

# Efecto de las descargas del emisario submarino de aguas residuales de la ciudad de Limón sobre la calidad del agua, abundancia y diversidad del fitoplancton en los alrededores de isla Uvita, Costa Rica

## Effect of the city of Limón marine residual waters outfall discharges on water quality and phytoplankton abundance and diversity in the surroundings of Uvita Island, Costa Rica

Nelson Muñoz Simon<sup>1\*</sup>, Lilliana Piedra Castro<sup>1</sup>, Ricardo Jiménez Montealegre<sup>1</sup>,  
José Pereira Chaves<sup>1</sup>, Meyer Guevara Monge<sup>1</sup> y Gilberto Piedra Marín<sup>2</sup>

### RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la posible afectación del emisario submarino en la ciudad de Limón, sobre el medio marino circundante, se establecieron 6 estaciones de muestreo, 4 de ellas cercanas a la zona de desfogue y 2 controles; en cada una se tomaron muestras de agua a 0 m y 10 m durante el 2012-2013 para medir nutrientes, parámetros fisicoquímicos, concentración de microalgas y cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Enterococcus*. Se contrastó la abundancia algal entre las estaciones bajo influencia del emisario, sus controles y entre profundidades, con un análisis de similitud (ANOSIM); en los casos en que hubo diferencia significativa se procedió a realizar un análisis SIMPER para determinar las especies responsables. La abundancia fitoplanctónica se utilizó para jerarquizar la dominancia de especies mediante el diagrama de Olmstead y Tukey e incorporarlas en un análisis de correspondencia canónica. Se determinó que en la zona existe una marcada influencia de las lluvias sobre la concentración de los nutrientes, silicato y ortofosfato, además de parámetros como el oxígeno disuelto y la salinidad. Las UFC se mantuvieron por debajo del límite máximo de 35 UFC/100 mL establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA). La diversidad fitoplanctónica fue alta y estuvo compuesta, principalmente, por especies cosmopolitas. Debido a que la concentración de nutrientes y UFC son bajas, junto con una alta diversidad algal, se concluye que no existe evidencia directa de un impacto negativo del emisario sobre la zona estudiada.

- 1 Escuela de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional, Costa Rica. [nelson.munoz.simon@una.cr](mailto:nelson.munoz.simon@una.cr)\* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9626-016X>, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4878-1531>, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0146-0303>, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6056-3364>, ORCID <https://orcid.org/0000-0002-7873-7489>
- 2 Escuela de Química. Universidad Nacional, Costa Rica. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1332-236X>

**Palabras clave:** Aguas residuales, calidad del agua, *Enterococcus*, microalgas, nutrientes

## ABSTRACT

In order to assess the possible impact of the marine outfall of the city of Limón on the surrounding marine environment, six sampling stations were established, four near the vent zone and two controls. Water samples were taken in each station 0m and 10m deep during 2012-2013 to measure nutrients, physicochemical parameters, microalgae concentration, and colony forming units (CFU) of *Enterococcus*. Microalgae abundance was compared between stations under outfall influence, their controls and depths using an analysis of similarities (ANOSIM). A SIMPER analysis was also conducted to determine species when significant differences were found. Phytoplankton abundance was also used to rank the dominance of species using the Olmstead-Tukey diagram and a canonical correspondence analysis. Results showed that in the area, there is a marked influence of rainfall on nutrients, silicate and orthophosphate, in addition to parameters such as dissolved oxygen and salinity. The dissolved oxygen concentration was high, reflecting that there is no significant organic load in the environment, while CFUs remained in ranges well below the maximum limits (35 UFC/100 mL) set by the United States Environmental Protection Agency (USEPA). Phytoplankton diversity was high and composed mostly of cosmopolitan species. Due to the low nutrient concentration and CFU counts, together with the high microalgae diversity, it is concluded that there is no direct evidence of a negative impact of the marine outfall on the studied area.

**Keywords:** Wastewater, water quality, *Enterococcus*, microalgae, nutrients

## INTRODUCCIÓN

Un emisario submarino es considerado la etapa final de todo un proceso de tratamiento de aguas residuales. Está conformado por varios difusores que se ubican en el fondo de la columna de agua y hacia los cuales se bombean las aguas tratadas; la descarga forma una pluma que se desplaza por debajo de la termoclina, al mismo tiempo que se diluye, y evita que los efluentes cargados de nutrientes y patógenos lleguen a la superficie donde podrían causar problemas de contaminación (Parnell, 2003; Ramírez & Salazar, 2005).

Países como Estados Unidos (Parnell, 2003), Chile (Toledo *et al.* 2005), Argentina (Cuello *et al.* 2019), y algunos otros han empleado emisarios submarinos desde hace muchos años con resultados prometedores, por ello este tipo de estructura se ha vuelto muy común en el mundo, incluso en Latinoamérica, donde actualmente se encuentran en operación unas 104 unidades (Salas, 2000).

En el año 2005 iniciaron las operaciones del primer emisario submarino de Costa Rica, ubicado en la ciudad de Limón, el cual beneficia a unos 70 000 habitantes (Carvajal, 2005). La estructura es administrada por una institución autónoma del Estado

costarricense (Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados), tiene una capacidad de flujo de 200 l/s, y su tubería se adentra unos 800 m en el mar, donde se hace la liberación de los efluentes a una profundidad de 17 m (Ávalos, 2004).

Este tipo de proyecto ha generado cuestionamientos sobre la posible afectación en el medio circundante, pues es necesario garantizar a la población el mínimo impacto en el ecosistema marino; por ello el Estado costarricense se ha comprometido, a través del ente operador, a mantenerse vigilante de la correcta operación del emisario mediante un programa de monitoreo (PROIGE- AyA, 1999). Estos programas permiten dar un seguimiento continuo para evaluar la correcta operación, y, en caso de anomalías, dar la alerta temprana para ejecutar las medidas correctivas.

Es necesario garantizar que los parámetros a vigilar sean los más adecuados para la toma de decisiones (Gianesella *et al.* 1999). Debido a que uno de los efectos más perjudiciales de este tipo de obra está relacionados con la eutrofización (Parnell, 2003), es necesario llevar a cabo un programa de muestreo que sea capaz de discernir cuál o cuáles parámetros fisicoquímicos y biológicos podrían haber sido alterados de manera activa por las descargas del emisario; o en su defecto, brindar indicadores que, de manera rápida y económicamente rentable, sean

capaces de brindar información sobre el estado del ecosistema.

El presente estudio tuvo como finalidad evaluar la calidad del agua, la abundancia y diversidad fitoplanctónica en 6 puntos alrededor de isla Uvita, para establecer si existen efectos negativos causados por las descargas del emisario submarino de la ciudad de Limón sobre el medio circundante.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La zona de estudio se ubica en el Caribe costarricense. El promedio de lluvias es de 3 574.9 mm y no se presenta una estación seca bien definida; en septiembre la precipitación promedio alcanza 45.3 mm, lo que corresponde al valor mensual mínimo (Instituto Meteorológico Nacional, 2016). Se reconocen 2 periodos bien definidos de lluvia: de noviembre a enero, y de mayo a agosto (Instituto Meteorológico Nacional, 2016), siendo diciembre y julio los meses más lluviosos, con promedios de precipitación de 440.6 mm y 438.2 mm respectivamente. De acuerdo con el registro histórico el año con mayores precipitaciones fue 1944 y el más seco 1995 (Instituto Meteorológico Nacional, 2016). Las temperaturas más bajas se registran entre diciembre y enero, y las más altas durante los meses de mayo a septiembre (Instituto Meteorológico Nacional, 2016, Marín *et al.* 2009).

El emisario submarino se encuentra ubicado a 800 metros de la costa, a una profundidad de 20 m, está conformado por un tramo de 200 m, dotado de 30 difusores y una capacidad de desfogue de 200 L/s. Limita al este con la isla Uvita y al oeste con la costa de Limón. Entre ambos puntos se define un pasaje natural con una corriente marina que se dirige de norte a sur, a una velocidad promedio de 0.90 km/h (PROIGE-AyA, 1999).

Los valores de precipitación de la zona fueron obtenidos de: Morera (2012), Naranjo & Poleo (2012); Naranjo (2013) y Chinchilla (2013).

En total se llevaron a cabo 4 muestreos para registrar los parámetros físico-químicos y biológicos, uno

por mes, entre setiembre y octubre del 2012, y marzo y setiembre del 2013, en 6 estaciones en los alrededores de isla Uvita (Fig. 1). Las estaciones E1 (ubicada sobre el emisario), E2, E3 y E4 se designaron como zonas bajo influencia, mientras que E5 y E6 se utilizaron como puntos de control. En todas las estaciones se tomaron 2 muestras de 3 L con una botella Niskin, una a 0 m y otra a 10 m de profundidad. Del volumen total se apartó una alícuota de 250 ml para medir *in situ* la concentración de oxígeno disuelto, la salinidad y la temperatura con un multiparámetro HANNA, modelo HI9033. Mientras que el pH se midió con un potenciómetro HANNA, modelo HI98130.

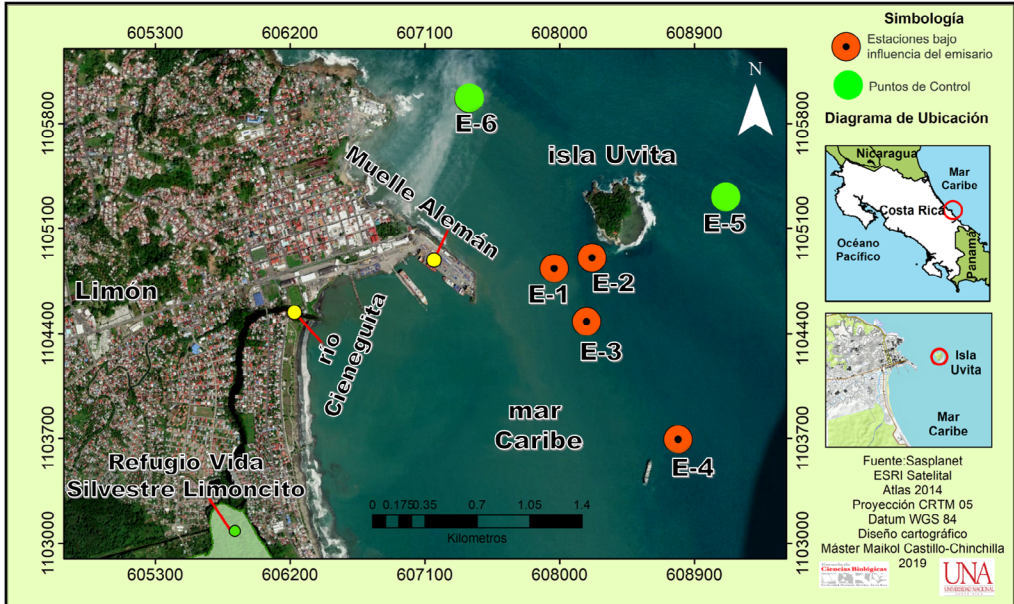


Fig. 1. Área de estudio y ubicación estaciones de muestreo

Fig. 1. Study area and location of sampling stations

Del volumen restante se tomaron 250 ml para medir sólidos totales y 250 ml para cada uno de los nutrientes (nitrato, nitrito, amonio-amoniaco, ortofosfatos y silicatos). Todas las muestras se mantuvieron en hielo hasta su llegada al laboratorio de Química Marina de la Universidad Nacional en Heredia, donde fueron conservadas a  $-10^{\circ}\text{C}$  para su posterior análisis. Para la determinación de amonio-amoniaco, las muestras se fijaron previamente con unas gotas de ácido sulfúrico concentrado.

Los sólidos totales se midieron con la metodología propuesta por [Clesceri et al. \(1999\)](#). Las tres formas inorgánicas del nitrógeno disuelto se determinaron de la siguiente forma: El amonio-amoniaco ( $\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NH}_3$ ) se cuantificó según el método del azul de indofenol ([Tinoco, 2007](#)), el nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) mediante la espectrofotometría ultravioleta ([Hansen y Koroleff, 2007](#)), mientras que el nitrito ( $\text{N-NO}_2^-$ ) según la metodología 420 de [Hansen y Koroleff \(2007\)](#). Por su parte, la concentración de ortofosfato inorgánico disuelto ( $\text{P-PO}_4^{3-}$ ) se determinó con el método colorimétrico del ácido vanado-molibdo-fosfórico ([Hansen & Koroleff, 2007](#)), y los silicatos se analizaron por el método del metol, según lo propone [Tinoco \(2007\)](#).

Para determinar la densidad algal se tomaron submuestras de un litro y se fijaron con Lugol ácido. Después se procesaron según el método de concentración en probetas, y la cantidad

de algas en cada estación se contó por triplicado, en celdas de Palmer-Maloney ([Sournia, 1978](#)).

Adicionalmente, se tomaron muestras cualitativas de fitoplancton en cada estación, haciendo arrastres horizontales de 2 minutos con una red de fitoplancton de 20 micrómetros. El volumen final de cada colecta se fijó con Lugol ácido y se mantuvo en la oscuridad. Para cada muestra se identificaron las microalgas presentes en el nivel de especie, con la ayuda de un microscopio de luz Olympus, modelo BX 75. Los datos obtenidos en los conteos se utilizaron para calcular los índices de diversidad de Shannon y de dominancia de Simpson, los cuales se promediaron tanto para las estaciones con influencia como para los controles. También, los datos se utilizaron para calcular las frecuencias de aparición de cada especie.

La cuantificación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de *Enterococcus* se llevó a cabo según el método 1600 propuesto por la [USEPA \(2006\)](#), a partir de muestras de 300 ml tomadas en cada estación de muestreo y dos controles positivos ubicados bajo el puente del río Cieneguita y su desembocadura.

Los datos físico-químicos y ambientales se integraron en un análisis de componentes principales ([Varona-Cordero et al. 2010](#)) que utilizan la extensión XLSTAT (versión 2018) para MS Excel. A continuación, se

realizó un PERMANOVA para establecer diferencias estadísticamente significativas en la matriz ambiental entre fondo vs superficie y zona de influencia vs controles, previa estandarización de los datos ( $P < 0.05$ ), por medio del paquete Vegan en R (Oksanen *et al.* 2019).

Los datos biológicos transformados a la cuarta raíz y normalizados se utilizaron para llevar a cabo un análisis ANOSIM y SIMPER (Vidal *et al.* 2017; Stanca & Parsons, 2017) que sigue los mismos criterios establecidos para los factores físico-químicos. Por otra parte, la dominancia de especies fue jerarquizada mediante el diagrama de Olmstead-Tukey (Sokal & Rohlf, 1970). Finalmente, las especies dominantes obtenidas con el diagrama de Olmstead-Tukey se utilizaron para llevar a cabo un Análisis de Correspondencia Canónica (Varona-Cordero *et al.* 2010).

## RESULTADOS

Los valores de precipitación pluvial para noviembre y octubre del 2012 fueron de 139.6 mm y 88 mm respectivamente, mientras que para marzo y setiembre de 2013 fueron de 315.5 mm y 111.9 mm correspondientemente.

En el análisis de componentes principales (ACP, Fig. 2) los 3 primeros ejes explican el 87.3% del total de la variabilidad. Las variables

precipitación (0.89), silicatos (0.35) y oxígeno disuelto (0.27) aportaron la mayor contribución en el primer componente (PC1). En el segundo componente (PC2) fueron las variables silicatos (0.88), amonio (0.61) y temperatura.

En el gráfico biplot, entre el primer y cuarto cuadrante se ubican aquellas estaciones de muestreo que se distribuyen a lo largo de un gradiente de concentración de silicato, nitrato y ortofosfato, la gran mayoría de ellas corresponden al primer muestreo y solamente 3 al cuarto (Fig. 2). Las mayores concentraciones de ortofosfatos y nitrato se registraron durante el primer muestreo, mientras que los valores de silicatos fueron mayores en el tercero y el primero.

En los cuadrantes I y II se ubican las estaciones cuyos datos fueron obtenidos en el tercer muestreo, en ellas existe una clara separación entre la superficie y el fondo (designados como A y B comparativamente). La variación en A, donde se ubican estaciones de superficie, está claramente definida por el silicato, el oxígeno disuelto y la precipitación, mientras que en B hay una influencia de las precipitaciones y el oxígeno disuelto. En el tercer cuadrante se ubicaron los puntos de colecta relacionados con una disminución de la precipitación, los silicatos y un leve aumento del ortofosfato y el nitrato, sobre todo durante el segundo muestreo.

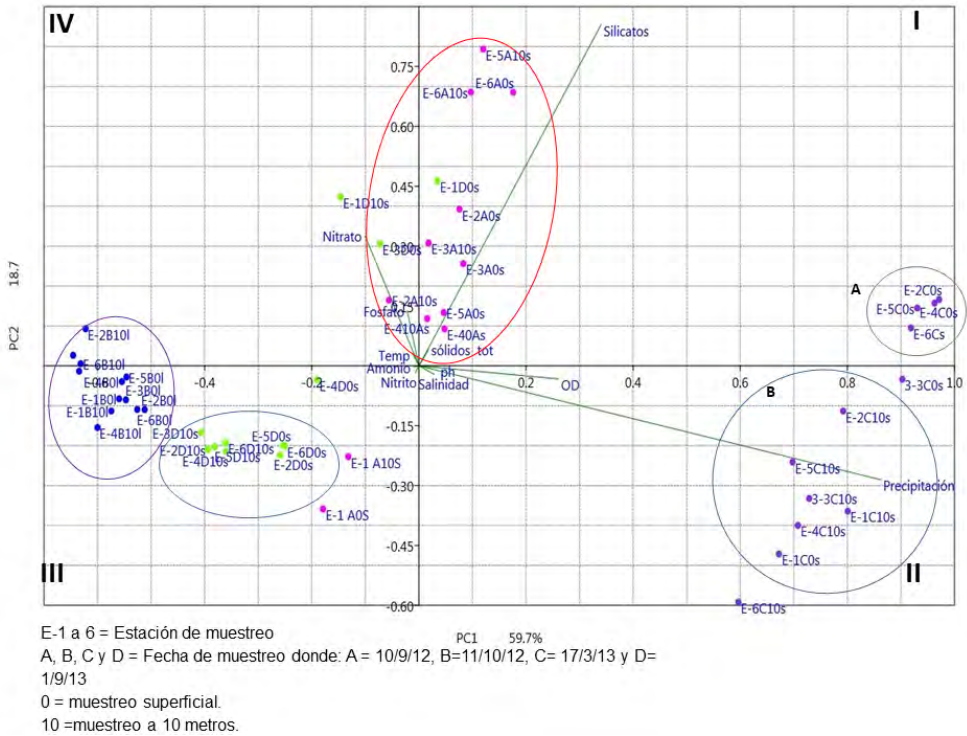


Fig. 2. Biplot del análisis de componentes principales (ACP) de las variables fisicoquímicas en estaciones bajo influencia del emisario submarino de Limón y sus controles según profundidad

Fig. 2. Principal Components Biplot of the physicochemical variables in stations under the influence of Limón’s marine outfall and its controls according to depth

Según los resultados del PERMANOVA, las variables fisicoquímicas arrojaron leves diferencias entre la superficie y el fondo ( $R^2 = 0.08047$ ,  $F(1;47) = 4.0257$ ;  $P < 0.05$ ), mientras que los controles y las zonas de influencia mostraron ser similares entre ellos ( $R^2 = 0.00743$ ,  $F(1;47) = 0.34421$ ,  $P > 0.05$ ).

La mayor cantidad de unidades formadoras de colonias de *Enterococcus* se obtuvo en los puntos de

control positivo, con valores de 1 800 y 1 550 UFC en las estaciones puente del **río Cieneguita y desembocadura, respectivamente** (Cuadro 1). En los puntos con influencia del emisario submarino la mayor cantidad de UFC se registró en la estación E-1, con un total de 19.5 UFC durante octubre del 2012. En las estaciones control, el mayor conteo se obtuvo en la estación E-6 con un total de 12 UFC y el menor de 1 UFC en E-5.

Cuadro 1. Cantidad de Unidades Formadoras de Colonias de *Enterococcus* dentro y fuera de la zona influencia del emisario submarino de Limón durante el periodo 2012-2013

Table 1. Amount of *Enterococcus* CFUs inside and outside the influence zone of Limón's marine outfall during the 2012-2013 period

Controles positivos			Estaciones bajo influencia del emisario				Estaciones sin influencia del emisario	
Fecha de muestreo	Puente Cieneguita	Desembocadura río Cieneguita	E-1	E-2	E-3	E-4	E-5	E-6
10/9/2012	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
11/10/2012	1 800	1 550	19.5	16.5	4	5	12	17
17/3/2013	900	850	1	2.5	2.5	4	1	2.5
1/9/2013	524	395	4	19	3.5	8	2	2

A partir del análisis de varianza de una vía, no se determinó diferencia significativa en relación con la cantidad de unidades formadoras de colonias de *Enterococcus* entre las zonas bajo influencia del emisario submarino y las zonas fuera de su influencia ( $P = 0.99$ ,  $\alpha = 0.005$ , gl 23). Al comparar las zonas con influencia contra los controles positivos (puente y desembocadura del río Cieneguita), se obtuvieron diferencias significativas ( $P = 0.004$ ,  $\alpha = 0.005$ , gl 23 y  $P = 0.002$ ,  $\alpha = 0.005$ , gl 23, en orden).

En las estaciones bajo influencia del emisario la mayor densidad algal fue de 28 100 cél/L, misma que correspondió a la E-2 durante marzo de 2013 (Fig. 3), y la densidad más baja registrada fue de 500 cél/L en la estación 4, en octubre de 2012.

A 10 metros de profundidad las estaciones ubicadas cerca de la zona de desfogue obtuvieron un máximo de 16 200 cél/L en la estación E-3, en marzo de 2013 y un mínimo de 5 150 cél/L en E-4, durante marzo del mismo año. El segundo valor en importancia se registró en E-2 con un total de 12 550 cél/L, en setiembre del 2012.

Las estaciones sin influencia del emisario, ubicadas a la profundidad de 10 metros, obtuvieron un promedio de 5 500 cél/L, siendo la E-6 la que reporta la concentración más alta de fitoplancton (8 700 cél/L), mientras que el valor mínimo de 2 600 cél/L se reportó en la E-5, en marzo de 2013.

En las muestras de red (Cuadro 2) se identificaron 123 especies microalgales, de ellas 86 fueron diatomeas, 29 dinoflagelados, 5 cianobacterias y 3



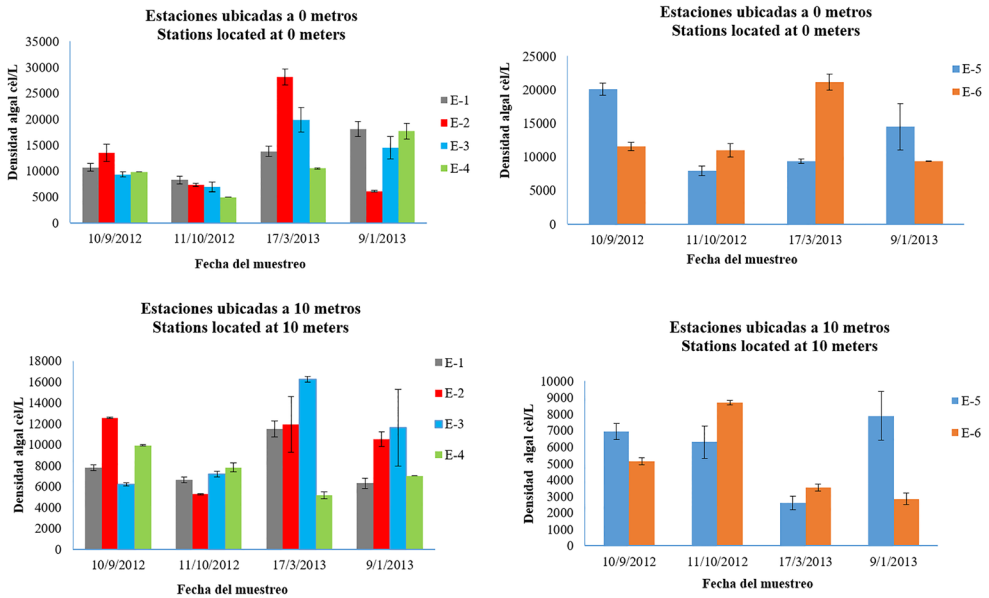


Fig. 3. Concentración de microalgas a 0 y 10 metros en 4 estaciones bajo la influencia del emisario submarino de Limón y sus controles

Fig. 3. Microalgae concentration 0 and 10 meters deep in four stations within the influence of Limón's marine outfall and its controls

corresponden a fitoflagelados diversos. Dentro de las diatomeas *Skeletonema costatum*, *Rhizosolenia stolterfothii*, *Thalassionema nitzschioides* y varias especies de *Chaetoceros* sp. son muy frecuentes, tanto espacial como temporalmente. Dentro de las especies menos comunes que se identificaron se pueden citar: *Odontella longicruris*, *Oltmannsiellopsis* sp. y algunas diatomeas pennadas que solo se observaron en uno o dos muestreos.

La diversidad promedio en la zona bajo influencia del emisario submarino en el nivel de superficie mostró poca variación entre las fechas de muestreo (Fig. 4). Los valores oscilaron entre 2.30 bits/cél a 2.87 bits/cél, mientras que el promedio de la dominancia se mostró baja. En las estaciones control, el índice de Shannon registró valores más altos en octubre del 2012 y el 17 de marzo de 2013, que coinciden con una disminución de la dominancia.

Cuadro 2. Especies fitoplanctónicas presentes en 4 estaciones bajo influencia del emisario submarino de Limón y 2 fuera de esa influencia  
 Table 2. Phytoplankton species present in four stations under the influence of Limón's marine outfall and two without influence

Estación	E-1	E-2	E-3	E-4	E-5	E-6
<b>Bacillariophyceae</b>						
<i>Actinoptychus undulatus</i> (Kützing) Ralfs 1861	+		+		+	
<i>Amphiprora</i> sp.	+		+			
<i>Asterionella japonica</i> Cleve 1882	+++	++	++	++	+	++
<i>Asteromphalus hyalinus</i> Karstsen 1905	++	+			+	+++
<i>Bacteriastrium delicatulum</i> Cleve 1897	+++	+++	+++	+++	++	++
<i>Bacteriastrium elongatum</i> Cleve 1897	+++	++	+++	+++	+++	+
<i>Biddulphia mobiliensis</i> Grunow 1882			+	++	+	+
<i>Ceratoneis closterium</i> Ehrenberg 1839			+	+		+
<i>Cerataulina pelagica</i> Hendey 1937	++	+++	+	++	++	+++
<i>Chaetoceros affinis</i> Lauder 1864	++++	++++	+++	++	++++	+++
<i>Chaetoceros atlanticus</i> Cleve 1873	++++	+++	+++	++++	+++	+++
<i>Chaetoceros brevis</i> F.Schütt 1895	+	+		+		
<i>Chaetoceros</i> cf. <i>mitra</i> (Bailey) Cleve 1896	+		+	++	++	+
<i>Chaetoceros coarctatus</i> Lauder 1864	+	++			+	+
<i>Chaetoceros comprsessus</i> Lauder 1864	++	+	+	++	++	
<i>Chaetoceros constrictus</i> Gran 1897	+++	++	+		+	++
<i>Chaetoceros costatus</i> Pavillard 1911	+	+	+	+	+	+
<i>Chaetoceros curvisetus</i> Cleve 1889	++++	++++	+++	+++	++++	+

<b>Estación</b>						
<b>Especie</b>	<b>E-1</b>	<b>E-2</b>	<b>E-3</b>	<b>E-4</b>	<b>E-5</b>	<b>E-6</b>
<i>Chaetoceros decipiens</i> Cleve 1873	++++	++++	++ ++	++++	+++	+++
<i>Chaetoceros didymus</i> Ehrenberg 1845	+++		+++	++	++	++
<i>Chaetoceros diversus</i> Cleve 1873	+	+	+			+
<i>Chaetoceros laciniosus</i> Schütt 1895	+++	++	+	++++	+	+++
<i>Chaetoceros laevis</i> Leuduger-Fortmorel 1892	+++	+++	++	+++	+++	++
<i>Chaetoceros lorenzianus</i> Grunow 1863	+	+	+	+		+
<i>Chaetoceros pendulus</i> Karsten 1905	+			+		
<i>Chaetoceros peruvianus</i> Brightwell 1856	+++	+	++	+++		++
<i>Chaetoceros pseudocurvisetus</i> Mangin 1910	+		+	+	+	
<i>Chaetoceros</i> sp1.	++	+		+		
<i>Chaetoceros</i> sp2.	++	+		+	+	+
<i>Chaetoceros</i> sp3.					+	
<i>Chaetoceros subtilis</i> Cleve 1896	++	+	++	+	++	++
<i>Cylindrotheca closterium</i> (Ehrenberg) Reimann & J. C. Lewin, 1964	+		++	++	++	+
<i>Corethron</i> sp.	+	+				++
<i>Coscinodiscus concinnus</i> W. Smith 1856	+++	++	++	+++	+++	+++
<i>Cyclotella comensis</i> Grunow 1882		+		+	+	+
<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing 1844	++	+	+	+	+	+
<i>Cyclotella</i> sp.	++	++	+	+	+	+
<i>Cymbella</i> sp.		++		+		
<i>Dactyliosolen fragilissimus</i> (Bergon) Hasle 1996		+	+	+	+	+

<b>Estación</b>						
<b>Especie</b>	<b>E-1</b>	<b>E-2</b>	<b>E-3</b>	<b>E-4</b>	<b>E-5</b>	<b>E-6</b>
<i>Dactyliosolen</i> sp.	+					
<i>Ditylum brightwellii</i> (T. West) 1885	++	+	++	++	++	+
<i>Eucampia</i> cf <i>zodiacus</i> Ehrenberg 1839		+	+		+	+
<i>Grammatophora</i> sp.	+++	+	+			
<i>Guinardia striata</i> (Stolterfoth) Hasle 1996	++	+		+++	++++	++
<i>Guinardia flaccida</i> (Castracane) H. Peragallo 1892	+++	++	++		++	++
<i>Hemiaulus hauckii</i> Grunow ex Van Heurck 1882	+++	+++	+++	++	+++	+++
<i>Hemiaulus membranaceus</i> Cleve 1873	++++	+++	++	+++	++++	+++
<i>Lauderia annulata</i> Cleve 1873			+	+		
<i>Leptocylindrus danicus</i> Cleve 1889	++++	+++	+++	+++	++++	++
<i>Lioloma pacificum</i> (Cupp) Hasle 1996	++	+				+
<i>Lithodesmium undulatum</i> Ehrenberg 1839	+				+	+
<i>Melosira</i> sp.		+	+			+
<i>Meuniera membranacea</i> (Cleve) P.C.Silva 1996	+	+	+		+	
<i>Navicula</i> sp.	+	+	+	+	++	++
<i>Nitzschia pungens</i> Grunow ex Cleve 1897	++	+	+	+	+	+
<i>Nitzschia pungens</i> var <i>atlantica</i> Cleve 1897	+++	++	++	++	++	++
<i>Odontella longicruris</i> (Greville) M.A. Hoban 1983	+					
<i>Oltmannsiellopsis</i> Sp.			+			+
<i>Pinnularia</i> sp.	+		+	+		
<i>Pleurosigma angulatum</i> (J. T. Quekett) W. Smith 1852	+	+	++	+		+
<i>Pleurosigma</i> sp.	+		+			

<b>Estación</b>						
<b>Especie</b>	<b>E-1</b>	<b>E-2</b>	<b>E-3</b>	<b>E-4</b>	<b>E-5</b>	<b>E-6</b>
<i>Proboscia alata</i> (Brightwell) Sundström, 1986	+	+	+++	++	++	++
<i>Pseudo-nitzschia</i> sp.	+	+				
<i>Pseudo-nitzschia pungens</i> (Grunow ex Cleve) Hasle 1993	++	++	++	++	+++	+++
<i>Pseudosolenia calcar-avis</i> (Schultze) B. G. Sundström 1986	+++	++	++	+	+	++
<i>Rhizosolenia acuminata</i> (H.Peragallo) H. Peragallo 1907	+		+			
<i>Rhizosolenia hebetata</i> Bailey 1856			+		+	++
<i>Rhizosolenia robusta</i> G. Norman ex Ralfs 1861		+	+		++	+
<i>Rhizosolenia</i> cf. <i>polydactyla</i> Castracane 1886	+			+		
<i>Rhizosolenia imbricata</i> Brightwell 1858	+				+	+
<i>Rhizosolenia setigera</i> Brightwell 1858	+++	+	+++		++++	++
<i>Rhizosolenia stolterfothii</i> H. Peragallo 1888	+++	+++	++	+++	+++	++
<i>Skeletonema costatum</i> (Greville) Cleve 1878	+++	+++	++	+++	+++	++
<i>Stephanopyxis</i> sp.	+	+		+		
<i>Thalassionema nitzschioides</i> (Grunow) Mereschkowsky 1902	+++	+++	++	+++	+++	++
<i>Thalassiosira nana</i> Lohmann 1908	+	+			+	+
<i>Thalassiosira</i> sp.			++	+++	++	+
<i>Thalassiothrix frauenfeldii</i> Grunow 1880		++	++	++	++	+
<i>Thalassiothrix longissima</i> Cleve & Grunow 1880	+	++	+	++	++	++
<b>Dinophyceae</b>						
<i>Ceratium furca</i> (Ehrenberg) Claparède & Lachmann 1859	+++	+++	++	++		++
			++			++

<b>Estación</b>						
<b>Especie</b>	<b>E-1</b>	<b>E-2</b>	<b>E-3</b>	<b>E-4</b>	<b>E-5</b>	<b>E-6</b>
<i>Ceratium fusus</i> (Ehrenberg) Dujardin 1841		+		+		
<i>Ceratium horridum</i> (Cleve) Gran 1902		+	+	+		
<i>Ceratium macroceros</i> (Ehrenberg) Vanhöffen 1897		++			++	+
<i>Ceratium pentagonum</i> Gourret 1883	+	++				+
<i>Ceratium</i> sp.		+			+	+
<i>Ceratium trichocereus</i> (Ehrenberg) Kofoid 1908					+	+
<i>Ceratium tripos</i> (O.F.Müller) Nitzsch 1817			+			
<i>Dinophysis caudata</i> Saville-Kent 1881			+		+	+
<i>Gonyaulax digitale</i> (Pouchet) Kofoid 1911			+			+
<i>Gymnodinium</i> sp.		+	+		+	+
<i>Gymnodinium</i> sp. <i>redondeado</i>					+	
<i>Gymnodinium</i> cf. <i>pulchellum</i> J. Larsen 1994					+	+
<i>Gyrodinium</i> sp.					+	
<i>Heterocapsa</i> sp.	+	+	+	+	+	+
<i>Phalacroma rotundatum</i> (Claparède & Lachmann) Kofoid & J. R. Michener 1911					++	+
<i>Prorocentrum micans</i> Ehrenberg 1834	++	++	++	+++	++++	++ ++
<i>Prorocentrum mínimum</i> (Pavillard) J.Schiller 1933	++	+	+		+	+
<i>Protoperidinium conicum</i> (Gran) Balech 1974	+	+	+	+		+
<i>Protoperidinium divergens</i> (Ehrenberg) Balech 1974						
<i>Protoperidinium oceanicum</i> (VanHöffen, 1897) Balech 1974	+		++	++	+	+

Estación	E-1	E-2	E-3	E-4	E-5	E-6
<i>Protoperidinium pellucidum</i> Bergh 1881	+	+	+	++	+	++
<i>Protoperidinium pentagonum</i> (Gran) Balech 1974		+		+	+	+
<i>Protoperidinium</i> sp.	++	++	+	++		
<i>Pyrophacus steinii</i> (Schiller) Wall & Dale 1971	+			+		
<i>Scrippsiella trochoidea</i> (F.Stein) A. R.Loeblich III 1976	+	+			++	+
Dinoflagelado no id	+		+			
<b>Cyanophyceae</b>						
Ciano no id 1	+					
<i>Oscillatoria</i> sp.		+		+	+	+
<i>Phormidium</i> sp.		+	+			
<i>Synechocystis</i> sp.	+	+	+			
<i>Johannesbaptistia pellucida</i> (Dickie) W.R.Taylor & Drouet in Drouet 1938	+	+	+		++	++
<b>Chlorophyceae</b>						
<i>Euglena</i> sp.	+	++	++	+	++	++
<i>Eutreptiella</i> sp.	+					
<b>Otros grupos</b>						
Fitoflagelado no id	+	+				

+ Muestreo 10/09/2012. + Muestreo 11/10/2012. + Muestreo 17/03/2013. + Muestreo 01/03/2013

A 10 metros de profundidad y en la región de influencia del emisario, se obtuvieron índices de diversidad bajos en comparación con su contraparte en la superficie; mientras que en la región fuera de la influencia se registraron valores levemente mayores, que oscilan entre 2.44 bits/cél y 2.85 bits/cél. La dominancia fue baja en todos los

puntos de muestreo, con un mínimo de 0.06 bits/cél y el máximo de 0.23 bits/cél.

Según el diagrama de Olmstead-Tukey (Fig. 5) 34 especies fueron dominantes, una de las cuales fue el dinoflagelado *Protoperidinium* sp. y el resto diatomeas. De estas, *T. nitzschioides* y *S. costatum*

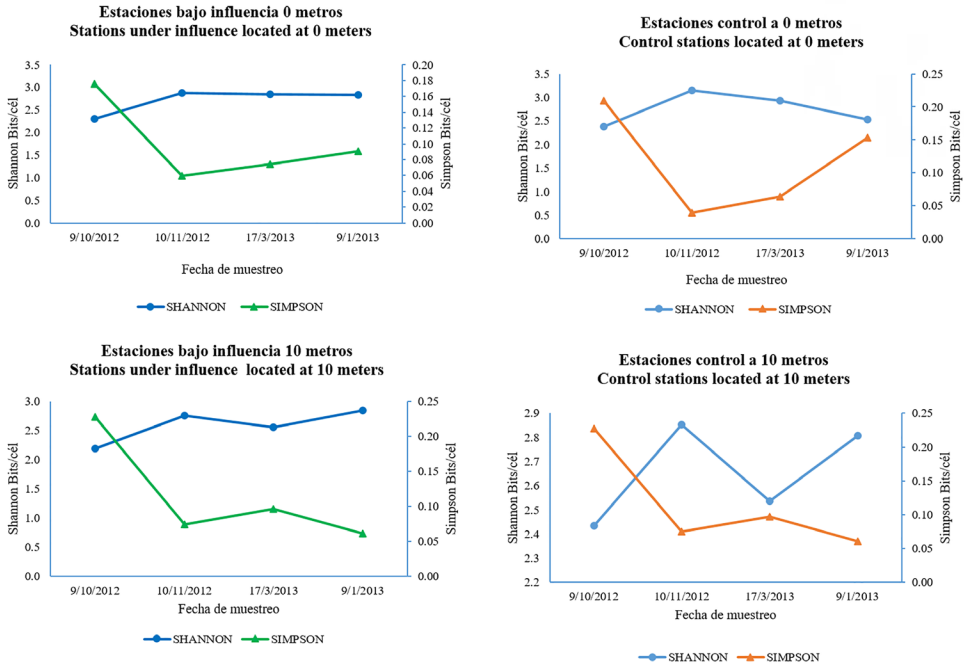


Fig. 4. Valor promedio de los Índices de diversidad Shannon Wiener y dominancia de Simpson para estaciones bajo influencia del emisario submarino y sus controles según profundidad

Fig. 4. Average value of the Shannon Wiener diversity index and Simpson's dominance index for stations under the influence of the marine outfall and its controls according to depth

fueron las más frecuentes, seguidas por *Pseudonitzschia pungens*, junto con *Chaetoceros descipiens* y *R. stolterfothii*. Las especies consideradas como raras fueron 29, entre ellas 2 cianobacterias, 12 dinoflagelados y 19 diatomeas. Entre los dinoflagelados más frecuentes estuvieron *Prorocentrum micans* y *Prorocentrum minimum*, seguidos por *Protopteridinium oceanicum* y *Protopteridinium pellucidum*. Las especies raras más frecuentes de diatomeas fueron *Rhizosolenia*

*hebetata*, *Rhizosolenia acuminata* junto con *Chaetoceros atlanticus*. Las especies ocasionales fueron 9; entre ellas 3 dinoflagelados y 6 diatomeas, de las cuales *Chaetoceros didymus* y *Chaetoceros compressus* fueron los más frecuentes. Para esta investigación no se registraron especies constantes.

Con respecto a la abundancia de microalgas se logró evidenciar que no existe diferencia significativa entre la zona de influencia y los controles ( $R = 0.069$   $P = 0.12$ ), pero sí entre la superficie y el fondo ( $R = 0.14$   $P = 0.001$ ).



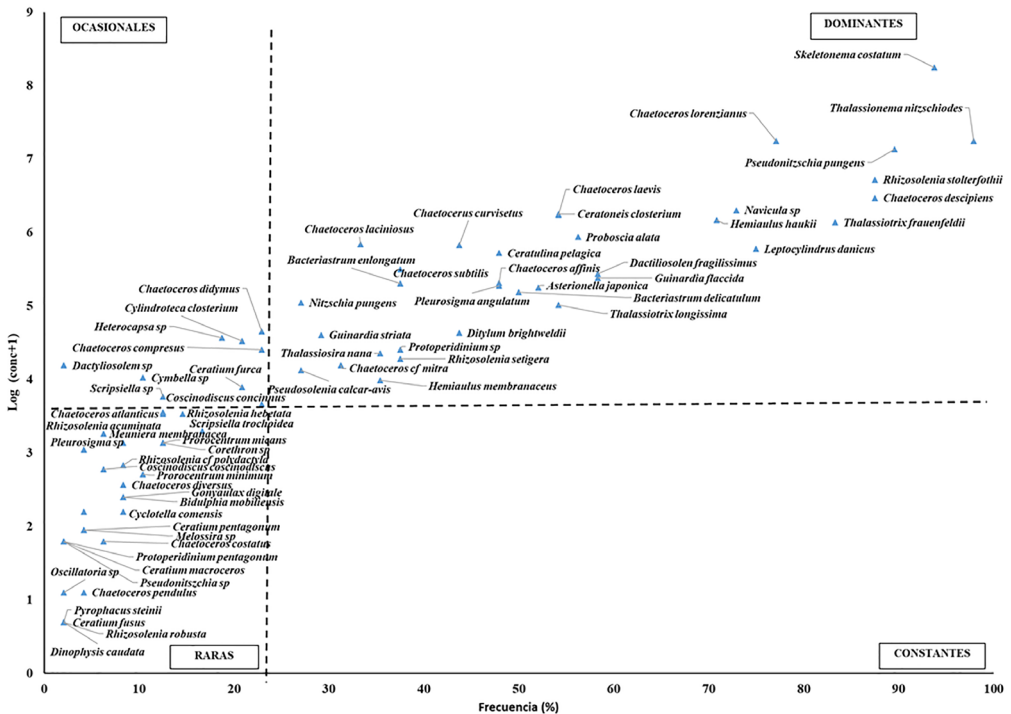


Fig. 5. Diagrama de Olmstead- Tukey de las especies fitoplanctónicas para 6 estaciones de muestreo alrededor de isla Uvita; Limón, Costa Rica

Fig. 5. Olmstead-Tukey diagram of phytoplankton species for six sampling stations around Uvita Island; Limón, Costa Rica

En total, 22 especies fitoplanctónicas fueron las que aportaron las mayores disimilitudes entre la superficie y el fondo. *S. costatum* fue una de las más importantes, con una concentración promedio en la superficie de 2 000 cél/L y de 1 350 cél/L en el fondo, lo que corresponde a un aporte del 18.5% de disimilitud. Otras especies como *Cerataulina pelagica*, *Hemiaulus hauckii* y *Chaetoceros curvisetus* aportan valores de disimilitud de entre 3.0 y 2.2 (Cuadro 3).

Un total de 33 especies fitoplanctónicas y 10 variables ambientales fueron utilizadas para el análisis de correspondencia canónica (Fig. 6). La respuesta de las especies a las variables ambientales fue explicada, en específico, por los tres primeros ejes (71%), siendo el primero el más importante con un 33.3%. Este eje se halla fuertemente relacionado con la precipitación, la temperatura, el amonio, y los silicatos. Por otro lado, las variables temperatura, silicato, nitrato y oxígeno disuelto son las más destacadas para el segundo eje.

Cuadro 3. Análisis SIMPER de las disimilitudes promedio en la concentración de especies fitoplanctónicas entre estaciones bajo influencia del emisario submarino y sus controles

Table 3. SIMPER analysis of the average dissimilarities of phytoplankton concentration between stations under the influence of the marine outfall and its controls

<b>Especie</b>	<b>Promedio Superficie (cél/L)</b>	<b>Promedio fondo (cél/L)</b>	<b>Sd de la disimilitud</b>	<b>% de contribución</b>
<i>Skeletonema costatum</i>	2 000	1 350	1.1	18.5
<i>Pseudonitzschia pungens</i>	1 083	398	0.7	9.4
<i>Chaetoceros lorenzianus</i>	840	435	1.3	7.4
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	835	833	1.2	6.3
<i>Rhizosolenia stolterfothii</i>	750	292	1.1	5.3
<i>Asterionella japonica</i>	354	221	0.5	3.7
<i>Nitzschia pungens</i>	260	144	0.6	3.6
<i>Chaetoceros decipiens</i>	473	191	1.2	3.5
<i>Navicula</i> sp.	179	344	0.6	3.4
<i>Cerataulina pelagica</i>	314	113	1.0	3.0
<i>Leptocylindrus danicus</i>	300	190	1.2	2.6
<i>Dactyliosolen fragilissimus</i>	271	65	0.9	2.5
<i>Hemiaulus hauckii</i>	317	77	1.0	2.4
<i>Thalassiotrix frauenfeldii</i>	300	223	1.2	2.3
<i>Chaetoceros laevis</i>	235	79	0.8	2.3
<i>Chaetoceros curvisetus</i>	288	25	0.8	2.2
<i>Ceratoneis closterium</i>	154	135	1.1	2.0
<i>Chaetoceros subtilis</i>	133	54	0.8	1.6
<i>Thalassiothrix longissima</i>	146	56	0.9	1.4
<i>Ditylum brightwellii</i>	119	88	0.8	1.4
<i>Bacteriastrum delicatulum</i>	119	67	1.0	1.4
<i>Chaetoceros lacinosus</i>	152	27	0.5	1.3
<i>Chaetoceros affinis</i>	119	63	1.0	1.3
<i>Proboscia alata</i>	108	96	1.1	1.2

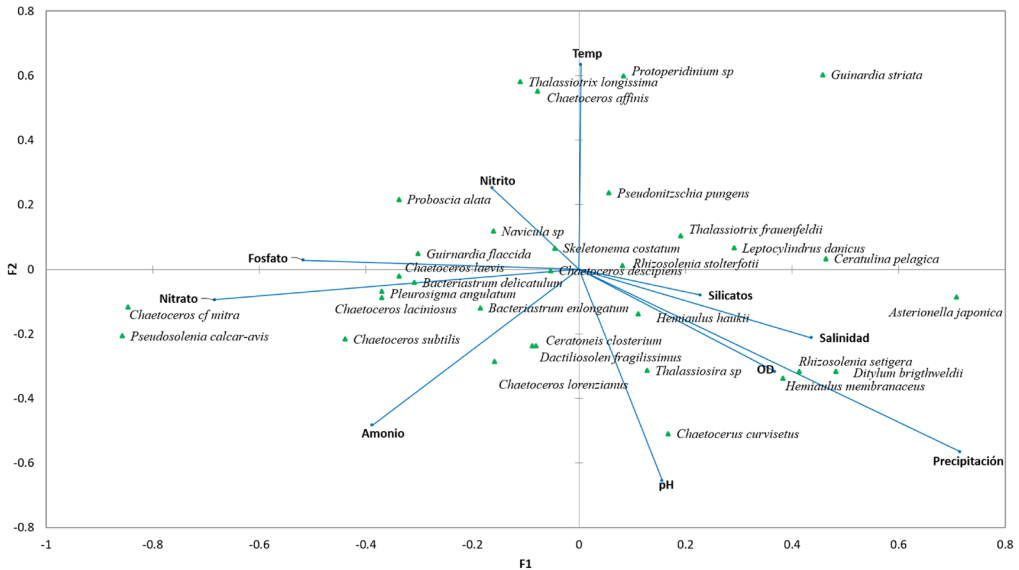


Fig. 6. Proyección del análisis de correspondencia canónica del fitoplancton y las variables biológicas para las estaciones bajo influencia del emisario submarino y sus controles

Fig. 6. Projection of the canonical correspondence analysis of phytoplankton and biological variables for stations under the influence of the marine outfall and its controls

En el primer cuadrante del biplot y relacionadas con la variación en la precipitación y la temperatura, se encontraron las especies *Guinardia striata*, *P. pungens*, *Thalassionema frauenfeldii*. La variación de la salinidad fue de particular importancia para las diatomeas *C. pelagica*, *L. danicus* y *Asterionella japonica* que se ubican hacia los extremos del primer eje, mientras que el aumento en la precipitación está correlacionado con el aumento en la concentración de *Rhizosolenia setigera*, *Ditylum brightwellii* y *Hemiaulus membranaceus*. En el tercer y cuarto cuadrante se identificaron

especies agrupadas por los nutrientes nitrato, ortofosfato y amonio, donde *Chaetoceros laciniosus*, *Chaetoceros laevis* y *Ch. descipiens* estuvieron más relacionados con la concentración de ortofosfato, mientras que *Pseudosolenia calcar-avis* y *Chaetoceros cf. mitra* se ubican en los extremos del eje nitrato. Por otro lado, el pH y la concentración de amonio explican la abundancia de *Cylindrotheca closterium*, *Dactyliosolen fragillissimus* y *Chaetoceros lorenzianus*, que se relaciona con los valores bajos de amonio.

## DISCUSIÓN

En algunas temáticas el Caribe costarricense continúa siendo inexplorado, los estudios publicados sobre la diversidad y abundancia de microalgas fitoplanctónicas y su relación con los parámetros fisicoquímicos son prácticamente inexistentes, a la fecha solo existe un estudio de impacto ambiental previo a la construcción del emisario (PROIGE-AyA, 1999) y el realizado por Mora-Alvarado & Portuguez-Barquero (2016), pero respecto a la abundancia y diversidad algal no existe referente para un “antes” o un “después” en la zona, por ello este estudio es pionero y su información es sumamente valiosa para futuras investigaciones en la temática.

El análisis de componentes principales y de correspondencia canónica evidenciaron que en la zona de muestreo existe influencia de las precipitaciones, donde los valores altos de silicatos, oxígeno disuelto y sólidos totales suspendidos coinciden con las mayores precipitaciones. Troccoli *et al.* (2004), obtienen patrones similares en la península de Yucatán, en una zona con influencia de agua dulce; sin embargo, a diferencia de estos autores, durante los periodos de lluvias no se encontraron especies de microalgas típicas de ecosistemas dulceacuícolas.

Los datos reflejan que hay influencia de las precipitaciones sobre los factores abióticos y, por ende, en la

estructura de la comunidad fitoplanctónica. Durante los periodos de mayores precipitaciones, que corresponden al primer y tercer muestreo, se observó un aumento en la concentración de silicato, nitrato, amonio y fosfato, lo que sugiere que la zona de estudio se encuentra bajo la influencia del caudal de los ríos en la región, tal y como lo mencionaron Brenes-Rodríguez & Benavides-Morera (2015).

La alta escorrentía desde la zona terrestre junto con el arrastre de sedimentos y el aumento en la concentración de nutrimentos podría ser también responsable del aumento de los sólidos totales durante el periodo, a través de dos mecanismos: 1) partículas en suspensión derivadas de los procesos de erosión, meteorización y arrastres de materia orgánica (Vinayachandran *et al.* 2002; Vajravelu *et al.* 2018) y 2) aumento de la biomasa microalgal estimulada por el ingreso de nuevos nutrientes (Quinlan & Philips, 2007).

La diferencia entre el fondo y la superficie respecto a los parámetros fisico-químicos, puede ser producto de la naturaleza misma de la columna de agua y no de la operación del emisario submarino. Estas diferencias en parámetros tales como el oxígeno, tienden a aumentar conforme aumenta la profundidad, producto de factores como la disminución de la cantidad de organismos fotoautótrofos y a una relación más cercana con el fondo, donde se pueden presentar procesos

de descomposición y reciclaje de nutrientes. Los valores obtenidos fueron similares a los reportados por el PROIGE- AyA (1999), previo a la construcción del emisario, por lo que se puede asegurar que no existe una afectación en el área de estudio respecto a los parámetros físico-químicos.

Mora-Alvarado y Portu-guez-Barquero en el 2016, reportaron 33 UFC de *Enterococcus* para julio del 2014, una cantidad mayor a la reportada en el presente estudio, tanto en las estaciones con influencia del emisario como en los controles. Para dictaminar si un cuerpo de agua es apto para la recreación se utiliza como referencia la normativa estadounidense, que establece un máximo de 35 UFC/100 ml (USEPA, 2012; Vergaray *et al.* 2007). En el nivel latinoamericano se pueden tener como referentes a México (COFEPRIS, 2020) con un límite máximo de 200 UFC/100 mL o su equivalente de 200 NMP/100 mL y Cuba (Miravet *et al.* 2009) con un máximo permisible  $\leq 100$  NMP/100mL. Bajo estas normativas las aguas en los puntos de muestreo, de esta investigación, podrían clasificarse como aptas para el uso recreativo.

Los controles positivos permitieron verificar la no afectación de las descargas del río Cieneguita sobre la cantidad de *Enterococcus* en las estaciones ubicadas al sur de isla Uvita. La carga del río fue hasta 50 veces mayor que la establecida por la USEPA (2012), como

mínima para proteger la salud humana. Estas descargas podrían estar canalizándose hacia la corriente superficial que se mueve paralela a la playa, por lo que es recomendable tomar muestras en esos puntos, que son, justamente, los utilizados por los bañistas y pescadores para realizar sus actividades.

No hubo diferencia significativa en la cantidad de UFC entre la zona bajo influencia del emisario submarino y sus controles, por ello no se puede asumir una afectación al medio causada por los efluentes vertidos. Los controles positivos mostraron valores muy altos en comparación con las estaciones de muestreo; esto podría indicar que el río Cieneguita es un punto muy importante de contaminación fecal y que su problemática debería abordarse desde una perspectiva interdisciplinaria.

En otras latitudes, García y Luque (2011) reportan concentraciones algales máximas que rondan las 4 000 cél/L alrededor de las islas Canarias, un entorno con influencia oceánica y escasas de nutrientes, mientras que en la bahía Boka Kotorska, Drakulović *et al.* (2016) reportan valores máximos de  $8.4 \times 10^5$  cél/L, en un ecosistema fuertemente influenciado por la actividad antropogénica. La densidad algal reportada en los alrededores del emisario submarino se encuentra apenas por encima de los valores de un sistema de características oligotróficas (García & Luque, 2011).

Las diatomeas dominaron en todas las muestras seguidas por los dinoflagelados, y este comportamiento también ha sido observado en otras regiones del mundo (García & Luque, 2011; Muhammad-Adlan *et al.* 2012; Drakulović *et al.* 2016). Los datos obtenidos por Hulburt (1968), cerca de la costa Caribe costarricense, donde se logró identificar un total de 15 especies, es un número bajo en comparación con el encontrado en esta investigación.

La diversidad algal en las estaciones de muestreo tendió a ser alta mientras que la dominancia fue baja; este comportamiento coincide con lo reportado por García y Luque (2011), para 15 estaciones de muestreo ubicadas en la costa del municipio de San Bartolomé de Tirajana en islas Canarias. Margalef (1986), indica que el índice de diversidad en ecosistemas costeros puede variar entre 3.5 y 4.5, dado que los valores de diversidad obtenidos en la zona se mantuvieron en 3, la comunidad fitoplanctónica podría ser considerada predominantemente costera.

La zona de estudio es un ambiente del tipo costero, donde al parecer la abundancia de las especies y la secuencia en la que se presentan puede no implicar un proceso de sucesión, sino más bien una serie de eventos temporales, causados por fenómenos físicos como corrientes, el tiempo o escorrentías. Lo anterior se refleja por algunas de las especies como *T. nitzschioides*, y *S. costatum*,

que dominan ecosistemas costeros designados por Margalef (1997) como “turbulentos”, donde las aguas están mezcladas y cargadas de nutrientes. La alta relación superficie-volumen de estas diatomeas les confiere una rápida capacidad de crecimiento y absorción de nutrientes por lo que pueden alcanzar altas densidades en poco tiempo.

El 57% de las especies fitoplanctónicas fueron raras, esto debido a que presentaron densidades y frecuencias de aparición inferiores a la media. Lo anterior, sumado a la ausencia de especies constantes, podría deberse a un cambio continuo en la dinámica del ecosistema, donde las poblaciones algales son removidas de la zona por la corriente marina sin que la tasa de división celular pueda reponer las células perdidas; lo que concuerda con los resultados obtenidos por Varona-Cordero & Gutiérrez-Mendieta (2003) y por Varona-Cordero *et al.* (2010), en lagunas costeras de México.

Las diferencias observadas entre la abundancia algal de la superficie y del fondo reflejan el comportamiento típico del fitoplancton marino y no una afectación del emisario submarino. De las dos especies que dominaron a 10 m de profundidad, *Navicula* sp. es predominantemente bentónica, por lo que es usual encontrarla a esta profundidad. Mientras que, *R. stolterfothii*, mostró colonias pequeñas, que según lo reportado por Peperzak *et al.* (2003), podrían presentar tasas de asentamiento

mayores. El alto porcentaje de disimilitud aportado por *S. costatum* y *Ch. lorenzianus* puede deberse al mayor tamaño de las colonias, factor que contribuye a que presente flotabilidad neutra (Cloern *et al.* 1983), al igual que *P. pungens* forman cadenas de variada longitud y alargadas, que facilita su reubicación en las capas superficiales, por los movimientos de las masas de agua.

Muchas de las especies presentes en la zona son cosmopolitas y presentan múltiples mecanismos para adaptarse a entornos dinámicos. Sin embargo, a pesar de esto requieren de condiciones óptimas para mantener la densidad poblacional. Khan *et al.* (1998) y Tian *et al.* (2002) demostraron, bajo condiciones de laboratorio, que *S. costatum* crece en rangos de salinidad de 25-35 PSU y temperaturas de 20-25°C, circunstancias similares a las observadas en el presente estudio. Esto podría explicar las altas densidades y la dominancia de la especie a lo largo del estudio.

*S. costatum* se encuentra ampliamente distribuida en los mares del mundo y produce florecimientos nocivos bajo condiciones eutróficas, por lo que se ha sugerido como indicador de la calidad del agua (Sánchez *et al.* 1995; Jaanus *et al.* 2009). Sin embargo, a pesar de que la especie es dominante y aporta la mayor densidad de células, no existe en el área de estudio evidencia documentada de florecimientos

algales y, más bien, existe una dinámica similar a la reportada por Vilicic *et al.* (1995).

La temperatura fue el factor más importante con el que se relacionó la abundancia de *P. pungens* y concuerda con lo reportado por Zrinka *et al.* (2011), para el noreste del mar Adriático. La especie es cosmopolita y se ha relacionado su abundancia con el ortofosfato y el amonio (Zrinka *et al.* 2011; Trainer *et al.* 2012). No obstante, el presente estudio muestra que puede existir especificidad regional y que otros factores pueden explicar la abundancia de la especie.

Estudios en otras latitudes han evidenciado que un aumento en la ocurrencia de *Chaetoceros* sp. y *Bacteriatrum* sp. puede estar asociada con altas concentraciones de nutrientes (Kumar *et al.* 2007; Paul *et al.* 2008). Pese a que esta información pareciera reflejarse en el análisis de correspondencia canónica, es importante recalcar que los valores de nutrimentos, en general, se mantienen bajos con respecto a zonas con mayor productividad y, por ello, no debe interpretarse esta relación como un mero indicador de eutrofización antropogénica, sino más bien desde la perspectiva de la eficiencia y especificidad en el uso del nitrógeno y el fósforo.

Los datos recolectados en el presente estudio han demostrado que no existe un impacto evidente en el medio marino adyacente a la zona de

desfogue del emisario submarino de la ciudad de Limón, y que la estructura y composición de la comunidad fitoplanctónica, dominada por diatomeas céntricas se encuentra muy influenciada por la precipitación, la temperatura, el amonio y los silicatos.

## REFERENCIAS

- Ávalos, A. (2004). Limón ya tiene un sistema de aguas negras. *La Nación*. <https://www.nacion.com/el-pais/limon-ya-tiene-un-sistema-de-aguas-negras/HGX-D26REZVHRZBO4OCX7O6ZATI/story/>
- Brenes-Rodríguez, C. L. & Benavides-Moreira, R. (2015). Características termohalinas de las aguas costeras del Caribe Sur de Costa Rica. *Rev. Mar. Cost.*, 7, 27-41. <http://dx.doi.org/10.15359/revmar.7.2>.
- Carvajal, M. (2005). Sistema de aguas negras de Limón Opera al 100 por ciento. *La Nación*. <https://www.nacion.com/el-pais/sistema-de-aguas-negras-de-limon-opera-al-100-por-ciento/FOOD-NXQRCFAKNHPRJ65ICPNXU/story/>
- Chinchilla, R. G. (2013). *Resumen meteorológico setiembre de 2013*. Costa Rica. Instituto Meteorológico Nacional.
- Clesceri, L., Greenberg, A. & Eaton, A (Eds.) (1999). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. EE.UU.: American Public Health Association
- Cloern, J. E., Alpine, A. E., Cole, B. E., Wong, J. F. & Ball M.D. (1983). River discharge controls phytoplankton dynamics in the northern San Francisco Bay Estuary. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 16(4), 415-429. [https://doi.org/10.1016/0272-7714\(83\)90103-8](https://doi.org/10.1016/0272-7714(83)90103-8)
- COFEPRIS. (2020). Manual operativo: monitoreo de agua de contacto primario en el agua de mar de playas y cuerpos de agua dulce. <https://www.gob.mx/cofepris/documentos/manual-operativo-monitoreo-de-agua-de-contacto-primario-en-el-agua-de-mar-de-playas-y-cuerpos-de-agua-dulce>
- Cuello, V. G., Llanos, E. N., Garaffo, G. V. & Jaubet, M. L. (2019). Emisario submarino de Mar del Plata (Argentina): ¿Cómo impactó su construcción en la comunidad bentónica intermareal? *Ecol. Austral.*, 29, 028-040. <https://doi.org/10.25260/EA.19.29.1.0.771>
- Drakulović D., Pestorić B., Kraus R., Ljubimir S. & Krivokapić S. (2016). Phytoplankton Community and Trophic State in Boka Kotorska Bay. In A. Joksimović, M. Djurović, A. Semenov, I. Zonn & A. Kostianoy (Eds.), *The Boka Kotorska Bay Environment* (pp 169-201). Switzerland: Springer.
- García, R. A. & Luque, E. A. (2011). *Evaluación ambiental de las aguas costeras y puertos deportivos a partir de la comunidad fitoplanctónica en las Islas Canarias, España*. Tesis de doctorado no publicada, Universidad de las Palmas de Gran Canarias, Gran Canarias.
- Gianesella, F. M., Saldanha-Corrêa, P. M., Kutner, B. M. & Pompeu, M (1999). Assessment of plankton community and environmental conditions in São Sebastião Channel prior to the construction of a produced water outfall. *Rev. Brasileira Oceanogr.*, 47(1), 29-46. <https://doi.org/10.1590/S1413-77391999000100003>.
- Hansen, H. & Koroleff, F. (2007). Determination of nutrients. In K. Grasshoff & M. Ehrhardt (Eds.), *Methods of Seawater Analysis* (pp. 159-228).



- EE. UU.: Wiley-VCH. <https://doi.org/10.1002/9783527613984.ch10>
- Hulburt, E. M (1968). Phytoplankton Observations in the Western Caribbean Sea. *Bull. Mar. Sci.*, 18(2), 388-399.
- Instituto Meteorológico Nacional. (2016). *Descripción del clima cantón de Limón*. <http://cglobal.imn.ac.cr/documentos/publicaciones/DescripciondelClimaSERIE/DescripcionClimaCantonLimon/html5/index.html?page=1&noflash>
- Jaanus, A., Toming, K., Hällfors, S. Kaljurand, K & Lips, I. (2009). Potential phytoplankton indicator species for monitoring Baltic coastal waters in the summer period. *Hydrobiologia*, 629, 157-168. <https://doi.org/10.1007/s10750-009-9768-y>
- Khan, S., Haque, M., Arakawa, O. & Onoue, Y. (1998). Physiological observations on a diatom *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve. *Bangladesh J. Fish. Res.*, 2, 109-118.
- Kumar, S. S., Nuncio, M. S., Ramaiah, N., Sardesai, S., Narvekar, J., Fernandes, V. & Paul, J. T. (2007). Eddy-mediated biological productivity in the Bay of Bengal during fall and spring intermonsoons. *Deep-Sea Res.*, 9(54), 1619-1640. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2007.06.002>
- Margalef, R. (1997). Turbulence and marine life. *Sci. Mar.*, 61(1), 109-123.
- Marín, R., Marquetti, M. & Díaz, M. (2009). Índices larvales de *Aedes aegypti* antes y después de intervenciones de control en Limón, Costa Rica. *Rev. Cub. de Med. Trop.*, 2(61), 1-10.
- Miravet, M. E, Lugioyo, M., Loza, S., Enrique, D., Delgado, Y., Carmenate, M. & Pérez, D. M. (Eds.). (2009). *Procedimientos para el monitoreo de la calidad ambiental en la zona marino costera a partir de microorganismos*. Cuba. Ediciones Centenario
- Mora-Alvarado, D. & Portuguese-Barquero, C. (2016). Cobertura de la disposición de excretas en Costa Rica en el periodo 2000-2014 y expectativas para el 2021. *Rev. Tec. Marcha*, 29(2), 43-62. <https://doi.org/10.18845/tm.v29i2.2690>
- Morera, R. R. (2012). *Resumen meteorológico setiembre de 2012*. <https://www.imn.ac.cr/documents/10179/14635/SEPTIEMBRE>.
- Muhammad-Adlan, A. H., Wan-Maznah, W.O., Khairun, Y., Chuah, C. C., Shahril, M. H. & Noh, M. (2012). Tropical Marine Phytoplankton Assemblages and Water Quality Characteristics Associated with Thermal Discharge from a Coastal Power Station. *J. Nat. Sci. Res.*, 2, 88-99.
- Naranjo, D. J. (2013). *Resumen meteorológico marzo de 2013*. <https://www.imn.ac.cr/documents/10179/14637/MARZO>.
- Naranjo, D. J. & Poleo, B. D. (2012). *Resumen meteorológico octubre de 2012*. <https://www.imn.ac.cr/documents/10179/14635/OCTUBRE>.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R. ... & Wagner, H. (2019). *Ordination methods, diversity analysis and other functions for community and vegetation ecologists*. *Vegan: Community Ecology Package*. R Package Version 2.5-7. Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Parnell, P. E. (2003). The effects of sewage discharge on water quality and phytoplankton of Hawai'ian coastal waters. *Mar. Env. Res.*, 55(4), 293-311. [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(02\)00275-1](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(02)00275-1)
- Paul, J. T., Ramaiah, N. & Sardesai, S. (2008). Nutrient regimes and their effect on distribution of phytoplankton in the Bay of Bengal. *Mar. Envir. Res.*,

- 66, 337-344. <https://doi.org/10.1016/j.marevres.2008.05.007>.
- Peperzak, L., Colijn, F., Koeman, R., Gieskes, W. W. & Joordens, J. C. (2003). Phytoplankton sinking rate in the Rhine region of freshwater influence. *J. Plankton Res.*, 25(4), 365-383. <https://doi.org/10.1093/plankt/25.4.365>
- PROIGE-AyA. (1999). *Informe. Estudio de impacto ambiental del proyecto emisario submarino para la Ciudad de Limón*. Costa Rica: Sin editorial.
- Quinlan, E. L. & Philips, E. J. (2007). Phytoplankton assemblages across the marine to low-salinity transition zone in a blackwater dominated estuary. *J. Plankton Res.*, 29(5), 401-416. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbm024>
- Ramírez, C. J. & Salazar, M. E. (2005). *Calidad de aguas residuales en los sistemas de depuración operados y administrados por AYA y estudios especiales de interés institucional (Informe 2005)*. Costa Rica: Sin editorial.
- Salas, H. J. (2000). *Emisarios submarinos alternativa viable para la disposición de aguas negras de ciudades costeras en América Latina y el Caribe*. Perú: CEPIS.
- Sánchez, S., Martínez, M. E., Molina, E. & Casa, J. A. (1995). *Skeletonema costatum* as a potential source of fatty acids and single-cell protein (SCP): The effect of pH on growth rate and biomass composition. *Mar. Biotechnol.*, 2, 23-26.
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (1970). Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. *Journal of the Royal Statistical Society. Series A (General)*, 133(1), 102-102. <https://doi.org/10.2307/2343822>
- Sournia, A. (1978). *Phytoplankton Manual*. France: UNESCO
- Stanca, E. y Parsons, L. (2017). Phytoplankton diversity along spatial and temporal gradients in the Florida Keys. *J. Plankton Res.*, 39(3), 531-549. [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(02\)00275-1](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(02)00275-1)
- Tian, Y., Mingjiang, Z. & Peiyuan, Q. (2002). Combined effects of temperature, irradiance and salinity on growth of diatom *Skeletonema costatum*. *Chin. J. Ocean. Limnol.*, 20, 237-243. <https://doi.org/10.1007/BF02848852>
- Tinoco, Q. J. (2007). *Manual de técnicas analíticas para la determinación de parámetros fisicoquímicos y contaminantes marinos: Aguas, sedimentos y organismos*. Colombia: INVEMAR.
- Toledo, H., Hernández, C., Rodríguez, C., Bittner, V., Ferreira, L. & Orellana, F. (2005). Estudio de la contaminación fecal mensual y estacional en la zona costera adyacente al emisario submarino en la bahía de puerto Montt. *Gayana (Concepc.)*, 69(1), 104-112. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382005000100011>
- Trainer, V. L., Stephen, S. B., Lundholm, N., Thessen, A. E., Cochlan, P. W., Adams, N. G. & Trick, G. C. (2012). *Pseudo-nitzschia* physiological ecology, phylogeny, toxicity, monitoring and impacts on ecosystem health. *Harmful Algae*, 14(2012), 271-300. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.10.025>
- Trocchi, G. L., Herrera-Silveira, J. & Comín, F. A. (2004). Structural variations of phytoplankton in the coastal seas of Yucatan, Mexico. *Hydrobiologia*, 519, 85-102. <https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000026487.78497.b6>
- USEPA. (2006). *Method 1600: Enterococci in Water by Membrane Filtration Using membrane-Enterococcus Indoxyl-β-D-Glucoside Agar (mEI)*. (Report # 821-R-02-022). EE. UU.: Government printing office.

- USEPA. (2012). Recreational Water Quality Criteria. <https://www.epa.gov/wqc/2012-recreational-water-quality-criteria>
- Vajravelu, M., Mariasingarayan, Y., Saravanakumar, A. & Mayakrishnan, M. (2018). Seasonal influence of physico-chemical parameters on phytoplankton diversity, community structure and abundance at Parangipettai coastal waters, Bay of Bengal, South East Coast of India. *Oceanologia*, 60(2), 114-127. <https://doi.org/10.1016/j.oceano.2017.08.003>
- Varona-Cordero, F. & Gutiérrez-Mendieta, F. (2003). Estudio multivariado de la fluctuación espacio-temporal de la comunidad fitoplanctónica en dos lagunas costeras del estado de Chiapas. *Hidrobiológica*, 13(3), 177-194.
- Varona-Cordero, F., Gutiérrez-Mendieta, F. & Castillo, M. M. (2010). Phytoplankton assemblages in two compartmentalized coastal tropical lagoons (Carretas-Pereyra and Chantuto-Panzacola, Mexico). *J. Plankton Res.*, 32, 1283-1299. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbq043>
- Vergaray, G., Méndez, C.R., Morante, H. Y., Heredia, V. & Béjar, V. (2007). *Enterococcus* y *Escherichia coli* como indicadores de contaminación fecal en playas costeras de Lima. *Rev. Inst. Inves. FIG-MMG.*, 10(20), 82-86.
- Vidal, T., Calado, A., Moita, M., & Cunha, M. (2017). Phytoplankton dynamics in relation to seasonal variability and upwelling and relaxation patterns at the mouth of Ria de Aveiro (West Iberian Margin) over a four-year period. *PLoS one*, 12(5), e0177237. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177237>
- Vilicic, D., Krsinic, F., Caric, M., Jasprica, N., Bobanovic, S. & Mikus, J. (1995). Plankton and hydrography in a moderately eutrophicated eastern Adriatic bay (Gruz Bay). *Hydrobiologia*, 304, 9-22. <https://doi.org/10.1007/BF00006876>
- Vinayachandran, P. N., Murty, V. S. & Ramesh Babu, V. (2002). Observations of barrier layer formation in the Bay of Bengal. *J. Geophys. Res.* 107 (12), 1-14. <https://doi.org/10.1029/2001JC000831>
- Zrinka, L., Suncica, B., Damir, V., Borojevic, K., Pfannkuchen, D., Jelena, G., Ivana, U., Peharec Štefanić, P. & Djakovac, T. (2011). Ecology and taxonomy of potentially toxic *Pseudo-nitzschia* species in Lim Bay (north-eastern Adriatic Sea). *Harmful Algae*, 10, 713-722. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.06.002>