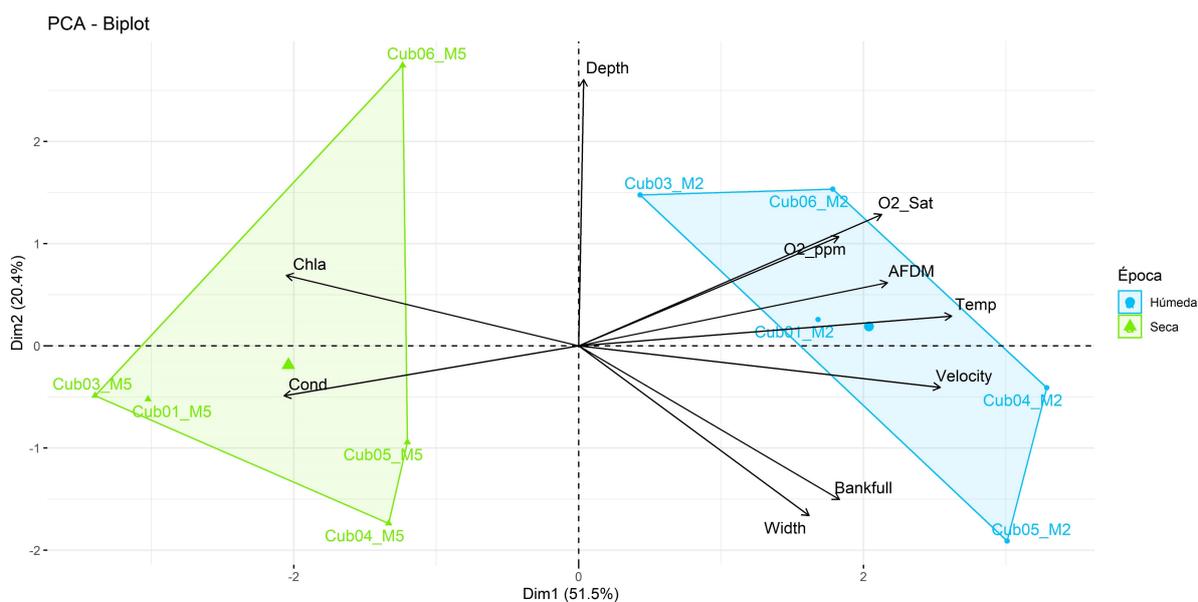


Figura 4.- Análisis de componentes principales (PCA) que considera 10 variables [profundidad, temperatura, velocidad, ancho mojado, anchura de cauce, oxígeno disuelto, saturación de oxígeno, conductividad, clorofila, ash free dry mass (AFDM)] respecto a cada sitio en la época seca y la época húmeda.

La variabilidad del nivel de clorofila-a ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) durante la estación húmeda (IQR= 3.678823) es menor con respecto a la variabilidad en la estación seca (IQR= 27.49093) (Figura

5a) y la diferencia entre sus medias es estadísticamente significativa ($t = -4.6583$, $df = 4$, $p\text{-value} \leq 0.01$) (Anexo A). Al menos el 75% de los datos de la estación húmeda tienen un valor igual o menor a $26.57371 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, mientras que el mismo porcentaje de los datos de la estación seca tienen un valor igual o menor a $131.7034 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Además, se evidencia un valor atípico durante cada estación, $32.98245 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ en la estación húmeda y $226.56444 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ en la estación seca (Figura 5a). Por otro lado, patrones contrarios se evidencian en los valores de AFDM (mg), donde se han registrado mayores valores de materia orgánica total y con menor variabilidad durante la estación húmeda ($\text{IQR} = 0.02101273$), y menores valores con mayor variabilidad ($\text{IQR} = 0.1778294$) durante la estación húmeda (Figura 5b). Al igual que los registros de clorofila, la diferencia entre las medias de los pesos de AFDM de ambas estaciones es estadísticamente significativa ($t = 4.1228$, $df = 4$, $p\text{-value} \leq 0.01$) (Anexo A). Se observa que al menos el 75% de los datos de la época húmeda poseen un valor igual o menor a 0.294411 mg , mientras que el mismo porcentaje de los datos de la época seca es igual o menor a 0.2661546 mg .

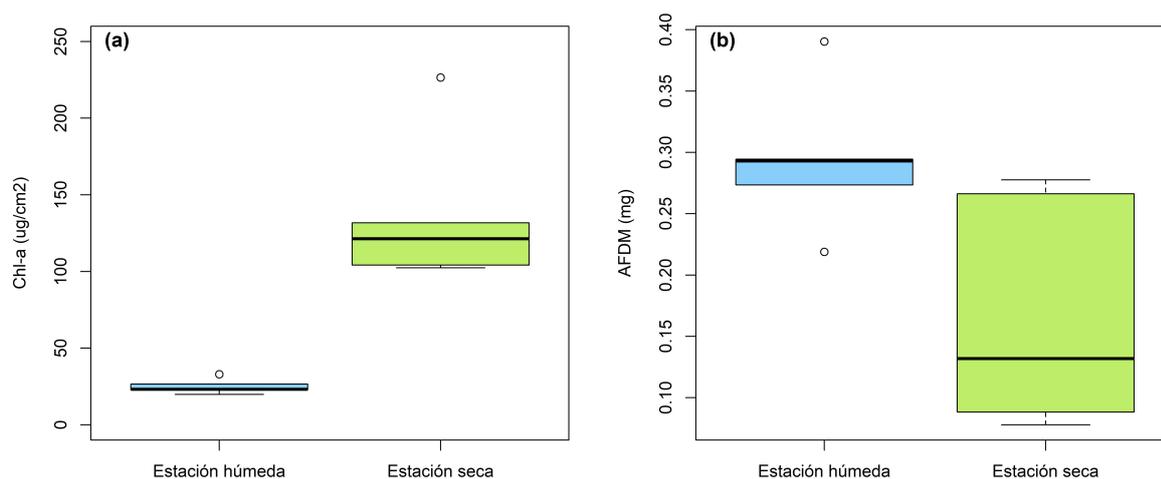
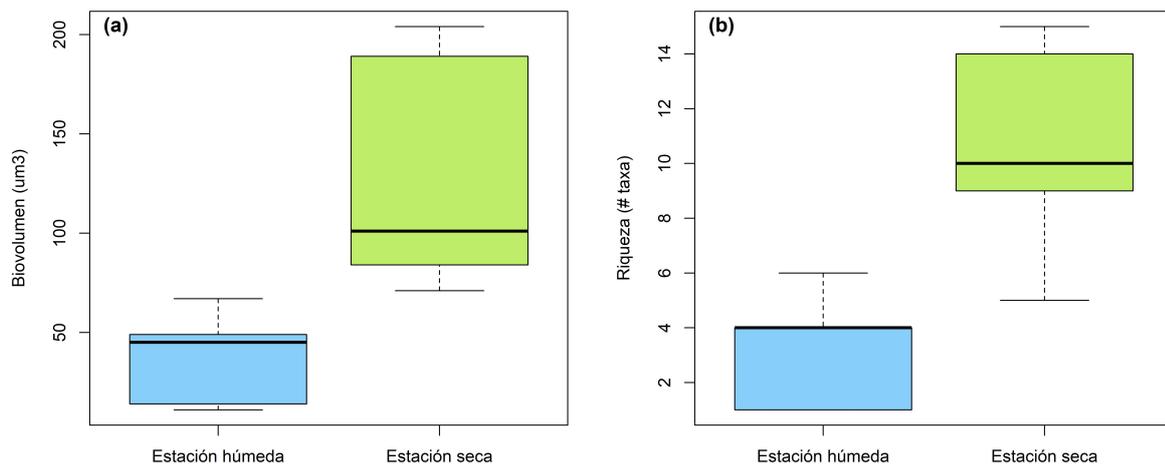


Figura 5. Gráficos de caja que muestran (a) los valores de clorofila ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) y (b) los valores de “ash free dry mass” (mg) registrados durante la estación húmeda y seca.

Identificación morfológica

El biovolumen calculado para las muestras recolectadas durante le época húmeda (IQR=35) muestran una menor variación respecto a aquellas recolectadas durante la época seca (IQR=105) (Figura 6a). La diferencia entre las medias de los biovolumenes de ambas estaciones es estadísticamente significativa ($t = -2.7602$, $df = 4$, $p\text{-value} \leq 0.05$), y lo mismo ocurre con la riqueza (calculada en número de taxones) ($t = -3.1105$, $df = 4$, $p\text{-value} \leq 0.05$) (Anexo A). Además, la riqueza sigue le mismo patrón del biovolumen en cuanto a variabilidad, presentando una menor variación en la época húmeda (IQR=3) y una mayor variación en la época seca (IQR=5) (Figura 6b). La mayoría de los datos (~75%) de biovolumen tienen un valor de hasta $49 \mu\text{m}^3$ durante la estación húmeda y de hasta $189 \mu\text{m}^3$ durante la estación seca. Paralelamente, la mayoría de los sitios de muestreo tienen un número igual o menor a 4 taxones registrados durante la estación húmeda y 14 durante la estación seca.

Figura 6. Gráficos de caja que muestran (a) los valores de biovolumen (μm^3) y (b) los valores



de riqueza (# taxa) registrados durante la estación húmeda y seca.

Se puede observar que hay una mayor diversidad de algas bénticas durante la época seca, dónde el índice efectivo de Shannon oscila entre 4.99 (sitio tres) y 14.99 (sitio 6). Mientras

que en la época húmeda el índice oscila entre uno (sitio cinco y seis) y seis (sitio uno) (Figura 7a). Paralelamente, el índice de Chao reflejó el mismo patrón, pero con rangos mucho más amplios sobre los estimados de los taxones “reales”, 15 (sitio tres) -120 (sitio seis) taxones durante la época seca y uno (sitios cinco y seis) - 21 (sitio uno) taxones durante la época húmeda (Figura 7b) Además, se registró una mayor diversidad de taxones de acuerdo con su abundancia de células (%) en las muestras de cada sitio durante la estación seca (Figura 8). El género *Planotidium* se manifestó en todos los sitios durante ambas estaciones. Mientras que *Pinnularia* se encontró en todos los sitios, pero solamente durante la estación húmeda, y *Diploneis* solamente durante la estación seca. Además, los géneros *Bulbochaete* (Cub-06), *Cosmarium* (Cub-06) y *Terpsione* (Cub-01), se identificaron solamente en una ocasión en un solo sitio durante la época seca. Entre los géneros más comunes durante la época húmeda se encuentran *Pinnularia*, *Planotidium*, *Eutonia* y *Gomphonema*, mientras que durante la época seca los géneros más comunes son: *Pinnularia*, *Planotidium*, *Gomphonema*, *Diploneis*, *Nitzschia*, *Surirella*, *Amphipleura* y *Gyrosigma* (Figura 9).

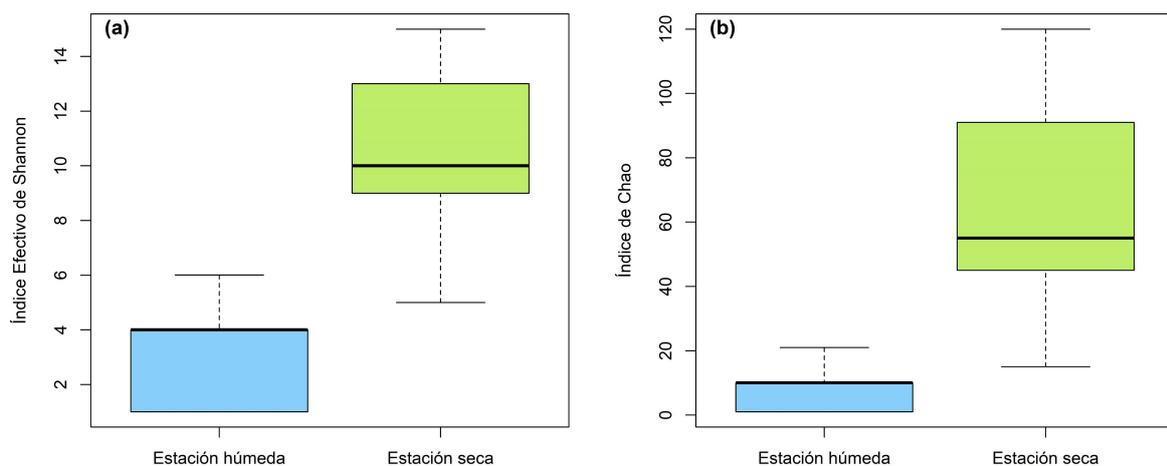


Figura 7. Índices de diversidad de algas bénticas a) índice Efectivo de Shannon, b) Índice de Chao

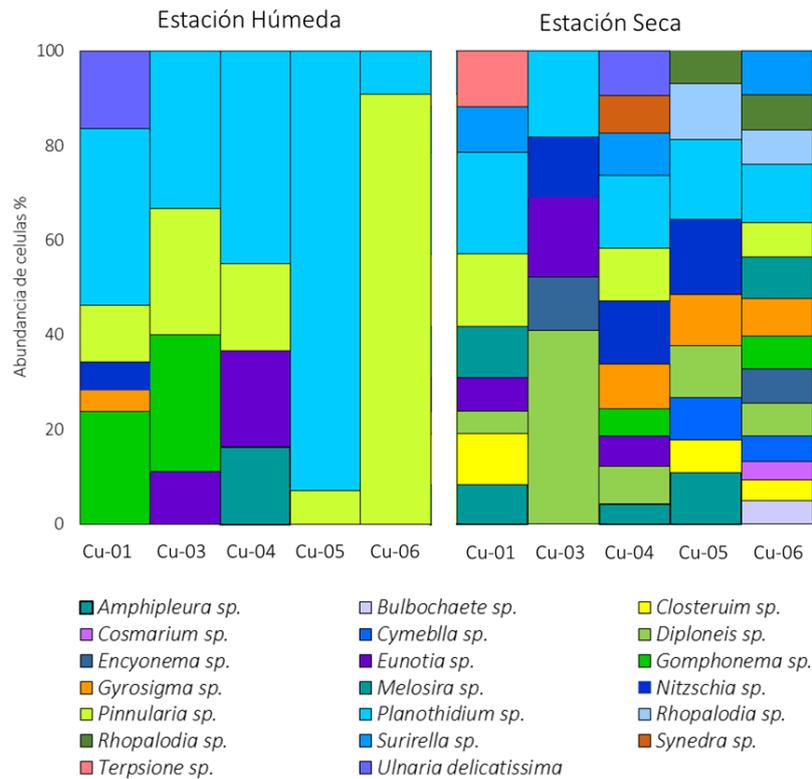


Figura 8. Taxones identificados durante cada estación de acuerdo con su abundancia de células

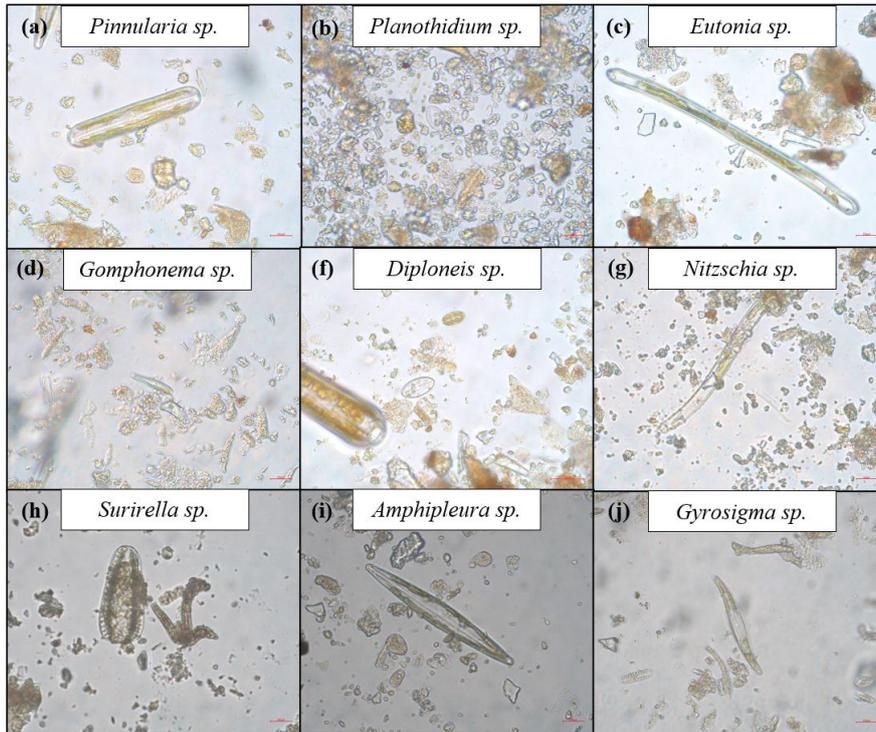


Figura 9. Imágenes los géneros de algas más comunes en la época húmeda (a - d) y seca (a - c, f -j) tomadas en un microscopio invertido.

DISCUSIÓN

Inicialmente se hipotetizó que durante la estación seca habría un mayor estrés hídrico que representaría que las biopelículas tengan menor diversidad taxonómica de algas bénticas, menor materia orgánica, y menor biomasa y actividad autótrofa durante la disminución del caudal. Sin embargo, tras analizar los resultados, se observó que las predicciones se cumplieron parcialmente.

Los ríos de cabecera representan ríos de primer orden que se identifican por llevar a cabo funciones primarias que alimentan a todo el sistema fluvial. Estos sistemas comprenden a la mayor parte de las redes fluviales en el mundo (Datry et al., 2014), y se caracterizan por tener diferentes condiciones físicas, químicas y bióticas con respecto al resto de los ríos en la red fluvial (Meyer et al., 2007). Los ríos de cabecera del Río Cube se caracterizan por tener mayor temperatura, velocidad, oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y materia orgánica (AFDM) durante la época húmeda; y mayor conductividad y materia autótrofa (clorofila) durante la época seca. Las variables que caracterizan a los sitios durante cada estación están correlacionadas positivamente entre sí, mientras que las variables características durante cada época están negativamente correlacionadas con las variables que caracterizan a la época contraria (Figura 4). Considerando lo anterior, los niveles de materia orgánica (AFDM) están negativamente relacionados con los niveles de materia autótrofa (clorofila). Es decir, a mayor biomasa de materia autótrofa (clorofila), menor biomasa de materia orgánica (AFDM) y viceversa. Durante la época seca en los ríos intermitentes en zonas templadas, el transporte de materia orgánica y sedimentos disminuye, resultando que se acumulen en las piscinas y provocando una disminución de oxígeno disuelto y un incremento de concentraciones de nutrientes durante la época seca (Acuña et al., 2005). Adicionalmente, la temperatura y conductividad del agua incrementa, y los bajos niveles de oxígeno conducen a un incremento

en la respiración anaerobia y aerobia facultativa. Estudios realizados en el río intermitente *Fuirosos* ubicado en la Península Ibérica detectó una pérdida importante de materia orgánica de alta calidad (materia orgánica alta en péptidos y polisacáridos) durante la época seca (Timoner et al., 2012; Ylla et al., 2010). Así como una reducción de algas (reducción de clorofila) y de bacterias activas (Timoner et al., 2012, 2014; Ylla et al., 2010). Contrario a lo reportado en el río *Fuirosos* (y en otros sistemas en zonas templadas), en la cuenca del río Cube se registró una menor temperatura y mayor biomasa autótrofa durante la época seca, paralelo a una amplia variabilidad de materia orgánica que a su vez representó menores valores con respecto a la estación húmeda (Figura 5). Es decir, existe una importante actividad autótrofa durante la estación seca, demostrada por el registro de mayor clorofila, biovolumen, riqueza y diversidad de algas bénticas (Figuras 5-8). Este evento pudo haber estado acompañado de una disminución de la actividad heterotrófica, asociada a una disminución de carbono orgánico disuelto (COD) (Ylla et al., 2010). El incremento de la actividad autótrofa también representa un aumento de producción primaria, que a su vez es favorecida por la mayor luminosidad durante la época seca y la presencia de nutrientes biodisponibles (Datry et al., 2017).

Los patrones contrarios a los del río ibérico se pudieron haber manifestado por varios factores, principalmente porque el río *Fuirosos* es un río intermitente de tercer orden y (como varios ríos intermitentes en zonas templadas) el sistema fluvial cuenta con una fase “terrestre” donde el río y su superficie se secan por completo. Los ríos considerados en este estudio, al ser ríos de primer orden (o de cabecera), albergan múltiples especies que no pueden encontrarse en otros sitios dentro del sistema fluvial, comprendiendo un “set” único de especies (Meyer et al., 2007). Esto ocurre debido a que las cabeceras proporcionan hábitats únicos y diversos en cuanto a sus características fisicoquímicas (Meyer et al., 2007). Además, los ríos de cabecera del río Cube no se secan por completo, es decir que a pesar de que se desconectan

mantienen una interfase acuosa en el hiporreos, así como pozas que mantienen agua. Durante la época seca, los ríos generalmente cuentan con un caudal reducido que fragmenta los ríos en microhábitats como pozas, pequeñas cascadas o rápidos aislados entre sí; resultando en un paisaje altamente heterogéneo. La heterogeneidad del paisaje se define como el número y las proporciones de los diferentes tipos de cobertura (heterogeneidad composicional) y su compleja disposición espacial (heterogeneidad configuracional) en el paisaje (Fahrig & Nuttle, 2005). La heterogeneidad a su vez representa una mayor cantidad y diversidad de nichos, generando mayores niveles de diversidad de especies, y mayor diversidad de procesos ecosistémicos y variabilidad en sus tasas metabólicas (Fahrig & Nuttle, 2005). En este sentido, la heterogeneidad y sus condiciones abióticas y bióticas del río Cube durante la estación seca no representan un estrés hídrico o funcional representativo que dificulte la supervivencia de las algas, así como ocurre en los sistemas temperados. La presencia de agua (aún en volúmenes reducidos) es crucial durante la época seca para la supervivencia de las algas al ser un elemento esencial para la fotosíntesis, síntesis de azúcares, equilibrio osmótico y otros procesos metabólicos (Datry et al., 2017). Sin embargo, es posible que las algas si se encuentren en una condición de estrés durante el cese del caudal. Existe evidencia de que los ciclos naturales de inundación y desecación impactan en la evolución molecular y morfológica de las especies al cambiar las tasas de mutación y al exponer variaciones crípticas mediante interacciones ambiente-genotipo (Williams, 2006). Por ende, estos cambios evolutivos pueden aportar al incremento de diversidad biológica, fisiológica y ecológica, algo que podría mejorar la adaptabilidad de las comunidades ante cambios ambientales futuros. Las especies de algas bénticas que habitan estos sistemas intermitentes son conocidas por presentar una variedad de adaptaciones fisiológicas, morfológicas, comportamentales y en su historia natural que las ha permitido sobrevivir a los ciclos húmedos-secos. Por lo que es probable que, para proteger sus tejidos de la degradación UV, exista un aumento en la producción de carotenoides protectores

extracelulares (escitonemina) o intracelulares (β -caroteno, cataxantina, equinona, luteína, mixoxantofila, zeaxantina) (Datry et al., 2017). La eutrofización es otro factor que también pudo influir en el incremento de diversidad durante la época seca. Sin embargo, la eutrofización no se pudo haber manifestado en altos niveles debido a que los ríos cuentan con concentraciones bajas de nitratos y fosfatos. A pesar de esto, la época seca se caracteriza por tener una mayor acumulación de nutrientes en los cuerpos de agua remanentes en los ríos, algo que pudo favorecer el crecimiento de algas (Smith & Schindler, 2009).

La biodiversidad de las cabeceras de los ríos contribuye a la biodiversidad del resto del sistema fluvial y a su zona ribereña. Las especies que se encuentran en las cabeceras pueden ser residentes permanentes o migrantes que regresan a las cabeceras durante ciertas fases de su vida o épocas del año (Meyer et al., 2007). La heterogeneidad del hábitat es un factor relevante que considerar al añadir el factor de la intermitencia (mediada por la estacionalidad) a las particularidades ecológicas de las cabeceras. En este contexto, la heterogeneidad del hábitat durante la estación seca también moldeará las poblaciones de algas bénticas en el resto del sistema fluvial de acuerdo con la estacionalidad. Los taxones identificados durante la época seca comprenden a un subconjunto de los taxones reconocidos durante la época húmeda. Sin embargo, esto ocurre al considerar a todos los ríos en conjunto. Es decir, no todos los taxones durante la época húmeda se identificaron durante la época seca al considerar a los sitios individualmente. A pesar de esto, no se descarta que esos taxones no puedan encontrarse durante la época seca debido a varias razones, entre ellas: 1) las muestras analizadas necesitaron diluirse repetidamente, por lo que importantes cantidades de muestra están próximas a analizarse, y 2) los análisis de muestras biológicas *ex situ* siempre representarán una aproximación a la realidad por lo que muchos taxones pueden no identificarse aún después de analizar la totalidad de las muestras. El índice de Chao-1 representa una aproximación de los taxones de algas que en realidad podrían encontrarse en las biopelículas de cada sitio durante

cada época. Donde podrían encontrarse de 15 a 120 taxones más durante la época seca, y de uno a 21 taxones más durante la época húmeda. Esta aproximación puede ser en realidad mucho más alta, considerando que solo una fracción de las muestras se han analizado hasta el momento. Entre los taxones que se lograron identificar hasta nivel de especie se encuentran *Closterium aserosum*, *Nitzschia sigmoidea* en la época seca, y *Ulnaria delicatissima* en la época seca y húmeda. Los sitios cinco y seis fueron los sitios con menor número de taxones registrados durante la época húmeda (un taxón respectivamente). Sin embargo, su riqueza aumentó considerablemente durante la época seca de 10 a 15 taxones respectivamente. Este patrón puede aludirse a la cercanía de ambos sitios, lo que sugiere que ambos comparten características abióticas y bióticas que representen dinámicas similares en las poblaciones de algas bénticas. Además, otro patrón importante a destacar es la ausencia de algas verdes durante la época húmeda. Las algas verdes y las cianobacterias se caracterizan por ser especies más resistentes a la desecación, en comparación a las diatomeas que tienden a ser especies pioneras ante el cese del caudal (Datry et al., 2017).

El término “hot-spot metabólico” y “biopelícula” se han considerado sinónimos a lo largo de este documento. Esto debido a que las biopelículas son micro-ecosistemas donde se acumulan múltiples especies de microorganismos asociados con el metabolismo de elementos como el oxígeno o el nitrógeno (Battin et al., 2016). Además, representan el alimento de consumidores primarios como los macroinvertebrados bénticos. Las biopelículas consisten en consorcios biológicos de autótrofos (algas y cianobacterias) y heterótrofos (bacterias y hongos) que coexisten en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) hidratadas (Sabater et al., 2016). También existe micro y meiofauna habitando las biopelículas, depredando sus organismos y partículas orgánicas y contribuyendo a su dispersión y evolución. Las EPS mantienen en estrecha proximidad a las células tras inmovilizarlas, algo que permite una intensa comunicación entre células y la formación de consorcios sinérgicos. Además, son

capaces de retener enzimas extracelulares que permiten la utilización de materiales del medio ambiente y su transformación en nutrientes disueltos para el uso de bacterias y algas (Sabater et al., 2016). Tanto la estructura física de las biopelículas, como la plasticidad de los organismos que las habitan, favorecen y garantizan su resistencia y resiliencia ante la intermitencia de los ríos. Por otro lado, cuando el flujo del agua cesa, las algas que no se encuentran adheridas a algún sustrato pueden llegar a refugiarse en piscinas o charcos para luego poder recolonizar el sistema. En zonas templadas, se ha observado que las algas bénticas en las biopelículas se encuentran expuestas a la deriva génica y a una menor variación genética durante la época seca (Datry et al., 2017). Sin embargo, en el río Cube la deriva génica está direccionada hacia la época húmeda, donde se registró menor biomasa, biovolumen, riqueza y diversidad de algas bénticas.

CONCLUSIONES

La estacionalidad climática característica del Chocó biogeográfico incorpora una definición distinta de lo que se conoce en zonas templadas acerca de sistemas fluviales intermitentes. Los ríos intermitentes del río Cube se caracterizan principalmente por tener mayores niveles de oxígeno durante la época húmeda, y mayor conductividad y temperatura durante la época seca. Contrario a lo reportado en la literatura sobre ríos intermitentes, los ríos de cabecera del río Cube tienen una importante actividad autótrofa durante la época seca, donde existe mayor diversidad, riqueza y biomasa de algas benthicas. Sin embargo, se registró más materia orgánica (AFDM) durante la época húmeda. Lo que significa que los hot-spots metabólicos pueden ser más abundantes durante esta época, pero su composición es diferente respecto a la época seca. Los hot-spots metabólicos cuentan con mayor actividad autótrofa durante la estación seca y mayor actividad heterotrófica durante la estación húmeda. Además, el incremento de diversidad de algas ante el cese del caudal se atribuye a la heterogeneidad del hábitat, la presencia de agua, y un incremento de nutrientes biodisponibles.

Finalmente, cabe recalcar que los estudios citados en el marco teórico de esta investigación y en la comparación de sus resultados comprenden a una limitada selección de literatura acerca de sistemas fluviales intermitentes. Que en general consideran escenarios de intermitencia en sistemas fluviales de zonas templadas, donde la estacionalidad se manifiesta dentro de contextos ambientales, hidrológicos, geográficos y biológicos totalmente diferentes a los de zonas tropicales andinas. Sin embargo, la comparación de los resultados de esta investigación con la información recopilada ha sido crucial para entender la dinámica de los hot-spots metabólicos en un contexto intermitente tropical. Incorporando primeros indicios sobre la ecología de las algas benthicas en un sistema fluvial naturalmente intermitente en el Chocó Andino ecuatoriano. Esta información también representa una primera aproximación y

fuelle de comparación para futuros estudios en otros sistemas intermitentes dentro del Chocó biogeográfico o en otras zonas tropicales.

La identificación morfológica de algas bénticas reportada en esta investigación busca complementarse con una identificación molecular. Así como considerar otros grupos taxonómicos (hongos y bacterias) para un análisis más integro sobre los hot-spots metabólicos en los ríos intermitentes del río Cube.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña, V., Muñoz, I., Giorgi, A., Omella, M., Sabater, F., & Sabater, S. (2005). Drought and postdrought recovery cycles in an intermittent Mediterranean stream: Structural and functional aspects. *Journal of the North American Benthological Society*, 24(4), 919-933. <https://doi.org/10.1899/04-078.1>
- Battin, T. J. (2000). Hydrodynamics is a major determinant of streambed biofilm activity: From the sediment to the reach scale. *Limnology and Oceanography*, 45(6), 1308-1319. <https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.6.1308>
- Battin, T. J., Besemer, K., Bengtsson, M. M., Romani, A. M., & Packmann, A. I. (2016). The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 14(4), 251-263. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.15>
- Benstead, J. P., & Leigh, D. S. (2012). An expanded role for river networks. *Nature Geoscience*, 5(10), 678-679. <https://doi.org/10.1038/ngeo1593>
- Datry, T., Allen, D., Argelich, R., Barquin, J., Bonada, N., Boulton, A., Branger, F., Cai, Y., Cañedo-Argüelles, M., Cid, N., Csabai, Z., Dallimer, M., de Araújo, J. C., Declerck, S., Dekker, T., Döll, P., Encalada, A., Forcellini, M., Foulquier, A., ... Vinyoles, D. (2021). Securing Biodiversity, Functional Integrity, and Ecosystem Services in Drying River Networks (DRYvER). *Research Ideas and Outcomes*, 7, e77750. <https://doi.org/10.3897/rio.7.e77750>
- Datry, T., Bonada, N., & Boulton, A. J. (Eds.). (2017). *Intermittent rivers and ephemeral streams: Ecology and management*. Academic Press, an imprint of Elsevier.
- Datry, T., Larned, S. T., & Tockner, K. (2014). Intermittent Rivers: A Challenge for Freshwater Ecology. *BioScience*, 64(3), 229-235. <https://doi.org/10.1093/biosci/bit027>

- Depetris, A., Tagliavini, G., Peter, H., Köhl, M., Holzner, M., & Battin, T. J. (2022). Biophysical properties at patch scale shape the metabolism of biofilm landscapes. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 8(1), 5. <https://doi.org/10.1038/s41522-022-00269-0>
- Fahrig, & Nutton, W. K. (2005). *Ecosystem function in heterogeneous landscapes*. Springer.
- Hauer, F. R., & Lamberti, G. A. (Eds.). (2017). *Methods in stream ecology* (Third edition). Academic Press, an imprint of Elsevier.
- Herzog, S. K., Matínez, R., Jørgensen, P. M., & Tiessen, H. (2017). *Climate Change and Biodiversity in the Tropical Andes*.
- Jahn, O. (2011). Birds and mammals as indicators for the conservation status of tropical forests in the Ecuadorian Chocó. En *Tropical Vertebrates in a Changing World* (Schuchmann Karl-L, pp. 169-184).
- Larned, S. T., Datry, T., Arscott, D. B., & Tockner, K. (2010). Emerging concepts in temporary-river ecology. *Freshwater Biology*, 55(4), 717-738. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02322.x>
- Lukács, Á., Bácsi, I., Nemes-Kókai, Z., Borics, G., Várbiro, G., T-Krasznai, E., & B-Béres, V. (2021). Strong influence of climatic extremes on diversity of benthic algae and cyanobacteria in a lowland intermittent stream. *Ecohydrology*. <https://doi.org/10.1002/eco.2286>
- Magand, C., Alves, M. H., Calleja, E., Datry, T., Dörflinger, G., England, J., Gallart, F., Gomez, R., Jorda-Capdevila, D., Marti, E., Munne, A., Pastor, A. V., Stubbington, R., Tziortzis, I., & Von Schiller, D. (2020). *Intermittent rivers and ephemeral streams: What water managers need to know*. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.3888474>
- Meyer, J. L., Strayer, D. L., Wallace, J. B., Eggert, S. L., Helfman, G. S., & Leonard, N. E. (2007). The Contribution of Headwater Streams to Biodiversity in River Networks1:

- The Contribution of Headwater Streams to Biodiversity in River Networks. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 43(1), 86-103.
<https://doi.org/10.1111/j.1752-1688.2007.00008.x>
- Molinero, J., Barrado, M., Guijarro, M., Ortiz, M., Carnicer, O., & Zuazagoitia, D. (2019). The Teaone River: A snapshot of a tropical river from the coastal region of Ecuador. *Limnetica*, 38(2), 587-605. <https://doi.org/10.23818/limn.38.34>
- Montoya, J. V., Roelke, D. L., Winemiller, K. O., Cotner, J. B., & Snider, J. A. (2006). Hydrological seasonality and benthic algal biomass in a Neotropical floodplain river. *Journal of the North American Benthological Society*, 25(1), 157-170.
[https://doi.org/10.1899/0887-3593\(2006\)25\[157:HSABAB\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1899/0887-3593(2006)25[157:HSABAB]2.0.CO;2)
- Poff, N. L., Allan, J. D., Bain, M. B., Karr, J. R., Prestegard, K. L., Richter, B. D., Sparks, R. E., & Stromberg, J. C. (1997). The Natural Flow Regime. *BioScience*, 47(11), 769-784.
<https://doi.org/10.2307/1313099>
- Reid, A. J., Carlson, A. K., Creed, I. F., Eliason, E. J., Gell, P. A., Johnson, P. T. J., Kidd, K. A., MacCormack, T. J., Olden, J. D., Ormerod, S. J., Smol, J. P., Taylor, W. W., Tockner, K., Vermaire, J. C., Dudgeon, D., & Cooke, S. J. (2019). Emerging threats and persistent conservation challenges for freshwater biodiversity. *Biological Reviews*, 94(3), 849-873. <https://doi.org/10.1111/brv.12480>
- Robson, B. J., & Matthews, T. G. (2004). Drought refuges affect algal recolonization in intermittent streams. *River Research and Applications*, 20(7), 753-763.
<https://doi.org/10.1002/rra.789>
- Sabater, S., Timoner, X., Bornette, G., De Wilde, M., Stromberg, J. C., & Stella, J. C. (2017). The Biota of Intermittent Rivers and Ephemeral Streams: Algae and Vascular Plants. En *Intermittent Rivers and Ephemeral Streams* (pp. 189-216). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803835-2.00016-4>

- Sabater, S., Timoner, X., Borrego, C., & Acuña, V. (2016). Stream Biofilm Responses to Flow Intermittency: From Cells to Ecosystems. *Frontiers in Environmental Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2016.00014>
- Smith, V. H., & Schindler, D. W. (2009). Eutrophication science: Where do we go from here? *Trends in Ecology & Evolution*, 24(4), 201-207. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.11.009>
- Stanley, E. H., Fisher, S. G., & Grimm, N. B. (1997). Ecosystem Expansion and Contraction in Streams. *BioScience*, 47(7), 427-435. <https://doi.org/10.2307/1313058>
- Timoner, X., Acuña, V., Von Schiller, D., & Sabater, S. (2012). Functional responses of stream biofilms to flow cessation, desiccation and rewetting: Flow intermittency effects on stream biofilms. *Freshwater Biology*, 57(8), 1565-1578. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2012.02818.x>
- Timoner, X., Buchaca, T., Acuña, V., & Sabater, S. (2014). Photosynthetic pigment changes and adaptations in biofilms in response to flow intermittency. *Aquatic Sciences*, 76(4), 565-578. <https://doi.org/10.1007/s00027-014-0355-6>
- Timoner, X., Colls, M., Salomón, S. M., Oliva, F., Acuña, V., & Sabater, S. (2020). Does biofilm origin matter? Biofilm responses to non-flow period in permanent and temporary streams. *Freshwater Biology*, 65(3), 514-523. <https://doi.org/10.1111/fwb.13447>
- Williams, Büdel, B., Reichenberger, H., & Rose, N. (2014). Cyanobacteria in the Australian northern savannah detect the difference between intermittent dry season and wet season rain. *Biodiversity and Conservation*, 23(7), 1827-1844. <https://doi.org/10.1007/s10531-014-0713-7>
- Williams, D. D. (2006). *The biology of temporary waters*. Oxford University Press.

Ylla, I., Sanpera-Calbet, I., Vázquez, E., Romaní, A. M., Muñoz, I., Butturini, A., & Sabater, S. (2010). Organic matter availability during pre- and post-drought periods in a Mediterranean stream. *Hydrobiologia*, 657(1), 217-232.
<https://doi.org/10.1007/s10750-010-0193-z>

**ANEXO A: PRUEBA *t* DE STUDENT PAREADA PARA TODAS LAS VARIABLES
CONSIDERADAS EN EL ESTUDIO**

Paired t-test	<i>t</i>	df	p-value (alpha = 0.05)	95 percent confidence interval	Mean of the differences
Width	1.7568	4	0.1538	-0.235541 1.047141	0.4058
Bankfull	2.07	4	0.1072	-0.3250404 2.2298404	0.9524
Velocity	3.7739	4	0.01954	0.08280224 0.54375776	0.31328
Depth	0.09503 9	4	0.3957	-1.683117 3.435117	0.876
Temp	13.671	4	0.0001658	1.357934 2.050066	1.704
Cond	-6.8393	4	0.002391	-101.6732 -42.9588	-72.316
Oxygen	1.5467	4	0.1968	-1.009115 3.547515	1.2692
Saturation	2.5054	4	0.06638	-2.19656 42.81256	20.308
Chla	-4.6583	4	0.009602	-178.97946 -45.30219	-112.1408
AFDM	4.1228	4	0.01458	0.04102961 0.21025046	0.12564
Autotrophs	26.88	4	1.14E-05	0.9357028 1.1512661	1.043484
Sulphate	-3.2239	4	0.03216	-15.920802 -1.187198	-8.554
SusSolid	1.8368	4	0.1401	-10.94707 53.74707	21.4
Biovolumen	-2.7602	4	0.05084	-185.7438368 0.5438368	-92.6
Richness	-3.1105	4	0.0386	-14.0053724 -0.7946276	-7.4
Effective Shannon	-3.0863	4	0.03671	-13.6774551 -0.7228474	-7.200151
Chao	-2.7917	4	0.04923	-112.8913547 -0.3086453	-56.6

**ANEXO B: COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON DE TODAS LAS
VARIABLES CONSIDERADAS EN EL ESTUDIO**

Pearson Correlation	Width	Bankfull	Velocity	Depth	Temp	Cond	O2_ppm	O2_Sat	Chla	AFDM
Width	1	0.7451244	0.6258162	-0.526315	0.3226171	-0.0579223	0.4224011	0.3851116	-0.3065205	0.2711374
Bankfull	0.7451244	1	0.5501287	-0.3844094	0.5368896	-0.1980815	0.3727133	0.3345832	-0.5400697	0.3173531
Velocity	0.6258162	0.5501287	1	-0.1253687	0.8191366	-0.7183155	0.4829957	0.5643561	-0.6709953	0.6543085
Depth	-0.526315	-0.3844094	-0.1253687	1	0.1311959	-0.1517328	0.3600219	0.4171726	0.1716116	0.0766305
Temp	0.3226171	0.5368896	0.8191366	0.1311959	1	-0.869434	0.4551547	0.6355778	-0.8078565	0.7525449
Cond	-0.0579223	-0.1980815	-0.7183155	-0.1517328	-0.869434	1	-0.207513	-0.3771509	0.7608729	-0.5870689
O2_ppm	0.4224011	0.3727133	0.4829957	0.3600219	0.4551547	-0.207513	1	0.933611	-0.1529011	0.4829714
O2_Sat	0.3851116	0.3345832	0.5643561	0.4171726	0.6355778	-0.3771509	0.933611	1	-0.2478525	0.682589
Chla	-0.3065205	-0.5400697	-0.6709953	0.1716116	-0.8078565	0.7608729	-0.1529011	-0.2478525	1	-0.3845104
AFDM	0.2711374	0.3173531	0.6543085	0.0766305	0.7525449	-0.5870689	0.4829714	0.682589	-0.3845104	1