

Análisis metagenómico e identificación de microorganismos indicadores de la alteración de la calidad del agua en el embalse de Bucaramanga

Jessica Andrea Gutierrez Portilla

Trabajo de Grado para Optar al Título de Magister en Microbiología

Director

German Alexis Zafra Sierra

Doctor en Ciencias en Biotecnología

Codirector

Andrés Almeyda Ortiz

Magister en Recursos Hídricos y Saneamiento ambiental

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Salud

Escuela de Microbiología

Maestría en Microbiología

Bucaramanga

2025

Dedicatoria

A **Dios** porque es “quien siempre llama, quien siempre busca y quien se encarga personalmente de cada uno de nosotros”. Que esta obra sea reflejo de la sabiduría que Él inspira.

A mis papás, mi hermana y mi nona:

Por su amor incondicional, apoyo y palabras de aliento en cada paso de este camino.

Gracias por ser mi fortaleza y mi motivación

A Jaime Otoniel Ayala Pimentel:

Por tu amor incondicional, paciencia y apoyo constante durante este recorrido.

Tu inspiración y fortaleza fueron el sustento para alcanzar este logro.

A mi director el Doctor German Zafra:

Por su invaluable orientación, sabiduría académica y la confianza depositada en mi trabajo, elementos fundamentales para la culminación exitosa de este proyecto.

A la Universidad Industrial de Santander UIS:

Por ser el lugar donde crecí académica y personalmente, donde encontré amor, inspiración y herramientas para alcanzar este logro. Esta tesis es, en parte, su reflejo.

Al Acueducto Metropolitano de Bucaramanga (amb S.A. E.S.P):

Cuyo legado ha sustentado tres generaciones de mi familia y ha hecho posible este proyecto. Su historia, infraestructura y servicio público fueron la base que inspiró y permitió el desarrollo de esta investigación

Finalmente, a mí misma:

Por persistir ante cada desafío, por creer ante la duda
y por demostrar que la perseverancia transforma metas en logros.

Agradecimientos

A lo largo de este proceso, he tenido el privilegio de contar con el apoyo invaluable de personas e instituciones que hicieron posible la realización de este proyecto. A todas ellas, expreso mi más profundo agradecimiento.

En primer lugar, quiero destacar el respaldo fundamental del Acueducto Metropolitano de Bucaramanga S.A. E.S.P., en especial a la Gerencia de Operaciones bajo la dirección del Ingeniero Jairo Fabián Jaimes Rojas, cuya financiación permitió el desarrollo de esta investigación. Su compromiso con el desarrollo académico, su amor por el *alma máter* y su interés por generar conocimiento en beneficio de los Bumangueses fueron pilares fundamentales para el éxito de este trabajo.

A mi codirector, el Ingeniero Andrés Almeyda Ortiz, le agradezco por su guía constante, su paciencia y su generosidad al compartir sus conocimientos y experiencia durante todo este recorrido.

Al grupo de investigación en Bioquímica y Microbiología, liderado por la Doctora Claudia Cristina Ortiz, por abrirme las puertas del equipo de investigación, de su laboratorio y brindarme un apoyo científico invaluable. Su acompañamiento fue determinante para garantizar la calidad y el avance de esta investigación.

A los ingenieros, ingenieras y al personal operativo del área de Producción de la empresa amb S.A. E.S.P., en especial a los líderes de área, el Ingeniero Álvaro Prada Arciniegas (2021–2024) y la Ingeniera Diana Lucía Calderón Ochoa (2024–actualidad), cuya permanente disposición y colaboración incondicional facilitaron el desarrollo de este proyecto, así como la logística y la recolección de muestras en el Embalse de Bucaramanga.

Al laboratorio de control de calidad de aguas del Acueducto Metropolitano de Bucaramanga S.A. E.S.P., bajo la dirección del Qco. Uriel Barragán, por su contribución en los análisis fisicoquímicos de las muestras tomadas en el Embalse de Bucaramanga. Sus reportes fueron fundamentales para los resultados obtenidos en este estudio.

A la Escuela de Microbiología y Bioanálisis de la Universidad Industrial de Santander, por brindarme una formación académica sólida, un entorno de crecimiento profesional y personal, y por el compromiso constante con la excelencia científica. Mi gratitud a cada docente y miembro del equipo académico que contribuyó, directa o indirectamente, al desarrollo de este proceso formativo.

A la Doctora Daniela Rangel Ibáñez, mi gran compañera de línea de investigación en metagenómica ambiental, por su apoyo incondicional a lo largo del desarrollo del componente experimental. Su experiencia previa fue fundamental para que este proyecto tuviese grandes resultados.

A mis compañeros de maestría, María Carolina, Mauricio, Lilian y Christian, por su valioso apoyo, el compañerismo constante y por haber afrontado junto a mí cada reto y logro a lo largo de este camino. Su presencia hizo de esta etapa una experiencia profundamente enriquecedora, grata y significativa.

Finalmente, extendiendo mi gratitud a todas aquellas personas que, de manera directa o indirecta, contribuyeron a la realización de este trabajo. Cada gesto, por pequeño que pareciera, dejó una huella significativa en este camino de crecimiento académico y personal.

Tabla de Contenido

Introducción	12
1. Objetivos.....	15
1.1 Objetivo General.....	15
1.2 Objetivos Específicos.....	15
2. Marco conceptual y estado del arte.....	16
2.1. Calidad del agua.....	16
2.2. Patógenos y Bioindicadores del agua	18
2.3. Metagenómica y caracterización de microbiomas	20
2.6. Estado del arte.....	22
3. Metodología	24
4. Resultados y Discusión.....	31
4.1 Condiciones fisicoquímicas del agua del Embalse de Bucaramanga.	31
4.2 Parámetros de calidad secuencias obtenidas.....	32
4.3 Diversidad de las comunidades microbianas presentes en el embalse de Bucaramanga.....	33
4.3.1 Composición y estructura de las comunidades microbianas presentes en el agua del Embalse de Bucaramanga.....	35
4.3.2 Composición y estructura de las comunidades Procariotas en el agua del Embalse de Bucaramanga.....	37
4.3.3. Composición y estructura de las comunidades Eucariotas en el agua del Embalse de Bucaramanga.....	44

4.3.4. Composición y estructura de las comunidades virales en el agua del Embalse de Bucaramanga.....	48
4.3.5 Estructura espaciotemporal de las comunidades microbianas totales presentes en el agua del embalse de Bucaramanga.....	51
4.4 Bioindicadores asociados a la alteración de la calidad microbiológica y fisicoquímica del agua en el Embalse de Bucaramanga.	53
4.5 Correlación de la calidad fisicoquímica del agua del Embalse de Bucaramanga con la presencia y abundancia de bioindicadores.	64
5. Conclusiones.....	69
Referencias Bibliográficas	71
Apéndices.....	107

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. <i>Parámetros de muestreo de agua para análisis metagenómico.</i>	26

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. <i>Ubicación geográfica de los puntos de muestreo en el Proyecto de Regulación del río Tona Embalse de Bucaramanga.</i>	25
Figura 2. <i>Índices de diversidad en el Embalse de Bucaramanga.</i>	34
Figura 3. <i>Estructura y abundancia relativa de las comunidades bacterianas en el agua del Embalse de Bucaramanga a nivel de dominio.</i>	36
Figura 4. <i>Estructura y abundancia relativa de las comunidades bacterianas en el agua del Embalse de Bucaramanga.</i>	38
Figura 5. <i>Estructura de comunidades Arquéales en el agua del Embalse de Bucaramanga.</i>	42
Figura 6. <i>Estructura y abundancia relativa de las comunidades eucariotas en el agua del Embalse de Bucaramanga</i>	45
Figura 7. <i>Estructura y abundancia relativa de las comunidades virales en el agua del Embalse de Bucaramanga.</i>	50
Figura 8. <i>Microbioma central del agua del Embalse de Bucaramanga.</i>	59
Figura 9. <i>Relación de parámetros fisicoquímicos y abundancia de géneros microbianos en el agua del Embalse de Bucaramanga</i>	65

Lista de Apéndices

	pág.
Apéndice A. <i>Protocolo de Muestreo de agua Embalse de Bucaramanga.</i>	107
Apéndice B. <i>Control de calidad extracción ADN muestras Embalse de Bucaramanga.</i>	108
Apéndice C. <i>Electroforesis en gel de agarosa al 1% ADN genómico.</i>	109
Apéndice D. <i>Resultados fisicoquímicos emitidos por el laboratorio de control de calidad de aguas del amb, de las muestras colectadas en el Embalse.</i>	110
Apéndice E. <i>Parámetros medidos In Situ en los muestreos realizados en el Embalse de Bucaramanga.</i>	111
Apéndice F. <i>Análisis de rarefacción y riqueza de las asignaciones taxonómicas a nivel de géneros microbianos por muestra.</i>	112
Apéndice G. <i>Patrón de agrupamiento de las muestras del embalse de Bucaramanga respecto a la composición de géneros microbianos.</i>	113
Apéndice H. <i>Presencia de secuencias compatibles con bioindicadores en el agua del Embalse de Bucaramanga.</i>	114
Apéndice I. <i>Presencia de secuencias compatibles con bioindicadores en el agua del Embalse de Bucaramanga.</i>	115
Apéndice J. <i>Presencia de secuencias compatibles con microorganismos con potencial patogénico y alteración microbiológica en el agua del Embalse.</i>	116
Apéndice K. <i>Presencia de secuencias compatibles con microorganismos con potencial patogénico y alteración microbiológica en el agua del Embalse.</i>	117

Resumen

Título: Análisis metagenómico e identificación de microorganismos indicadores de la alteración de la calidad del agua en el Embalse de Bucaramanga.**

Autor: Jessica Andrea Gutierrez Portilla.

Palabras Clave: Bioindicadores, Comunidades microbianas, Abordaje metagenómico, Embalse de Bucaramanga, Calidad del agua, Monitoreo ecológico.

Descripción: El objetivo del presente estudio se centró en establecer la composición y abundancia de las comunidades microbianas totales y de bioindicadores asociados a la alteración de la calidad microbiológica y fisicoquímica del agua en el embalse de Bucaramanga, utilizando un abordaje metagenómico. Para ello se realizaron muestreos mensuales durante tres meses en cuatro puntos del embalse, recolectando 500 ml de agua por muestra. Las muestras fueron filtradas al vacío mediante membranas de 0,2 μm y se extrajo el ADN utilizando un kit comercial. A partir del ADN extraído se prepararon librerías compatibles con la química R10.4.1, secuenciándose 12 muestras en un secuenciador MinION MK1B, generándose un aproximado de 4 Gb de datos. Los datos fueron analizados mediante el pipeline SqueezeMeta y procesados en R Studio con herramientas bioinformáticas para su análisis gráfico y estadístico. Se describió por primera vez la estructura de las comunidades microbianas del Embalse de Bucaramanga, identificándose 675 géneros microbianos dominados por bacterias y eucariotas, detectándose bioindicadores de alteración microbiológica y fisicoquímica, destacando géneros como *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Synechococcus* y *Chrysochromulina*, que se encuentran asociados a infecciones emergentes de interés en salud pública, floraciones tóxicas de cianobacterias y algas. Se evidenció correlación estadísticamente significativa entre variables fisicoquímicas como el oxígeno disuelto, concentración de carbono orgánico total y la abundancia microbiana, destacando los géneros *Terrimonas* y *Anaerolinea* como bioindicadores ambientales de este sistema de agua embalsada, subrayando la utilidad del enfoque metagenómico para el monitoreo ecológico de fuentes hídricas.

* Trabajo de Grado

**Universidad Industrial de Santander. Maestría en Microbiología. Director: German Alexis Zafra Sierra, PhD. Codirector: Andrés Almeyda Ortiz, Msc.

Abstract

Title: Metagenomic Analysis and Identification of Indicator Microorganisms of Water Quality Alterations in the Bucaramanga Reservoir*

Author: Jessica Andrea Gutierrez Portilla^{††}

Keywords: Bioindicators, Microbial communities, Metagenomic approach, Bucaramanga Reservoir, Water quality, Ecological monitoring.

Description:

The aim of this study was to determine the composition and abundance of total microbial communities and bioindicator taxa associated with microbiological and physicochemical water quality alterations in the Bucaramanga Reservoir, using a metagenomic approach. Monthly sampling was conducted over three months at four sites within the reservoir, collecting 500 mL of water per sample. The samples were vacuum-filtered using 0.2 µm membranes, and DNA was extracted using a commercial kit. Sequencing libraries compatible with R10.4.1 chemistry were prepared from the extracted DNA, and 12 samples were sequenced on a MinION MK1B platform, generating approximately 4 Gb of data. Data analysis was performed using the SqueezeMeta pipeline and further processed in R Studio with bioinformatics tools for graphical and statistical analysis. For the first time, the microbial community structure of the Bucaramanga Reservoir was described, identifying 675 microbial genera dominated by bacteria and eukaryotes. Bioindicators of microbiological and physicochemical disturbance were detected, highlighting genera such as *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Synechococcus*, and *Chrysochromulina*, which are associated with emerging infectious risks of public health concern, as well as toxic blooms of cyanobacteria and algae. A statistically significant correlation was observed between physicochemical variables such as dissolved oxygen, total organic carbon concentration, and microbial abundance, emphasizing the role of *Terrimonas* and *Anaerolinea* as environmental bioindicators in this reservoir system. These findings underscore the value of the metagenomic approach for ecological monitoring of freshwater resources.

* Trabajo de Grado

**Universidad Industrial de Santander. Maestría en Microbiología. Director: German Alexis Zafra Sierra, PhD. Codirector: Andrés Almeyda Ortiz, Msc.

Introducción

El derecho al agua se entiende como el acceso de la población a dicho recurso, necesario para garantizar la vida, salud y satisfacción de las necesidades básicas requeridas por el ser humano (De Hoyos & Arzate, 2016). El pacto internacional de derechos sociales, económicos y culturales en el ámbito de normativa puntualiza la calidad del agua como factor fundamental que debe darse indistintamente de cualquier circunstancia, teniendo en cuenta que debe ser salubre y no ha de contener microorganismos, sustancias químicas o radioactivas que puedan representar una amenaza para la salud de la población (UN, 2003).

El agua es uno de los principales hábitats naturales, que alberga la mayor diversidad bacteriana y microbiológica. En general, el papel de las bacterias en estos ecosistemas es crítico, ya que influyen en la regeneración y movilización de nutrientes en las redes tróficas, impulsando transformación y contribuyendo en los ciclos de la mayoría de los elementos biológicamente activos en estos ecosistemas (Dai et al., 2015; Mostajir, B. et al., 2014). A pesar de que se reconoce que los microorganismos tienen un papel destacado en los procesos llevados a cabo en los ambientes acuáticos, estos impactan directamente en la calidad del agua, pues pueden generar cambios abruptos en el olor, sabor, concentración de sustancias químicas y pueden afectar directamente la salud humana. Dicho esto, es de suma importancia que las empresas encargadas de la potabilización y tratamiento de este recurso para el uso doméstico y consumo humano tengan información más detallada acerca de las condiciones microbiológicas de la fuente o fuentes principales de captación (OECD, 2020), ya que la mayoría de los microorganismos que componen las comunidades microbianas y sus interacciones son ampliamente desconocidos (MAVDT, 2010; Newton *et al.*, 2011).

La caracterización de las comunidades microbianas en el agua es de suma importancia para determinar los tipos de microorganismos que allí se encuentran, su abundancia y como sus interacciones o actividad repercuten en el ambiente, y por ende en la salud de los seres humanos (Regar et al., 2024; Tilman D., 2001). A pesar de que actualmente se cuenta con acceso a la tecnología pertinente para la caracterización de las poblaciones microbianas ambientales, principalmente de los ecosistemas acuáticos, los estudios que abordan el análisis de comunidades microbianas que habitan fuentes de agua superficial, incluyendo ríos, embalses, arroyos y lagos son prácticamente desconocidas (Jin et al., 2018; Garner, E et al., 2021). El reconocimiento de la diversidad microbiana en los ecosistemas acuáticos es clave, teniendo en cuenta el papel que los microorganismos representan a nivel ambiental en el ciclo de nutrientes y mantenimiento del equilibrio ecosistémico. Además de esto el agua representa un medio de transmisión de infecciones de importancia en salud pública, siendo vehículo de organismos más resistentes que actualmente implican una amenaza para la salud de los seres humanos, relacionado al estrés ambiental al que se encuentran sometidas muchas fuentes de agua (Wang Y. et al., 2022).

Existen diferentes técnicas para el monitoreo de la calidad de agua, que son útiles en la cuantificación, caracterización y detección de las comunidades microbianas presentes allí. Actualmente se han desarrollado enfoques moleculares, que han permitido analizar desde una perspectiva detallada las comunidades microbianas establecidas en una matriz específica en un tiempo, espacio y condiciones determinadas. Durante los últimos años las metodologías tradicionales dependientes del cultivo microbiológico han sido complementadas o incluso reemplazadas por análisis metagenómicos basados en la secuenciación masiva de los ácidos nucleicos directamente a partir de muestras ambientales (Kuroda et al., 2025), constituyendo una herramienta valiosa y potente para el monitoreo activo de patógenos y microorganismos

bioindicadores ambientales del agua, así como para conocer de manera detallada la composición de su microbioma (Malham et al., 2014).

Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, se planteó la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es la diversidad taxonómica, abundancia y estructura de las comunidades microbianas totales y de bioindicadores asociados a la alteración de la calidad del agua en el embalse de Bucaramanga? De esta manera se busca determinar por primera vez la caracterización del agua del embalse de Bucaramanga, para analizar las variaciones generadas a lo largo del tiempo y su implicación en la calidad del agua.

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Establecer la composición y abundancia de las comunidades microbianas totales y de bioindicadores asociados a la alteración de la calidad microbiológica y fisicoquímica del agua en el embalse de Bucaramanga, utilizando un abordaje metagenómico.

1.2 Objetivos Específicos

1. Determinar la composición, abundancia y estructura de las comunidades microbianas totales presentes en el agua del embalse de Bucaramanga utilizando un abordaje metagenómico.
2. Establecer la presencia y abundancia de bioindicadores asociados a la alteración de la calidad microbiológica y fisicoquímica del agua en el embalse de Bucaramanga.
3. Correlacionar la presencia y abundancia de bioindicadores con la calidad fisicoquímica del agua del embalse de Bucaramanga.

2. Marco conceptual y estado del arte.

2.1. Calidad del agua

La calidad del agua se refiere a las condiciones fisicoquímicas, hidrobiológicas y microbiológicas de los cuerpos de agua que puedan o no presentar alteraciones debido a factores ambientales, cambio climático, o actividades humanas. (WHO, 2022b; Ideam,2023). La expansión a gran escala en las actividades de uso de la tierra a nivel regional y mundial, como la urbanización y agricultura ha conllevado al uso intensivo de nutrientes y otros productos químicos, lo que afecta significativamente la calidad de los ecosistemas acuáticos (Dong et al., 2022). Las escurrientías agrícolas son ricas en sedimentos, nutrientes y pesticidas, mientras que las provenientes de áreas urbanas suelen presentar altos niveles de metales pesados, hidrocarburos, carga orgánica y otros contaminantes (Xu et al., 2019; Álvarez-Cabria *et al.*, 2015). Por otro lado, el cambio climático, incluidas las variaciones de los patrones de precipitación y temperatura, es otro factor importante que puede alterar significativamente la cantidad y la calidad del agua en las cuencas hidrográficas. Estos cambios y/o alteraciones tienden a impactar generándose afectaciones en las condiciones fisicoquímicas, y una subsecuente variación en los patrones de abundancia de ciertos microorganismos potencialmente patógenos que no están activamente monitorizados (Álvarez-Cabria *et al.*, 2015).

El agua es un componente esencial para el mantenimiento del equilibrio ambiental y desarrollo humano, sin embargo, su calidad se ve afectada por prácticas inadecuadas como los vertimientos industriales, urbanización desmedida, las actividades agrícolas no controladas y la gestión deficiente de aguas residuales (Mendoza-Espinosa & Mojiri, 2024). Estas prácticas propician la introducción de contaminantes biológicos, generalmente microorganismos patógenos

que incluyen bacterias, hongos, virus y parásitos en las fuentes hídricas (Behnam, H. et al., 2013; Rani et al., 2024). Esto representa una amenaza a la salud pública debido al aumento de incidencia de enfermedades producidas por la contaminación microbiológica del agua, para el año 2021 aproximadamente 2000 millones de personas no contaban con acceso al recurso hídrico en condiciones salubres y con índices de calidad aceptables (ONU, 2021), estimándose alrededor de 829.000 muertes anuales por EDA (enfermedad diarreica aguda) vinculada al agua contaminada por microorganismos (OECD, 2020). Entre los agentes infecciosos más comunes se encuentran los patógenos transmisores del cólera, hepatitis A, disentería, fiebre tifoidea, enfermedad diarreica aguda y poliomielitis, entre otros. En este contexto, el monitoreo integral de la calidad del agua permite la gestión del recurso basada en la evidencia, la protección de los recursos hídricos, diseño y monitoreo de sistemas de tratamiento y saneamiento del agua, generando un uso seguro del recurso que protege al consumidor, esencial en gran medida para lograr varios objetivos de desarrollo sostenible, incluidos agua limpia y saneamiento (ODS6) y buena salud (ODS3) (Bivins et al., 2021). En cuanto a las consideraciones internacionales respecto organismos de interés en salud pública estas incluyen microorganismos patógenos de alto impacto que pueden vehiculizarse por el agua y generar graves infecciones en los seres humanos, esto teniendo en cuenta las directrices dictadas por la OMS en materia de riesgos microbiológicos asociados al agua potable (WHO 2022a; WHO, 2022b). En este contexto, la caracterización de fuentes de consumo humano es fundamental, ya que permite identificar microorganismos patógenos y evaluar su papel en la transmisión de genes de resistencia a antibióticos (Rolbiecki et al., 2025),

En Colombia la legislación que aborda la calidad del agua se enmarca en estándares internacionales, entre ellos las directrices de la Organización Mundial de la salud (OMS), los objetivos de desarrollo del milenio, y los Objetivos de Desarrollo Sostenible (Pérez, C. S. 2017).

Teniendo en cuenta lo anterior, la regulación nacional respecto a los recursos hídricos destinados a consumo humano se encontró inicialmente regida por el Decreto 1594 de 1984, consolidándose posteriormente como marco regulatorio único partir del año 2014 en el Decreto 1076 de 2015, conservando en este caso las metodologías de cultivo microbiológico como el *gold* estándar (ARTÍCULO 2.2.3.3.9.3) indicando dos grupos bacterianos de interés en salud pública a las bacterias de tipo coliformes totales y termo tolerantes, como criterio de calidad del agua destinada para consumo humano, puntualmente para fuentes de agua sometidas a tratamiento convencional, como el agua del Embalse de Bucaramanga.

No obstante, el artículo 151 del Decreto 1594 de 1984 permite a las Entidades Encargadas del Manejo y Administración del Recurso (EMAR) adoptar técnicas actualizadas, como bioensayos y métodos modernos de análisis. Esto fomenta la innovación tecnológica en el monitoreo y aseguramiento de la calidad del agua, tanto en cuerpos de agua lenticos como loticos (Presidencia de la República de Colombia, 1984; MADS, 2015).

2.2. Patógenos y Bioindicadores del agua

Los microorganismos presentes en los ecosistemas acuáticos desempeñan funciones fundamentales en los ciclos biogeoquímicos, no obstante, algunos de estos microorganismos que se encuentran en este medio pueden afectar la salud humana, principalmente los que provienen del tracto gastro intestinal de los mamíferos pueden representar un riesgo para la salud humana. Organismos como protozoos, parásitos, hongos, virus y bacterias, pueden causar graves infecciones en el ser humano, especialmente en personas inmunodeprimidas y neonatos, esto debido principalmente a que no existen vacunas o fármacos eficaces para algunos de estos patógenos, por tanto, a nivel de salud pública representan un problema, debido a que son

responsables de los principales brotes de infecciones en humanos, tanto para los países en vías de desarrollo como para los desarrollados (Toole et al., 2021; Arslan *et al.*, 2021).

Escherichia coli ha sido consolidado como el principal patógeno de referencia empleado como indicador de contaminación fecal a nivel mundial (Larrea J et al., 2013). Sin embargo, la detección microbiológica por cultivo de organismos presenta limitaciones, ya que se ha demostrado que algunos patógenos en estado de célula viable no cultivable (CVNC), como *Legionella pneumophila*, *E. coli enteropatógena*, *E. coli uropatógena* y *Salmonella typhi*, han mantenido su patogenicidad incluso sin ser células metabólicamente activas al cien por ciento, mediante la producción de toxinas u otros factores de virulencia (Ayrapetyan & Oliver, 2016).

En ese sentido, el uso de bioindicadores permite evaluar el estado ecológico de un sistema acuático mediante la presencia o ausencia de ciertos organismos. Tradicionalmente los macroinvertebrados han sido los organismos más empleados, mediante el índice BMPW (Biological Monitoring Working Party), que se basa en el análisis taxonómico a nivel de familia y el grado de tolerancia a la contaminación (Roldán Pérez., 2016). Asimismo, los microorganismos como coliformes totales, termo tolerantes y protozoos intestinales se emplean como indicadores de contaminación fecal (Arcos Pulido et al., 2005).

Adicionalmente, debido a su rápida respuesta a cambios ambientales, tales como eutrofización, alteraciones hidrológicas o contaminación química, las algas y microalgas han sido ampliamente reconocidas como bioindicadores eficientes. A su vez, poseen capacidad para metabolizar contaminantes orgánicos, inorgánicos, metales pesados y compuestos radioactivos, siendo útiles en la evaluación integral de la calidad del agua (Bellinger et al., 2015; Ramos-Tapia et al., 2023).

Finalmente, los métodos moleculares basados en la secuenciación del gen 16S han mejorado la caracterización de las comunidades microbianas acuáticas. Estos estudios han permitido identificar filos bacterianos dominantes como Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes y Cyanobacteria, cuya composición varía según factores como el pH, la posición geográfica, el estado trófico y el tiempo de retención del agua (Staley et al., 2014; Ghai et al., 2011).

2.3. Metagenómica y caracterización de microbiomas

En los últimos 20 años se han alcanzado grandes avances en las metodologías e investigación referente al análisis de la filogenia procariota y sus comunidades ambientales. Hasta la década de los 80 la única forma de acercarse un poco más al análisis de las comunidades microbianas ambientales era por medio de estudios dependientes de los microorganismos que podían ser aislados y cultivados de manera axénica (Zhang L. et al., 2021). Las primeras aproximaciones se dieron a partir de técnicas de PCR y arboles filogenéticos basados en secuencias del gen 16S-rRNA provenientes de cultivos puros, estas investigaciones permitieron obtener información detallada acerca de la filogenia microbiana y además formar el primer paso en la investigación de biodiversidad ambiental (Ríos-Tobón et al., 2017). Las técnicas de secuenciación independiente del cultivo y la microbiología clásica han permitido dar un paso significativo en el entendimiento de la ecología microbiana, permitiendo mejorar ampliamente la comprensión del complejo ensamblaje de las comunidades microbianas en diversos entornos, poder examinar las funciones que cumplen y cómo influyen dichas comunidades en el ecosistema (Imhoff JF., 2016)

La metagenómica se basa en los análisis genómicos de una muestra extraída de un entorno complejo, en donde se encuentra más de un microorganismo, esta herramienta proporciona una

perspectiva de la composición de la muestra analizada. La perfilación de genes como el 16S-rRNA ha sido ampliamente empleado y es bastante común en modelos para investigaciones en ecología microbiana, lo cual puede proporcionar estimaciones de diversidad y abundancia microbiana, pero no genera información directa sobre los potenciales funcionales de los taxones encontrados, no obstante en los últimos diez años los avances en la secuenciación del ADN y espectrometría de masas permitieron llegar a la caracterización metagenómica y metatranscriptómica del potencial funcional de material genético, aislado directamente de muestras que cuentan con una carga elevada de microorganismos como las recuperadas a nivel ambiental (Amrane & Lagier, 2018).

Los análisis metagenómicos se pueden abordar desde dos enfoques diferentes: metagenómica basada en marcadores, dirigido a regiones específicas altamente conservadas como el gen 16S rRNA en bacterias y arqueas, ITS en hongos y 18S rRNA en eucariotas microbianos, en el caso de la metagenómica por *shotgun*, que se conoce como metagenómica de escopeta, esta metodología consiste en la secuenciación masiva de todo el ADN extraído de en una matriz específica, lo que permite determinar la identificación taxonómica y el potencial funcional de los organismos alojados en la muestra de interés (Scholz, M. et al., 2014). Los abordajes metagenómicos tipo *shotgun*, reconocidos por su robustez, permiten obtener información genética no dirigida de todos o la mayoría de los genes presentes en una muestra específica (Saleem et al., 2019). Este enfoque supera a la metagenómica basada en marcadores, ya permite abarcar el contenido genómico completo de los organismos en lugar de centrarse en una región seleccionada. Además, evita posibles sesgos asociados a regiones hipervariables y elimina la necesidad de un paso previo de amplificación por PCR (Quince et al., 2017).

2.6. Estado del arte

A nivel mundial los estudios metagenómicos con enfoque en el análisis de la dinámica microbiana del agua se concentran en países asiáticos, principalmente en China, donde las investigaciones indagan acerca de las variaciones en las comunidades microbianas a lo largo del proceso de tratamiento de agua potable. Una temática de interés destacada en investigaciones recientes es la perfilación molecular de la estructura de las comunidades microbianas y su capacidad metabólica, así como la identificación de resistomas a partir de análisis metagenómicos en aguas residuales y superficiales (Tang et al., 2021; Wang X. et al., 2025).

La explosión que han tenido los estudios de análisis mediante el uso de herramientas metagenómicas, que permiten la exploración a fondo de ecosistemas microbianos únicos, que van desde el microbioma intestinal de los seres humanos hasta el agua de fosas marinas muy profundas, son una herramienta que ha tomado impulso lentamente con un número creciente de aplicaciones y con enfoques que van más allá del análisis clínico, como la vigilancia de los cambios en la calidad de los microbiomas ambientales, puntualmente fuentes de agua, mediante el análisis de variaciones porcentuales en la variabilidad microbiana o contaminación de tipo bacteriano (Regar et al., 2024). Dicha aplicación de monitoreo que se está empleando actualmente permite la detección de varios indicadores microbianos, especialmente de patógenos. Por ejemplo, en India, a partir del análisis metagenómico de diferentes ríos que convergen en dos de los principales sistemas fluviales de la región, se permitió caracterizar e identificar los diversos consorcios microbianos contenidos en las fuentes, obteniendo como resultado el patrón de diversidad y potencial patogénico de diversas especies de microorganismos encontrados en los sistemas fluviales analizados (Rajeev et al., 2021).

En el año 2008, en el embalse de Saldenbach en Sajonia, Alemania se caracterizó la composición de organismos pertenecientes al dominio Bacteria y Archaea, empleando secuenciación de 16S rARN y utilizando bases de datos como el GenBank, produciendo información amplia acerca de las proporciones demostradas por diversos microorganismos y su variación en diferentes niveles de sedimentación (Röske et al., 2008). Este tipo de abordaje fue empleado recientemente por Y. Wang et al. (2022), quienes, mediante secuenciación de próxima generación (MiSeq, Illumina), evidenciaron la variación en el estado trófico a partir del análisis de la composición de las comunidades microbianas en muestras de agua suprayacente recolectadas en 15 lagos poco profundos de la provincia de Hubei (China).

En América, emergencias sanitarias tales como el brote de colera que se produjo en el año 2010 producto del terremoto en Puerto Príncipe (Haití), generó inquietud en la comunidad científica, en cuanto a la contaminación de sistemas hídricos por patógenos altamente transmisibles por el agua, por lo cual mediante el uso un enfoque metagenómico se analizó la abundancia microbiana de las aguas de los principales afluentes que son empleados para diversas actividades por las comunidades (Roy et al., 2018). Adicionalmente se han desarrollado en estudios de secuenciación rápida por nanoporos para reconocer la “salud” de las cuencas hidrográficas, investigando metagenomas de 11 ríos en 3 continentes, teniendo en cuenta como base la gestión y el monitoreo de los recursos hídricos utilizando métodos como el gradiente de condición biológica para monitorear los niveles de microorganismos de enfermedades transmitidas por el agua y genes de resistencia a los antimicrobianos (RAM), lo que resalta la necesidad de incluir datos de la comunidad microbiana en modelos de ecosistemas a gran escala (Reddington K. et al., 2020).

Análisis sobre las relaciones entre diversas comunidades microbianas bacterias indicadoras, patógenos y ooquistes o quistes de parásitos, se han realizado teniendo en cuenta el

componente climático estacional con enfoques que van encaminados al campo de la agricultura, donde es fundamental el uso de agua segura, para riego y manejo animal (Wilkes et al., 2009).

Desde el punto de vista de un abordaje de contaminación ambiental con enfoque en la salud pública, los análisis de tipo metagenómico permiten identificar las abundancias, caracterizar y diferenciar las comunidades microbianas presentes en diferentes cuerpos de agua que, a partir de la correlación de análisis fisicoquímicos, permitieron encontrar particularidades en cada afluente, lo que indica que cada cuerpo de agua podría tener un microbioma único (Alotaibi et al., 2022).

En Colombia se han desarrollado investigaciones en cuerpos de agua contaminados y con elevados niveles de eutroficación y que se encuentran afectados por las actividades antropogénicas directamente, teniendo en cuenta potenciales funcionales como la resistencia a antibióticos y factores de virulencia asociados (Rivera-Urbalejo *et al.*, 2021; Urrea et al., 2022; Urrea et al., 2024;). Es importante resaltar que a la fecha de esta publicación no se han desarrollado estudios metagenómicos por amplicones o por secuenciación de *shotgun* para el control de calidad de aguas destinadas a consumo humano en Colombia, las aplicaciones más relevantes se encuentran en el campo de la bioprospección, biorremediación y microbiología ambiental.

3. Metodología

3.1. Descripción del área de estudio y metodología de muestreo.

Se designó como área de estudio y recolección de muestras al proyecto de regulación del río Tona - Embalse de Bucaramanga, ubicado en el municipio de Bucaramanga, departamento de Santander (Colombia), a 12 kilómetros del casco urbano, 600 metros aguas arriba de la confluencia de los ríos Tona y Suratá, cuyas coordenadas geográficas corresponden a 7°09'13.6"N

73°05'05.1"W. La recolección de muestras se realizó por muestreo manual de tipo puntual, teniendo en cuenta las directrices de la norma ISO 5667-4:2016, estas se recolectaron en 4 puntos de muestreo con ubicación en la cola, centro, centro_15m y presa del embalse. Es importante resaltar que los puntos de muestreo se seleccionaron considerando el flujo del agua en el sistema, distribuyéndose en tres zonas principales: cola, centro y presa (Figura 1). Esta disposición permitió abarcar las áreas más representativas del embalse y obtener un muestreo espacial integral.

Figura 1. Ubicación geográfica de los puntos de muestreo en el Proyecto de Regulación del río Tona Embalse de Bucaramanga.



Fuente: Tomado de Google earth y modificado por el autor.

La recolección de muestras (1500 ml aproximadamente) fue realizada mediante un procedimiento de recolección estéril, haciendo uso de contenedores de vidrio de 500 ml por triplicados, esto empleando la metodología de muestreo descrita en el apéndice A.

Las muestras colectadas en cada uno de los muestreos realizados fueron transportadas al laboratorio del grupo de investigación en bioquímica y microbiología (GIBIM), ubicado en el edificio de investigación en ciencias (EDIC) de la Universidad Industrial de Santander, bajo condiciones de refrigeración, los parámetros de muestreo se aprecian en la tabla 1.

Tabla 1. *Parámetros de muestreo de agua para análisis metagenómico.*

<u>Ubicación</u>	<u>Tipo de muestreo</u>	<u>Tipo de muestra</u>	<u>Profundidad</u>	<u>Nomenclatura de Muestras</u>
Cola	Puntual	Perfil de área	15 – 20 cm (S)	cola M1; colaM2; cola M3
Centro	Puntual	Perfil de área	15 – 20 cm (S)	centro M1; centroM2; centroM3
Centro_15m	Puntual	Perfil profundo	~ 15 m (P)	centro_15mM1; centro_15mM2; centro_15mM3
Presa	Puntual	Perfil de área	15 – 20 cm (S)	presa M; presaM2; presaM3

Nota: S: Superficial; P: Profunda. M1: Muestras colectadas el día 29 de agosto del 2024; M2: Muestras colectadas el día 30 de septiembre del 2024; M3: Muestras colectadas el día 3 de noviembre del 2024

Es importante resaltar que, al tratarse de un estudio descriptivo de sistemática y ecología molecular, de investigación básica y sin fines comerciales, no se implementó la suscripción de un contrato de acceso a recursos genéticos y/o productos derivados con fines comerciales, industriales o de prospección biológica de conformidad con lo establecido en el artículo VIII del decreto 309 del año 2000 y el artículo 2 de la Resolución 1348 de 2014.

3.2. Análisis Físicoquímico

El análisis físicoquímico se llevó a cabo en el laboratorio de control de calidad de aguas del amb, mediante técnicas analíticas de tipo volumétrico, colorimétrico y de absorción atómica, teniendo en cuenta lo contemplado en el artículo 38 del decreto 1594 de 1984 y parámetros adicionales de análisis ambiental, como son alcalinidad total; aluminio residual; amonio; calcio; COT; Cloruros; Color verdadero; conductividad; Dureza total; Fluoruros; Fosforo reactivo; Hierro total; Magnesio; Nitratos; Nitritos; pH; Potasio; Sodio; Sulfatos y turbiedad. Adicionalmente se analizó conductividad y oxígeno disuelto como parámetros In Situ, haciendo uso del equipo multiparamétrico portátil HACH HQ 40D equipado con una célula de conductividad de grafito de 4 polos y una sonda Intellical de oxígeno disuelto (OD) óptica. Los resultados obtenidos se compararon con las lecturas de asignaciones taxonómicas generadas.

3.3 Extracción de ADN genómico a partir de muestras de agua

Después de la recolección, las muestras se mantuvieron en refrigeración y se procesaron dentro de las 8 horas posteriores a su recolección. Se filtraron entre 400 - 500 mililitros de agua de cada muestra a través de filtros de membrana estériles de 0,22 μm \varnothing 47 mm (PALL) (APHA, 2023; Sambrook et al., 2001). Posterior a la filtración, las membranas fueron dispuestas en tubos de lisis para la extracción de ADN genómico, para esto se empleó el kit comercial DNeasy® PowerWater® Kit. (QUIAGEN). Se realizó una modificación en el protocolo indicado por el fabricante prolongando el tiempo de lisis en vortex a 15 minutos y adicionalmente se añadieron 30 segundos a cada paso de centrifugación. El ADN extraído se almacenó a -20 °C hasta su uso para la preparación de las librerías y la secuenciación de próxima generación ONT.

3.4 Control de calidad ADN genómico de entrada.

Para la determinación de la pureza del ADN genómico extraído se empleó un espectrofotómetro UV-VIS (Espectrofotómetro UV-Vis de microvolumen Implen NanoPhotometer™ NP-80). A partir del material genético extraído de cada una de las muestras, se analizó la concentración y pureza del ADN en la relación de absorbancias 230; 260 y 280 nm; con parámetros de calidad aceptables en los ratios de absorbancia con valores: A 260/280 ($\geq 1,8 - < 2,2$); A 260/230 ($\geq 1,8$). Esto se tuvo en cuenta plenamente en el proceso de secuenciación, ya que podría impactar significativamente en su ejecución las concentraciones y relación de absorbancias obtenidas se documentaron en una tabla (ver Apéndice B). Adicionalmente se evaluó la integridad de los ácidos nucleicos mediante electroforesis en gel de agarosa (ver Apéndice C), con el fin de evaluar algún tipo de fragmentación que indicara degradación visible como material.

3.5 Secuenciación de ADN metagenómico

La secuenciación del ADN metagenómico de cada una de las 12 muestras de agua se realizó usando la tecnología de secuenciación MinION (Oxford Nanopore Technologies). Las librerías de ADN se prepararon usando aproximadamente 200 ng de ADN por muestra mediante el *Rapid Barcoding kit* SQK-RBK114.96 de la casa comercial Oxford Nanopore, que permite multiplexar hasta 96 muestras diferentes y se siguió lo indicado en el protocolo de preparación de librerías (Oxford Nanopore Technologies) disponible en línea. Cada secuenciación se llevó a cabo mediante la metodología *shotgun sequencing*, libre de PCR, utilizando un minisequenciador MinION Mk1B equipado con una celda de flujo FLO-MIN114R (R10.4.1), siguiendo el protocolo estándar del fabricante mediante el software MinKNOW, que funge como la plataforma en la que se realiza la adquisición de datos, análisis en tiempo real, llamada de bases y la transmisión de datos.

3.6 Análisis de datos y asignaciones taxonómicas

Las secuencias crudas obtenidas a partir de la medición directa se registraron y demultiplexaron mediante la plataforma MinKNOW v 6.0.14, que por medio de la tecnología de Basecalling con redes neuronales proveída por el Basecaller DORADO v 0.8.3 permite generar el llamado de bases en tiempo real y la demultiplexación con los códigos de barras empleados (Maghini et al., 2020). Las secuencias obtenidas en formato FASTQ fueron filtradas en la carpeta de salida generada en el servidor en el que se llevó a cabo la secuenciación.

El perfil taxonómico de las secuencias obtenidas se determinó empleando el *pipeline* SqueezeMeta, el cual permite un análisis completo de los datos metagenómicos (Tamames & Puente-Sánchez, 2019). Para las asignaciones taxonómicas se empleó un algoritmo de último ancestro común rápido (LCA) para analizar los resultados de las coincidencias obtenidas con el alineador DIAMOND v2.0.7 (Buchfink et al., 2021), mediante la base de datos GenBank nr. Los contigs se anotaron según un consenso del taxón al que pertenecen la mayoría de sus genes.

Finalmente, los resultados de SqueezeMeta v 1.6.5 se procesaron utilizando el software estadístico R (Zirión-Martínez et al., 2024). Las estimaciones de biodiversidad para cada muestra y la distribución de las anotaciones a nivel de genero (diversidad alfa) se calcularon utilizando el índice de Shannon-Wiener y Chao1 empleando la herramienta virtual MicrobiomeAnalyst (Lu et al., 2023); para el caso del cálculo de riqueza se estimaron curvas de rarefacción, mientras que para determinar la similitud entre muestras (diversidad beta) se emplearan los índices de distancias de Bray Curtis (Haffer, G et al., 2001). Los resultados de los análisis taxonómicos fueron visualizados y analizados con los programas R STUDIO, MEGAN 6 Community edition (Huson et al., 2016) y STAMP v2.1.352,53, usando la taxonomía definida por el árbol taxonómico del NCBI.

3.7 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos metagenómicos se llevó a cabo mediante Análisis de Varianza (ANOVA), con los test post-hoc de Tukey Kramer y Welch; y como prueba de comparación múltiple el test de Bonferroni (Parks et al., 2014). En cuanto a las correlaciones entre los sets de datos metagenómicos y los análisis fisicoquímicos llevados a cabo, para cada una de las muestras recolectadas, y con la finalidad de analizar las posibles variaciones presentadas, se integraron dos tipos de análisis multivariado que son pertinentes para este tipo de estudio, estos hacen referencia a análisis de componentes principales PCA y/o análisis de coordenadas principales PCoA (Ramette, 2007) soportado por análisis de varianza multivariante permutacional (PERMANOVA). Estos análisis se llevaron a cabo con los programas STAMP v2.1.3 (Parks et al., 2014), MEGAN6 351, y MicrobiomeAnalyst.

4. Resultados y Discusión

4.1 Condiciones fisicoquímicas del agua del Embalse de Bucaramanga.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos a partir de las muestras colectadas a lo largo del estudio llevado a cabo se analizaron las variables mencionadas en el numeral 3.2 del presente documento, en estos resultados (Apéndice B) se puede observar características generales agua ligeramente alcalina con niveles de pH que se situaron entre 7,6 y 8,66, y levemente blanda con durezas totales que fluctuaron entre 70,6 y 84,6 mg CaCO₃/l demostrando que es un agua poco mineralizada natural, la conductividad se presentó en niveles normales fluctuando entre 172 – 185 µS/cm, presentando niveles normales sin alteración aparente.

La concentración de carbono orgánico total COT permite estimar en cierto nivel la cantidad de materia orgánica presente en este caso en un sistema de agua, estas concentración se mantuvo en valores entre 2,2 y 2,6 mg COT/l, con una muestra que superó estos niveles (3,4 mg COT/l) que correspondió a la muestra analizada del centro a 15 metros de profundidad identificada como centro_15m M2, este rango ligeramente elevado respecto al promedio pudo presentarse por la concentración aumentada de nutrientes de tipo limnético (Nitrógeno, Fosforo y clorofila) que se podrían generar por el aumento en las lluvias presentado días previos al muestreo, lo que genera movilización de sedimentos en la columna de agua (Yin et al., 2024; Mendonça, R et al 2017). Las concentraciones de oxígeno disuelto fueron considerablemente menores en todas las muestras colectadas a una profundidad de 15 metros, respecto a las muestras que fueron colectadas en el perfil superficial del sistema, esto podría ser congruente con una transición a la eutroficación del cuerpo de agua, ya que se presenta una mayor disponibilidad de oxígeno a nivel superficial y disminuye con la profundidad (Pérez & Restrepo, 2008).

Los parámetros como aluminio residual, amonio, nitratos y nitritos se presentaron en concentraciones inferiores al límite de detección, por lo que no representaron variabilidad. En cuanto a los metales el hierro total (Fe) fluctuó en concentraciones $< 0,060 - 0,25$ mg Fe/l, se observó un leve aumento en la concentración de Fe de la muestra “centro_15m M2”, esto se ha reportado previamente debido a que este compuesto puede ingresar a los lagos como partículas minerales suspendidas, especialmente durante períodos de alto caudal, teniendo relación con el aumento de lluvias exhibido en este muestreo (Björnerås et al., 2021). El magnesio (Mg) se ubicó en concentraciones $3,4 - 3,7$ mg Mg/l, presentando niveles mínimos de este elemento, con fluctuaciones poco representativas; el calcio (Ca) también presentó concentraciones mínimas y de poca fluctuación ubicándose entre $22,6 - 29,8$ mg Ca/l. Respecto a las sales las concentraciones de sodio (Na) se presentaron entre $4,5 - 5,5$ mg Na/l, siendo característico de un reservorio de agua dulce, en lo que respecta al potasio (K) este varió entre $1,1 - 1,4$ mg K/l, encontrándose dentro de concentraciones normales para este tipo de sistemas.

4.2 Parámetros de calidad secuencias obtenidas.

La secuenciación shotgun del material genético obtenido de las muestras del embalse de Bucaramanga, generó aproximadamente 1,6 millones de lecturas crudas. con un Q score entre 9 y 23. De ellas, 1.344.348 lecturas cumplieron con los parámetros de calidad y alrededor de 275.830 lecturas fueron clasificadas como fallidas, generando un total de 4 GB de datos útiles para los análisis subsecuentes. A partir del procesamiento con el software SqueezeMeta, se obtuvo un promedio de 108.455 lecturas por muestra analizada, con una longitud entre 199 pb y 605.427 pb con valores de N50 se enmarcaron en un promedio de 4.378 pb por muestra.

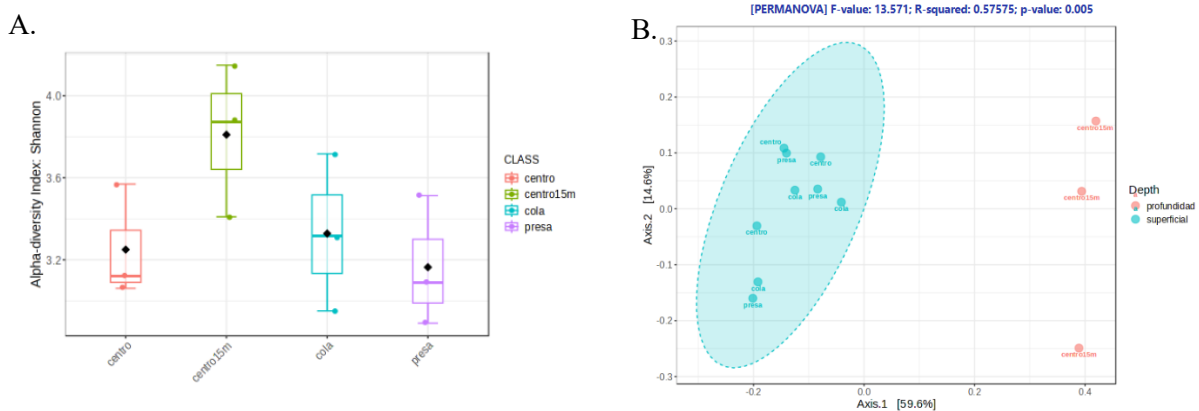
En cuanto a la anotación taxonómica, aproximadamente el 62,17% de los ORFs presentaron coincidencias (hits), y se logró un promedio de 10.601 ORFs con asignación taxonómica a nivel de género. No se alcanzó la resolución a nivel de especie debido a las limitaciones inherentes a la asignación taxonómica basada en datos metagenómicos obtenidos por secuenciación *shotgun*, debido a que SqueezeMeta genera asignaciones taxonómicas a nivel de contigs, generando tablas de abundancia con base en estas anotaciones. La resolución taxonómica depende de la calidad de los datos y de la cobertura de las bases de datos de referencia; esto significa que los resultados debían superar un nivel mínimo de identidad de aminoácidos para su asignación a una especie en específico empleando el algoritmo de Last Common Ancestor (LCA), lo que no fue posible dentro de los sets de datos analizados (SqueezeMeta, sf., 2019). Esta limitación se acentúa por la falta de genomas completos de aislados o secuencias MAG de alta calidad, lo que genera una homología variable entre muestras o genes, producto de la anotación conservadora que emplea el pipeline.

4.3 Diversidad de las comunidades microbianas presentes en el embalse de Bucaramanga.

Para estimar la cobertura taxonómica en los muestreos, se realizó un análisis de rarefacción a partir de las asignaciones taxonómicas obtenidas (ver Apéndice D). La mayoría de las curvas tienden a estabilizarse exhibiendo una meseta en la acumulación de nuevas especies en la mayoría de las muestras, lo que indica que se logró capturar aproximadamente el 95% de la diversidad microbiana presente en cada muestra analizada. Esta alta cobertura sugiere que el muestreo del ecosistema analizado fue representativo, cubriendo adecuadamente las variaciones espaciales. Estos resultados son consistentes con estudios metagenómicos previos en cuerpos de agua con características similares, como lagos de uso recreativo (Mahi M. et al., 2017).

La diversidad taxonómica estimada mediante el índice de Shannon destacó que todas las muestras colectadas presentan una diversidad relativamente alta a nivel de géneros microbianos por muestra (figura 2A), lo que representa una equitatividad moderada a alta entre los organismos encontrados en las aguas embalsadas, sugiriendo que la mayor parte de los individuos evaluados en dicho nivel taxonómico no se encuentran dominados excesivamente por uno solo (Chen et al., 2019; Obieze et al., 2022). Esto es especialmente relevante en lagos de agua dulce, tanto naturales como artificiales, ya que se ha documentado previamente que la disminución de la diversidad alfa en estos ecosistemas puede reflejar la pérdida de biodiversidad (Siallagan, Z.L et al., 2024). Además, es útil como un indicador del estado trófico, principalmente de la tendencia a la eutroficación, debido a la relación entre la disponibilidad aumentada de nutrientes en el medio, lo que propicia la dominancia de organismos que tienen potencial de afectar la calidad del agua (Congmin Zhu et al., 2021; Yi Wang et al., 2022).

Figura 2. Índices de diversidad en el Embalse de Bucaramanga.



Nota: A. Diversidad alfa (Shannon) de comunidades microbianas. B. Diversidad beta de comunidades microbianas.

En cuanto a la evaluación de la diversidad beta (figura 2B), se pudo evidenciar una clara diferenciación de las muestras respecto a la profundidad a la que se realizaron los muestreos, indicando que los organismos que se encuentran alrededor de 15 metros de profundidad (hipolimnion) son diferentes a los que se encuentran en la superficie (PERMANOVA, $p < 0.005$). Esto fue un factor determinante en la estructura de las comunidades de microorganismos evaluados a nivel de género, lo que puede deberse en gran medida a los factores fisicoquímicos del medio, principalmente la concentración de oxígeno, disponibilidad de luz y nutrientes. Lo anterior, genera una variación significativa en los organismos en la columna de agua, propiciando una especialización microbiana en este estrato.

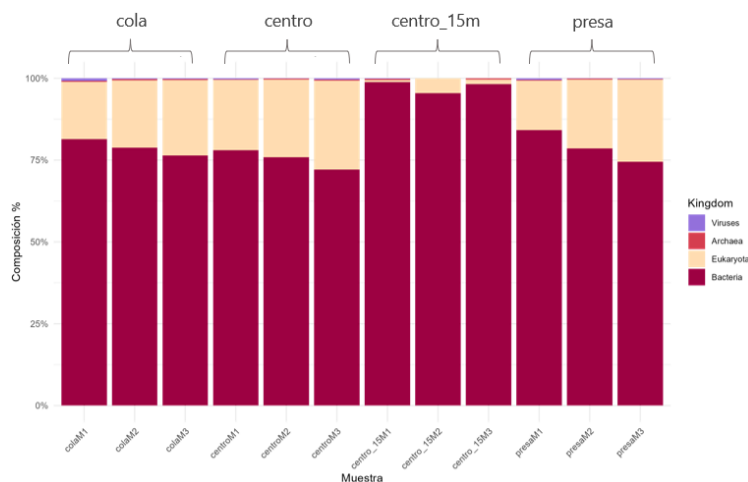
4.3.1 Composición y estructura de las comunidades microbianas presentes en el agua del Embalse de Bucaramanga.

A partir del análisis de las 12 muestras se identificaron 675 unidades taxonómicas operativas (OTUs), que fueron clasificadas hasta el nivel de género. Estos resultados se obtuvieron posterior al filtrado de los *singletons*, teniendo en cuenta que pueden ser artefactos en la secuenciación (Betiku et al., 2021;). En la figura 3 se aprecia la composición taxonómica del agua del Embalse captado por muestra a nivel de dominio, dónde se evidenció una abundancia inferior al 1% de los dominios Archaea y Virus. En cuanto a los organismos Eucariotas, estos presentaron una mayor abundancia en las muestras colectadas a nivel superficial (15 – 30%), a diferencia de las muestras del centro tomadas a quince metros de profundidad, en donde representaron aproximadamente el 5%, siendo consistente para todas las muestras analizadas en ese punto en específico. El dominio Bacteria fue el más abundante en todas las muestras del Embalse de Bucaramanga, con abundancias relativas entre el 70 y 98%, indicando que los organismos que

componen este super reino son los más abundantes en el cuerpo de agua, lo que es consistente con diversos estudios realizados en sistemas lacustres y de agua dulce, donde las bacterias son los organismos predominantes debido a su capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales (Wei et al., 2022). Adicionalmente los organismos que conforman el dominio Bacteria son fundamentales en la regulación de diversos procesos de modulación de tipo ecológico en los ecosistemas acuáticos (Alotaibi et al., 2022).

En el patrón de abundancia por dominio se destaca la diferencia marcada entre las muestras colectadas en la superficie y a 15 metros de profundidad, lo que refleja cambios en la estructura de las comunidades presentes a lo largo de la columna de agua. Esta variación presentada está determinada principalmente por las diferencias en la disponibilidad de luz, concentración de oxígeno, condiciones moduladas por el carácter de este ecosistema como un lago artificial de poca profundidad, influenciado por una intensa actividad antrópica y un aporte considerable de nutrientes (Howe et al., 2022; Wang et al., 2024).

Figura 3. Estructura y abundancia relativa de las comunidades microbianas en el agua del Embalse de Bucaramanga a nivel de dominio.



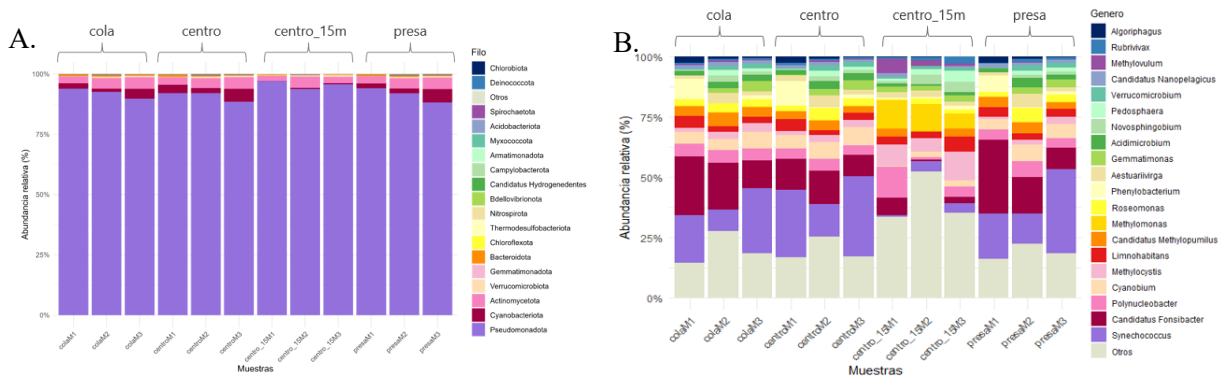
4.3.2 Composición y estructura de las comunidades Procariotas en el agua del Embalse de Bucaramanga.

Los filos Pseudomonadota (mayor 90%), Cyanobacteriota (2 a 5%) y Actinomycetota (aproximadamente 5%) se identificaron como los más abundantes, dentro de las comunidades bacterianas (Figura 4A), siendo consecuente con resultados similares que se han obtenido previamente en otros ambientes acuáticos como lagos de alta montaña y aguas superficiales urbanas (Jin et al., 2018; Wei et al., 2022). Estos filos se presentan en proporciones relativamente similares en todas las muestras, observándose una leve diferenciación en las muestras colectadas en el centro del embalse a 15 metros de profundidad donde las proporciones de abundancia del filo Cyanobacteriota (menos del 1% al 1%) fueron sustituidas por el filo dominante Pseudomonadota (mayor a 95%). Esto se presenta debido a que los organismos que pertenecen a este filo exhiben un metabolismo mediado por fotosíntesis oxigénica, y teniendo en cuenta la concentración de oxígeno disuelto (Apéndice C) y poca o nula disponibilidad de luz en este punto de muestreo, tienden a ser menos abundantes bajo estas condiciones (Erratt et al., 2023; Sweetlove et al., 2025). La prevalencia del filo Pseudomonadota en todas las muestras analizadas, se asocia a la notable adaptabilidad a ambientes oligotróficos y su rol en la dinámica trófica, como bacterias de vida libre con alta capacidad metabólica (Gupta et al., 2016). Esto es una característica común en sedimentos como en aguas marinas, caracterizándose por participar activamente en procesos biogeoquímicos de ecosistemas lacustres o marinos (Saleem et al., 2019).

En cuanto a los principales géneros bacterianos identificados (figura 4B), destacaron por su abundancia los géneros *Synechococcus* (1 a 32%), *Candidatus Fonsibacter* - *Ca. Fonsibacter* (1 a 30%), *Polynucleobacter* (1 a 12%), *Cyanobium* (1% a 9%), *Methylocystis* (menor de 1% a 8%), *Limnohabitans* (1% a 6%), *Candidatus Methylopumilus* - *Ca. Methylopumilus* (1 a 5%),

Methylomonas (menos de 1% a 10%), *Roseomonas* (2 a 5%) y *Phenylobacterium* (menor de 1% a 9%).

Figura 4. Estructura y abundancia relativa de las comunidades bacterianas en el agua del Embalse de Bucaramanga.



Nota: **A.** Abundancia relativa de filos bacterianos por muestra. **B.** Abundancia relativa de géneros bacterianos por muestra.

Las cianobacterias *Synechococcus* y *Cyanobium* (Cyanobacteriota) dominaron el picofitoplancton del embalse, especialmente ubicándose en el epilimnion, donde por su actividad fotosintética son favorecidas por la incidencia de luz (Pagels et al., 2023). Estos géneros contribuyen significativamente a la producción primaria, de hasta el 85% en sistemas de agua dulce (Gin et al., 2021; Jakubowska & Szelaż-Wasielewska, 2015). Especies del género *Cyanobium* presentan adaptaciones notables exhibiendo tolerancia a compuestos tóxicos como el arsénico, haciéndolas organismos útiles en bioensayos de ecotoxicidad y procesos de biorremediación en aguas naturales contaminadas (Pérez-Portilla et al., 2021; Yamagishi, T et al., 2018). La proliferación de cianobacterias representa un riesgo potencial de floraciones tóxicas, tal como se ha registrado en grandes reservorios de agua como el lago El lago Taihu en China y el El lago Erie en Estados Unidos de América (EUA), debido principalmente al aumento de la

temperatura de los cuerpos de agua y concentraciones de nutrientes elevadas como nitrógeno y fosforo (Huisman et al., 2018).

Candidatus Fonsibacter (Pseudomonadota), miembro dulceacuícola del clado SAR11 (Henson et al., 2018). Estas bacterias, únicas en su linaje, están adaptadas estrictamente a ambientes dulceacuícolas, caracterizadas principalmente por su gran abundancia en el planeta, encontrándose principalmente en capas eutróficas de cuerpos acuáticos lenticos principalmente con mayores abundancias en temporadas cálidas (Tsementzi et al., 2019; Chen et al., 2019). Son ubicuas en este tipo de ecosistemas ya que representan especialización en la asimilación de compuestos orgánicos de bajo peso molecular (Salcher et al., 2011). Su mayor abundancia en las capas superficiales del agua embalsada se relaciona con su metabolismo aerobio estricto y la disponibilidad de oxígeno. Este patrón se mantuvo en todas las épocas de muestreo, sugiriendo una actividad constante en la transformación de materia orgánica disuelta, como se reportó en estudios de caracterización taxonómica de este organismo (Henson et al., 2018).

El género *Polynucleobacter* (Pseudomonadota) representa bacterias de vida libre con gran adaptación a diversos hábitats y condiciones en ecosistemas de agua dulce, principalmente en ambientes ricos en sustratos y con buena adaptación a sistemas anoxigénicos (Betiku et al., 2021; Hahn et al., 2017). En cuanto a las condiciones propias del agua embalsada, la presencia de este tipo de organismos puede ser útil al momento de detectar cambios y variaciones ambientales ya que se han estudiado como organismos con características de bioindicador ambiental (Ballesteros et al., 2023) debido a su capacidad de adaptación, lo que les permite ocupar nichos diversos en cuerpos de agua dulce (Hosen et al., 2017; Wu Q. L. & Hahn, 2006).

Las bacterias metanotróficas fueron abundantes especialmente en las muestras capturadas a profundidad (hipolimnion) del Embalse de Bucaramanga, representadas por los géneros

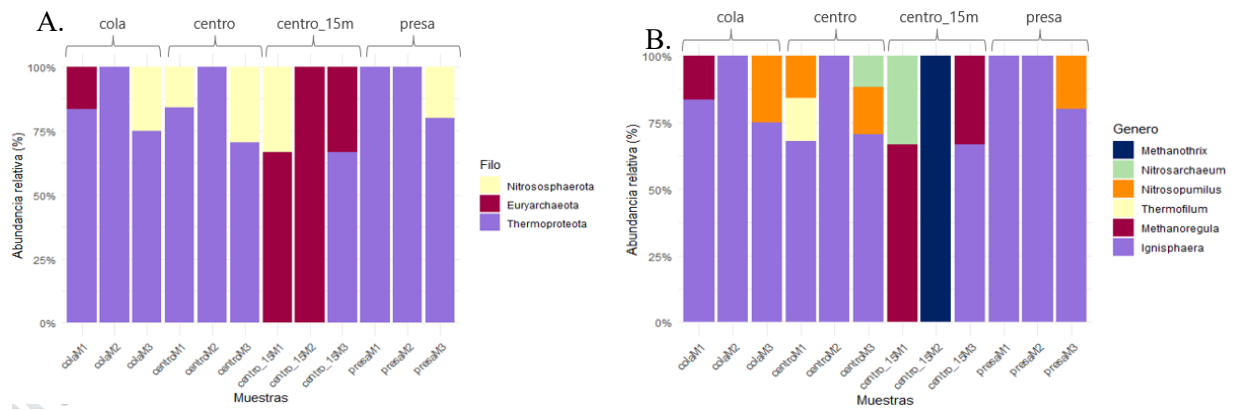
Methylocystis (tipo II) y *Methylomonas* (tipo I) (Pseudomonadota). Las bacterias del género *Methylocystis* tienen la capacidad metabólica de utilizar el metano como única fuente de carbono y energía (Borrel et al., 2011; Dedysh et al., 2007). Estudios realizados mediante el ensamblaje de genomas por metagenomas (MAG's) y metatranscriptómica revelaron la capacidad superior que exhiben particularmente los metanotrofos tipo II del género *Methylocystis*, destacando su capacidad de metabolizar metano, carbono y fósforo, además de tener un papel en procesos como la oxidación de sulfuro, la oxidación de tiosulfato y la reducción de arsénico en cuerpos de agua embalsados (Wang et al., 2024). Por su parte, el género *Methylomonas*, muestra adaptación a condiciones con baja concentración de oxígeno, utilizando nitrato como aceptor electrónico alternativo (Sang et al., 2024), lo que podría explicar su predominancia en las muestras colectadas a profundidad (centro_15m). Este hallazgo es de relevancia pues estos microorganismos estuvieron presentes en todas las muestras, destacando en mayor proporción y abundancia en el hipolimnion, lo que podría relacionarse con sus funciones metabólicas y la posible relación con la oxidación del metano en este estrato, comparado con la superficie (Reis et al., 2024). Además, la prevalencia de metanotrofos de tipo I fue registrada previamente en sedimentos de lagos de agua dulce (Lyautey et al., 2021; Reis et al., 2024), lo que es compatible con lo hallado en estas aguas que fueron el objeto de este estudio, indicando su papel crucial en procesos de equilibrio ambiental en la columna de agua.

Entre las bacterias pelágicas relevantes destacó el género *Ca. Methylopumilus* (Pseudomonadota), con una distribución homogénea en la columna de agua durante todos los muestreos (M1, M2 y M3). Estos organismos metilotróficos destacan por su capacidad para utilizar compuestos de un solo carbono derivados de la descomposición orgánica, jugando un papel crucial en el ciclo del carbono especialmente en zonas donde se acumulan subproductos de productores

primarios (Salcher et al., 2015). Finalmente, las especies clasificadas dentro del género *Phenylobacterium* (Pseudomonadota), se caracterizan por metabolizar compuestos heterocíclicos fenólicos como fuente de carbono (Baek et al., 2019). Sin embargo, algunas especies poseen un espectro metabólico más amplio y pueden ser aerobias estrictas o anaerobias facultativas, lo que amplía su adaptabilidad (Wang N. et al., 2024; Zhang et al., 2024). Su mayor presencia en el epilimnion, particularmente en la época con menor precipitación, podría asociarse con una mayor concentración de compuestos fenólicos debido a la menor dilución del sistema (Pérez & Restrepo, 2008).

El dominio Archaea presenta un papel destacado en los ecosistemas acuáticos, aunque su distribución ha sido documentada principalmente en aguas marinas, lacustres salobres y sistemas geotermales, dado a que estos organismos presentan características extremófilas (Francis et al., 2005). Este género representó menos del 1% de la abundancia de los organismos identificados en el agua del embalse de Bucaramanga, sin embargo, los filos asociados al dominio Archaea en el agua Embalsada fueron Thermoproteota, Euryarchaeota y Nitrososphaerota, los cuales se distribuyeron en todas las muestras, en algunos casos siendo dominantes al 100% (figura 5A).

Como se observa en la figura 5B, se destaca la dominancia del género *Ignisphaera* (Thermoproteota) cuya presencia se ha reportado principalmente en lagunas termales, debido a que son organismos heterotróficos hipertermófilos, anaerobios estrictos (Allioux et al., 2022; Podosokorskaya et al., 2024). Hasta el momento no se ha registrado presencia de estos organismos en sistemas de agua dulce o lagos, lo cual debe investigarse a fondo comparando estos datos con ensamblajes metagenómicos existentes, con el fin de generar un análisis filogenético basado en la secuenciación del gen 16S que permita corroborar este particular estos hallazgos.

Figura 5. Estructura de comunidades Arquéales en el agua del Embalse de Bucaramanga.

Nota: **A.** Abundancia relativa de fillos Arquéales en el agua del Embalse de Bucaramanga. **B.** Abundancia relativa de géneros virales en el agua del Embalse de Bucaramanga.

La presencia de metanógenos es relevante en los sistemas lacustres y en aguas embalsadas, destacando para este caso los géneros *Methanoregula* y *Methanotherix* detectados principalmente en las muestras del hipolimnion. Estos organismos se encuentran vinculados a la producción activa de metano y otros gases de efecto invernadero, favorecida por la disponibilidad de sedimentos en este estrato. El género *Methanoregula*, se reconoce como una de las comunidades con mayor influencia en el flujo de metano (Borrel et al., 2011; Liu et al., 2025), con un dominio considerable en cuencas hidrográficas predominantemente boscosas, dónde tienden a presentarse mayores abundancias relativas (Juottonen et al., 2020), lo cual concuerda con la microcuenca del río Tona, dónde los bosques han sido ampliamente preservados. Por su parte *Methanotherix*, se identificó exclusivamente en la muestra denominada centro_15M2, con una abundancia relativa del 100%. Este género se ha reportado principalmente en condiciones anoxigénicas, desempeñando un papel importante en las emisiones globales de metano en diversos ambientes naturales y artificiales; además, estos organismos presentan capacidad documentada de realizar metanogénesis acetoclástica, a partir de acetato (Zhou et al., 2023).

Otro importante ciclo biogeoquímico es el ciclo del nitrógeno, este proceso requiere de la participación de microorganismos en cualquier ecosistema. Los organismos oxidadores del amoníaco cumplen un papel fundamental en el mantenimiento del equilibrio de la concentración de amoníaco, este es un compuesto nocivo para la ictiofauna y los seres humanos, por lo que la oxidación del amoníaco mediado por arqueas y su transformación en depósitos de nitritos es muy importante en los reservorios de agua (Klotz et al., 2022; Qin et al., 2017b). En el agua del Embalse de Bucaramanga los géneros arqueanos oxidadores de amoníaco (AOA) identificados fueron *Nitrosopumilus* y *Nitrosarchaeum*.

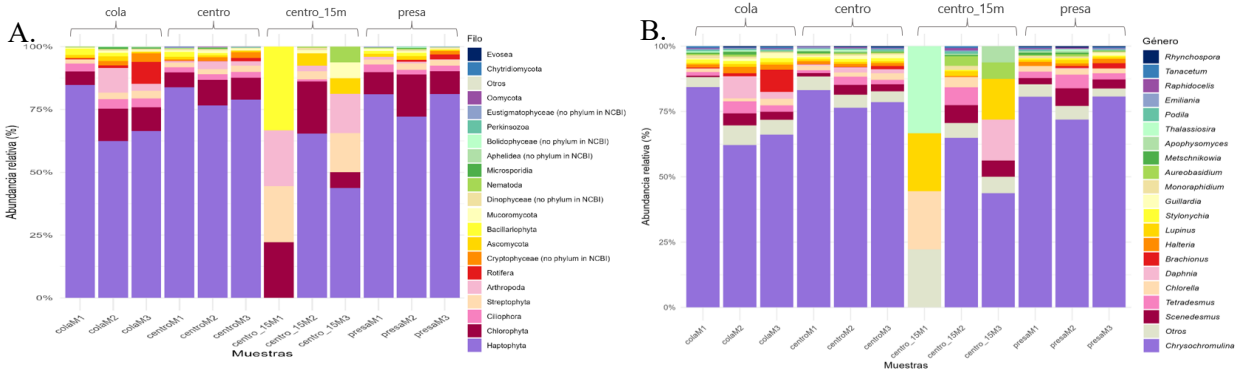
Estos organismos han sido asociados principalmente a cuerpos de agua salobres, sin embargo, se han reportado especies como *Nitrosopumilus limneticus*, en el hipolimnion de lagos oligotróficos (Qin et al., 2017a), no obstante, como se puede ver en los resultados obtenidos, este género se presentó en el epilimnion de las muestras tomadas en el mes de noviembre de 2024 (muestreo M3), y la muestra tomada en el mes de agosto de 2024 denominada centro M1, a pesar de que la concentración de nitritos no varió en dichas muestras, teniendo en cuenta que son organismos poco dominantes esto indica que podrían ser variaciones en concentraciones con baja o nula significancia en el cuerpo de agua. Las especies Arqueales que componen al género *Nitrosarchaeum* se caracterizan por ser aerobios mesófilos, autótrofos y oxidantes de amoníaco que habitan en ambientes no marinos como de baja salinidad (Bollmann et al., 2024; Jung et al., 2018;), su presencia en el agua del embalse fue limitada, presentándose en la muestra centro M3 y centro_15 M1, esto no indicaría cambios considerables en la concentración de nitrógeno amoniacal en el agua embalsada, lo que no representaría variaciones significativamente biológicas, que generen una variación en la dinámica de las comunidades.

4.3.3. Composición y estructura de las comunidades Eucariotas en el agua del Embalse de Bucaramanga.

En el embalse de Bucaramanga las comunidades de organismos eucariotas se encontraron representadas principalmente por los filos Haptophyta (60% a 85%), Chlorophyta (5% a 22%), Ciliophora (2% a 5%), Streptophyta (2% a 15%), Arthropoda (2% a 15%) y Rotifera (1% a 10%) (figura 6A). Es importante destacar que las muestras del centro tomadas a profundidad de 15 metros (hipolimnion) tuvieron una menor abundancia de organismos eucariotas y proporcionalmente menor diversidad, debido a las condiciones de hipoxia y baja luminosidad característica de este estrato lo que limita la proliferación de estos organismos.

Dentro de los principales géneros microbianos eucariotas identificados (figura 6B) destacaron *Chrysochromulina* (menor de 1% a 80%); *Scenedesmus* (1% a 6%); *Tetrademus* (menor de 1% a 6%); *Chlorella* (1% a 17%); *Daphnia* (< 1% a 15%); *Brachionus* (< 0,1% a 7%); *Halteria* (menor de 1% a 2%); *Stylonychia* (menor de 1% a 18%) y *Guillardia* (menor de 0,1% a 2%). Se observó un claro predominio en el agua los microorganismos eucariotas pertenecientes a géneros de microalgas, componentes esenciales del fitoplancton por su papel como productores primarios, estabilizadores del ciclo de nutrientes y actores clave en las redes tróficas (Deodato et al., 2019). Estos organismos representaron entre el 45 y el 80% del total de los organismos eucariotas identificados en el agua del Embalse de Bucaramanga, siendo particularmente abundantes *Chrysochromulina*, *Scenedesmus*, *Tetrademus*, *Chlorella* y *Guillardia*. Este hallazgo es relevante, debido al papel que juegan los organismos eucariotas unicelulares como productores primarios su importancia para el sistema evaluado como sustento de la red trófica (Cuvelier et al., 2010).

Figura 6. Estructura y abundancia relativa de las comunidades eucariotas en el agua del Embalse de Bucaramanga



Nota: **A.** Abundancia relativa de filos eucariotas por muestra. **B.** Abundancia relativa de géneros eucariotas por muestra

A nivel ambiental las algas verdes son de gran importancia como organismos bioindicadores, principalmente de eutroficación de un sistema acuático. Salo & Salovius-Laurén (2022) demostraron una relación entre la tasa de absorción de nutrientes y la eutroficación de lagunas costeras, además de probar la capacidad de estos organismos de acumular diferentes contaminantes, como metales pesados, por lo que el estudio a fondo de este tipo de organismos abre un camino interesante a nivel de investigación.

En la zona superficial, destacó la dominancia del género *Chrysochromulina* (Haptophyta), mayormente asociado a ecosistemas marinos y estuarianos, pero cuya capacidad de adaptación le permite colonizar con éxito ambientes lénticos continentales, como lagos y embalses (Deodato et al., 2019; S. Zhang et al., 2024). Siendo esto consecuente con lo exhibido en la prevalencia de este tipo de microalgas en el epilimnion del agua embalsada, sugiriendo un papel relevante como productor primario, lo que se ha documentado principalmente en ecosistemas oceánicos (Zhang et al., 2024). La capacidad de *Chrysochromulina* para prosperar en este entorno podría estar

favorecida por las condiciones templadas y la disponibilidad de nutrientes del embalse, factores que suelen ser determinantes para este grupo de microalgas.

Por su parte, el género *Scenedesmus* (Chlorophyta), con abundancia relativa cercana al 8%, mostró una distribución heterogénea en el agua. Este género de algas verdes plantónicas destaca por su tolerancia a concentraciones elevadas de nutrientes y se caracterizan por su alta producción de biomasa en fase estacionaria, (Rocha et al., 2017; Silambarasan et al., 2022). Son organismos con alta eficiencia en la eliminación de nutrientes, con potencial de aplicación en biotecnología y biorremediación (Dubey et al., 2024), por ejemplo, son empleadas ampliamente en el tratamiento de aguas residuales, con potenciales aplicaciones en biorremediación, procesos industriales y biotecnológicos (Amorim et al., 2020; Thangam et al., 2021), por lo que su presencia podría vincularse a zonas con mayor carga trófica dentro del embalse. Similarmente *Tetradesmus* (Chlorophyta) fue detectado principalmente en el epilimnion, relacionándose a las zonas con mayor concentración de oxígeno disuelto (Ver apéndice E). Algunas especies como *Tetradesmus obliquus* BR003, exhiben gran capacidad de adaptación a diferentes condiciones de estrés celular (Cesário et al., 2021), distinguiéndose también por su potencial en la producción de ácidos grasos saturados, como ácido palmítico, linoleico y oleico, que son relevantes a nivel industrial (Bravo et al., 2024; Pérez-Barradas et al., 2023). Su localización superficial sugiere una preferencia por ambientes bien oxigenados y de mayor luminosidad, favoreciendo su metabolismo fotoautotrófico.

Un patrón distinto fue presentado por el género *Chlorella* (Chlorophyta), ya que se detectó en todas las muestras, con especial abundancia en el hipolimnion (centro_15M1), donde fue el único género de microalgas identificado. Este hallazgo es coherente con su capacidad fotosintética, rápido crecimiento (Zou et al., 2022) y adaptabilidad a condiciones extremas les posicionan como organismos versátiles y adaptables dado a su mixotrofia (Safi et al., 2014), útiles en procesos de

fitorremediación, por su habilidad metabólica de sintetizar compuestos orgánicos e inorgánicos como amonio y fosforo (Lavriničs et al., 2022). La presencia predominante de este género en el estrato profundo (hipolimnion) podría indicar la acumulación de compuestos como nitrógeno, fósforo y carbono orgánico en esta capa, lo cual resulta relevante para inferir procesos de mineralización y almacenamiento de materia orgánica (Narayanan et al., 2021).

Guillardia (Chrytophyta) se registró en la mayoría de las muestras superficiales, especialmente en los puntos de cola y centro del embalse. Como nanoflagelado mixotrófico con capacidad bacterívora, *Guillardia* cumple un rol esencial en la transferencia de materia orgánica disuelta hacia niveles tróficos superiores (Grujic et al., 2018). Estas microalgas se encontraron distribuidas en la mayoría de las muestras tomadas en el estrato superficial del embalse, particularmente en los muestreos de cola y centro, esto es consecuente con lo reportado previamente donde el filo Chrytophyta se encontró en mayor proporción bajo condiciones cálidas, con capacidad de adaptación a diversos estratos analizados (Shi et al., 2023), sin embargo, en el caso puntual no se identificó su presencia en el hipolimnion del embalse.

Finalmente, el zooplancton también tuvo representación significativa dentro de las comunidades encontradas. Estos organismos destacan por su rol ecológico, fundamentalmente en este tipo de ecosistemas, actuando como regulador de la abundancia de las comunidades fitoplanctónicas, sirviendo como filtros naturales, que controlan la sobrepoblación de algas y posibles floraciones tóxicas en lagos y embalses (Pinto et al., 2025) destacando su importancia en el equilibrio del ecosistema. Entre los géneros más destacados se encontraron *Daphnia*, *Brachionus*; *Halteria* y *Stylonychia*, los cuales se encontraron exclusivamente en las muestras correspondientes al epilimnion.

Los protozoarios ciliados *Halteria* y *Stylonychia* (Ciliophora), representaron entre el 1% y 3% (figura 6B) de los eucariotas identificados. Destacados por su participación como un enlace crítico entre los organismos procariotas y el zooplancton eucariota presente en los ecosistemas pelágicos, se consideran cruciales en el flujo de energía, biomasa y nutrientes a través de la red trófica (Moschos et al., 2024). Los organismos del género *Halteria* fungen como bacterívoros y virovoros de importancia en lagos mesotróficos y eutróficos (DeLong et al., 2022; Moschos et al., 2024; Simek et al., 2000). Mientras *Stylonychia*, representado por especies de vida libre como la especie *S. lemnae*, son utilizados como modelo en biología celular, debido a la presencia de un macronúcleo (MAC) y micronúcleo (MIC), estructuras útiles en estudios sobre telómeros, cromatina y citotoxicidad ambiental en aguas contaminadas (Aeschlimann et al., 2014; L. Wang et al., 2020). Los resultados obtenidos evidencian una comunidad eucariota diversa y estructurada, con presencia de géneros representativos de distintos grupos filogenéticos, lo que refleja la heterogeneidad ambiental del embalse de Bucaramanga, que se sustenta en el balance de las redes tróficas en el sistema.

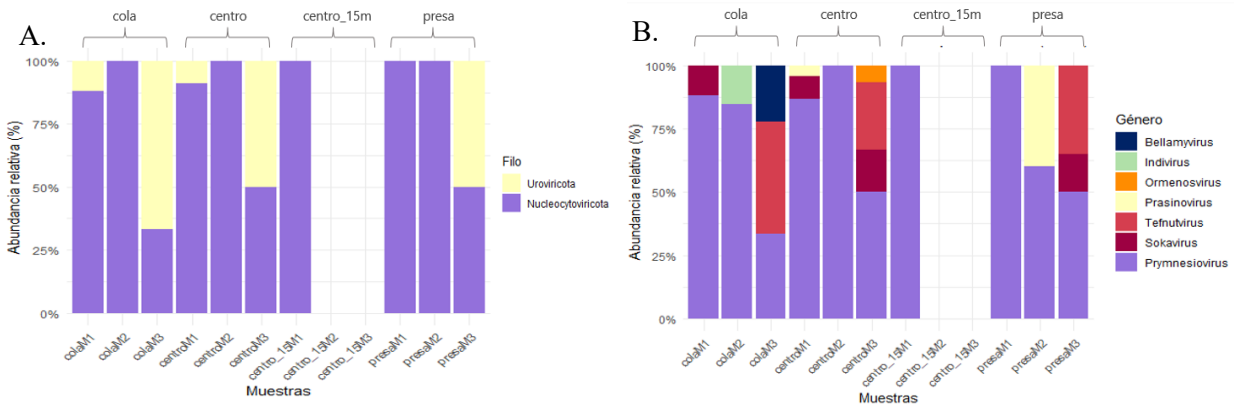
4.3.4. Composición y estructura de las comunidades virales en el agua del Embalse de Bucaramanga.

Las entidades biológicas con mayor abundancia en diversos ecosistemas son los virus, ya que se encuentran asociados a células viables en su entorno, puesto requieren la maquinaria molecular para su proliferación, los bacteriófagos son los más abundantes en ecosistemas acuáticos (Jain et al., 2023; Kellogg, 2010; Wu S. et al., 2020). Teniendo en cuenta que la metodología de extracción de ADN no se encontraba dirigida a el análisis del viroma completo del agua embalsada, se recuperaron pocas secuencias compatibles con viroplancton que conformó las comunidades

microbianas representando menos del 1 % de la abundancia relativa de las secuencias identificadas (figura 3).

Los OTUs virales asociaron únicamente con los filos Nucleocytoviricota (30% - 100%) y Uroviricota (12% - 70%) (figura 7A) relacionándose principalmente al epilimnion del embalse. Dos de las doce muestras no presentaron secuencias compatibles con virus (“centro_12 M2” y “centro_15 M3”). El filo Nucleocytoviricota se caracteriza por presentar un taxón monofilético comprendido por géneros cuyas partículas virales de ADN se establecen como grandes y gigantes, como los Pandoravirus, cuyo tamaño se compara al de algunas bacterias y su genoma tiene mayor complejidad que el de algunos organismos eucariotas (Belhaouari et al., 2022; Philippe et al., 2013). Miembros de este grupo taxonómico se han identificado como patógenos de diversos organismos como algas, protistas, invertebrados y vertebrados (Witt et al., 2024), sin embargo, estudios previos han demostrado que la infectividad de estas partículas en el ambiente se dirige principalmente a células eucariotas por complejos de entrada – fusión multiproteica, por lo que no presentan patogenicidad demostrada en humanos (Hong et al., 2024; Kao et al., 2023). El filo Uroviricota se ha relacionado a bacteriófagos de cola larga, presentan gran abundancia en aguas residuales, principalmente destacándose por la transferencia de genes metabólicos auxiliares (AMG), estos mecanismos se detectaron por metodologías de Metatranscriptómica, viéndose activos este tipo de genes en procesos cruciales para bacterias y arqueas como la síntesis de vitaminas (Hong et al., 2024; Zhang J. et al., 2024)

Figura 7. Estructura y abundancia relativa de las comunidades virales en el agua del Embalse de Bucaramanga.



Nota: **A.** Abundancia relativa de filos virales. **B.** Abundancia relativa de géneros virales

Los géneros virales detectados más relevantes (figura 7B) fueron Prymnesiovirus (Nucleocytoviricota), cuya única especie documentada es el virus PW1 *Chrysochromulina brevifilum* que infecta principalmente a algas haptofitas, reportándose principalmente en ecosistemas marinos (Mirza et al., 2015). Esto es consecuente con los hallazgos en el embalse teniendo en cuenta que el género de haptofitas más abundante fue *Chrysochromulina*.

El género *Sokavirus* se ha reportado como cianófago del género bacteriano *Synechococcus*, que fue el microorganismo más abundante en el agua embalsada. Estos virus representan una tasa de infección calculada en alrededor del 80% de la masa celular y se consideran como canales cruciales en la liberación de carbono orgánico fijado por fotosíntesis en materia orgánica particulada a depósitos de materia orgánica disuelta mediante el ciclo lítico, mostrando influencia en los ciclos biogeoquímicos (Jiang T. et al., 2020).

4.3.5 Estructura espaciotemporal de las comunidades microbianas totales presentes en el agua del embalse de Bucaramanga.

El agua del embalse de Bucaramanga mostró una composición taxonómica de microorganismos que tiende a ser homogénea en un mismo punto de muestreo a través del tiempo, con una mínima diferenciación presentada en el análisis PCoA (ver Apéndice F). Sin embargo, si se observó una marcada diferenciación de las muestras de acuerdo con la profundidad y localización espacial de muestreo. Por ejemplo, en las muestras superficiales (epilimnion), especialmente durante los muestreos M2 y M3, se observó una fuerte influencia del género bacteriano *Synechococcus*, cianobacteria del picoplancton conocida por su papel clave en la producción primaria. Esta dominancia sugiere una contribución significativa al sustento del bacterioplancton y otros componentes de la red trófica microbiana, particularmente bajo condiciones de mayor pluviosidad que podría haber favorecido la entrada de nutrientes al sistema (Parli et al., 2021). Se evidenció también una marcada dominancia espacio-temporal del género eucariota *Chrysochromulina* en las muestras colectadas en superficie, lo cual es relevante dada la importancia de los microorganismos eucariotas, ya que cumplen funciones fundamentales en los ecosistemas acuáticos debido a su estrecha relación con las bacterias, principalmente en la regulación de las redes tróficas, desempeñando roles como productores primarios, consumidores secundarios y parásitos en los sistemas de agua dulce (Cuvelier et al., 2010; Keck et al., 2020; Sweetlove et al., 2025). Este género fue dominante a lo largo del tiempo, indicando su estabilización en el agua, lo que concuerda con registros en aguas templadas o estacionalmente cálidas (Perneel et al., 2024; Shi et al., 2023), y sugiere que la concentración de biomasa fitoplanctónica estaría relacionada en mayor medida con microalgas haptofitas estabilizadas en este entorno.

En contraste, el género *Ca. Fonsibacter* se asocia principalmente a las muestras superficiales del muestreo M1, recolectadas durante el periodo de menor pluviosidad. Esta distribución podría estar vinculada a la mayor temperatura del agua y mayor concentración de compuestos orgánicos solubles característicos de estos eventos, lo que sugiere una alta adaptabilidad de este taxón a condiciones más cálidas y oligotróficas. Su presencia refuerza la hipótesis de una respuesta ecológica microbiana ante las fluctuaciones ambientales del sistema (Tsementzi et al., 2019).

La diferenciación observada entre muestras superficiales y profundas, aun en un número limitado de géneros visualizados, confirma una especialización microbiana influenciada por gradientes ambientales verticales (tales como luz y oxígeno disuelto, entre otros). Esto coincide con lo reportado en estudios que destacan cómo la estratificación en embalses favorece la diversificación funcional de los microorganismos en la columna de agua (Wang et al., 2024; Wood et al., 2024).

Los análisis realizados permitieron detectar una comunidad microbiana diversa y estructurada de acuerdo con la estratificación del embalse, dominada por géneros microbianos como *Synechococcus*, *Chrysochromulina* y *Ca. Fonsibacter*, en consonancia con estudios realizados en otros ecosistemas tropicales. La composición de las comunidades microbianas observada sugiere una especialización funcional asociada a condiciones tróficas locales, aspecto que no había sido previamente reportado para este tipo de cuerpos de agua, teniendo en cuenta su relevancia. La composición observada sugiere una especialización funcional asociada a condiciones tróficas locales, aspecto que no había sido previamente reportado para este sistema.

4.4 Bioindicadores asociados a la alteración de la calidad microbiológica y fisicoquímica del agua en el Embalse de Bucaramanga.

4.4.1 Abundancia de bioindicadores de alteración microbiológica de la calidad del agua identificados en el Embalse de Bucaramanga.

Con base en la normatividad colombiana vigente, se observó una mínima abundancia de OTUs relacionados con microorganismos patógenos y potencialmente patógenos transmitidos a través del agua. No se identificaron secuencias compatibles con géneros tales como *Citrobacter* y *Enterobacter* (coliformes totales), y dentro del grupo de los coliformes, se detectaron secuencias compatibles con el género *Escherichia* en 8 de 12 muestras, y *Klebsiella* en 4 de las 12 muestras analizadas (Apéndices G y H).

Escherichia coli (*E. coli*) es una bacteria reconocida ampliamente por su alta patogenicidad. Cepas como *E. coli* O157:H7 enterohemorrágica han sido identificadas en brotes a nivel mundial en sistemas de agua potable y residual, representando infecciones gastrointestinales de alto impacto (Mogessie et al., 2024), ya que son microorganismos que presentan dosis infectivas de alrededor de 10 células (Mogessie et al., 2024; Zhu et al., 2025). Estudios previos demuestran que su supervivencia en el ambiente se sustenta fundamentalmente por organismos nativos en los sistemas en que prolifera, además de la concentración de nutrientes, por lo que este tipo de patógenos de importancia en salud pública se han visto favorecidos por ambientes con dominancia de procariontes patógenos, que interactúan favoreciendo la proliferación y resiliencia celular (Zhang N. et al., 2023).

Dentro del género *Klebsiella*, destaca la especie *Klebsiella pneumoniae*. Este patógeno se encuentra de forma ubicua en diversos ecosistemas, sin embargo, su detección en el ambiente

puede deberse a cargas de tipo antropogénico (Araújo et al., 2024). Este tipo de organismos representan gran importancia a nivel clínico, teniendo en cuenta que son bacterias caracterizadas por generar un amplio rango de enfermedades en el ser humano, además cuentan con capacidad de expresar genes de resistencia a antibióticos estudiados ampliamente a nivel clínico (De Oliveira et al., 2020). El estudio de este tipo de patógenos y la expresión de genes de resistencia a nivel ambiental, principalmente en aguas, es un campo en desarrollo, teniendo en cuenta que se ha reportado la diseminación de cepas multi-drogaresistentes (MDR) en aguas residuales y naturales (Araújo et al., 2024; Denissen et al., 2023; Rolbiecki et al., 2025). Esto ha adquirido relevancia, debido a que es una de las diez amenazas en salud pública declarada por la OMS, por su gran adaptabilidad y movilización de genes de resistencia a antibióticos (Murray et al., 2022;), por lo que su identificación y estudio a nivel ambiental es destacado.

El género *Mycobacterium* fue considerado un indicador de alteración microbiológica del agua, destacando por su presencia en todas las muestras analizadas. Se observó un número acumulado de secuencias considerable en comparación con otros organismos indicadores, especialmente en la muestra “centro_15 M1”, donde se identificaron 80 secuencias afiliadas a este género, la mayor cantidad registrada en las 12 muestras analizadas. Además, su presencia se evidenció tanto en el epilimnion como en el hipolimnion del embalse.

Dentro de este género destacan las micobacterias no tuberculosas como *Mycobacterium avium*, cuyo aislamiento en aguas naturales ha sido documentado y se ha vinculado a infecciones pulmonares por consumo de agua potable derivada de fuentes de agua superficial con concentraciones elevadas de estos microorganismos, principalmente con presencia de turbiedades altas y mayor concentración de sólidos suspendidos (Dowdell et al., 2019). Este tipo de bacterias se caracteriza por ser oportunista, infectando principalmente a pacientes con enfermedades

crónicas de base o inmunocomprometidos. Además, exhiben una notable y bien documentada resistencia a los procesos de desinfección en sistemas de tratamiento convencional (Dowdell K. S. et al., 2024; Kotlarz et al., 2019). Este tipo de resistencia fue comprobada hace décadas haciendo uso de cultivos puros, donde se demostró que son requeridas dosis de desinfectante hasta 2000 veces mayores a las necesarias para eliminar organismos como *Escherichia coli* (Kotlarz et al., 2019; Taylor et al., 2000). Este hallazgo es particularmente relevante, considerando la creciente importancia de estos microorganismos en aguas naturales y en sistemas de distribución de agua potable. La baja detección de este género en las muestras analizadas no debe subestimarse, ya que la extracción de ADN y su identificación mediante métodos de secuenciación puede resultar difícil, dadas las características morfofisiológicas y genómicas particulares que presentan estas células bacterianas (Haig et al., 2018).

En línea con las perspectivas internacionales sobre el control de calidad en sistemas de agua potable, se destacan los organismos considerados de riesgo emergente. Esta preocupación se debe, principalmente, a los cambios ambientales derivados de diversas actividades humanas, los cuales pueden afectar las fuentes de agua natural y, por ende, impactar directamente la calidad del recurso. Es fundamental reconocer a los microorganismos patógenos que pueden contribuir al deterioro de las fuentes hídricas o servir como indicadores de este proceso, especialmente en reservorios de agua (Piegadoñ & Tchórzewska-Cieślak, 2025).

Por esta razón, se filtraron los géneros presentes en el agua del Embalse de Bucaramanga que han sido señalados por la OMS como una “problemática emergente” en salud pública, al presentar evidencia de transmisión a través del agua potable. Su presencia en los sistemas de captación puede orientar los objetivos de los Planes de Seguridad del Agua (PSA), mediante la caracterización integral de las fuentes hídricas y la identificación de riesgos potenciales en cada

etapa del proceso de tratamiento, incluyendo captación, pretratamiento, tratamiento, almacenamiento y distribución (Parra et al., 2025). En este contexto, la información recopilada en esta investigación es de gran valor, ya que revela características microbiológicas relevantes en el sistema de captación más importante de la ciudad de Bucaramanga, reflejando las condiciones actuales del reservorio.

En este caso en los Apéndices J y K se pueden apreciar los géneros con evidencia de transmisión por agua potable identificados en el agua embalsada, destacando por la acumulación de secuencias los géneros *Aeromonas* y *Pseudomonas*. En el caso del género *Aeromonas*, este presentó la mayor acumulación de secuencias en 11 de 12 muestras analizadas, la muestra con mayor acumulación de secuencias estuvo representada por la muestra denominada “centro M1”, este tipo de bacterias son ubicuas en el estrato superficial y profundo en diferentes cuerpos de agua y suelo, reportándose incluso en agua clorada, son oportunistas con capacidad de causar infecciones gastrointestinales, meningitis, osteomielitis, úlceras, infecciones oculares, septicemia o la muerte, con dosis infectivas reportadas en brotes de gastroenteritis de $1 - 10^4$ UFC/ 100 ml (Botero et al., 2023; Carusi et al., 2023).

La especie *Aeromonas hydrophila* es un patógeno emergente que puede encontrarse en aguas naturales con capacidad de alterar la calidad del agua de consumo humano, su prevalencia en agua potable se debe a su descrita habilidad de generar biopelículas en diversas superficies biológicas o inertes como tuberías y sistemas de almacenamiento, generando potencialmente resistencia a la cloración y cloro residual (Li Q. et al., 2021), exhibiendo adicionalmente genes de resistencia a antimicrobianos como factor de virulencia de importancia en salud pública (Carusi et al., 2023; Figueira et al., 2011; Li Q. et al., 2021), países como Estados Unidos han establecido en sus políticas sanitarias la inclusión de *Aeromonas hydrophila* en la lista de contaminantes

microbiológicos candidatos, esta lista generada en el año 2022, por la Agencia de Protección Ambiental, plantea contaminantes no regulados pero que presentan evidencia necesaria y potencial para encontrarse en sistemas de agua potable (EPA, 2022).

Las bacterias que pertenecen al género *Pseudomonas* son organismos ubicuos en suelo, plantas y en fuentes de agua natural. Para el caso del agua del Embalse de Bucaramanga se reportaron secuencias con afiliación a este género en todas las muestras analizadas, destacando la acumulación de secuencias en las muestras tomadas en el centro en el estrato profundo denominada “centro_15 M2”, donde se detectaron 145 secuencias compatibles con este género.

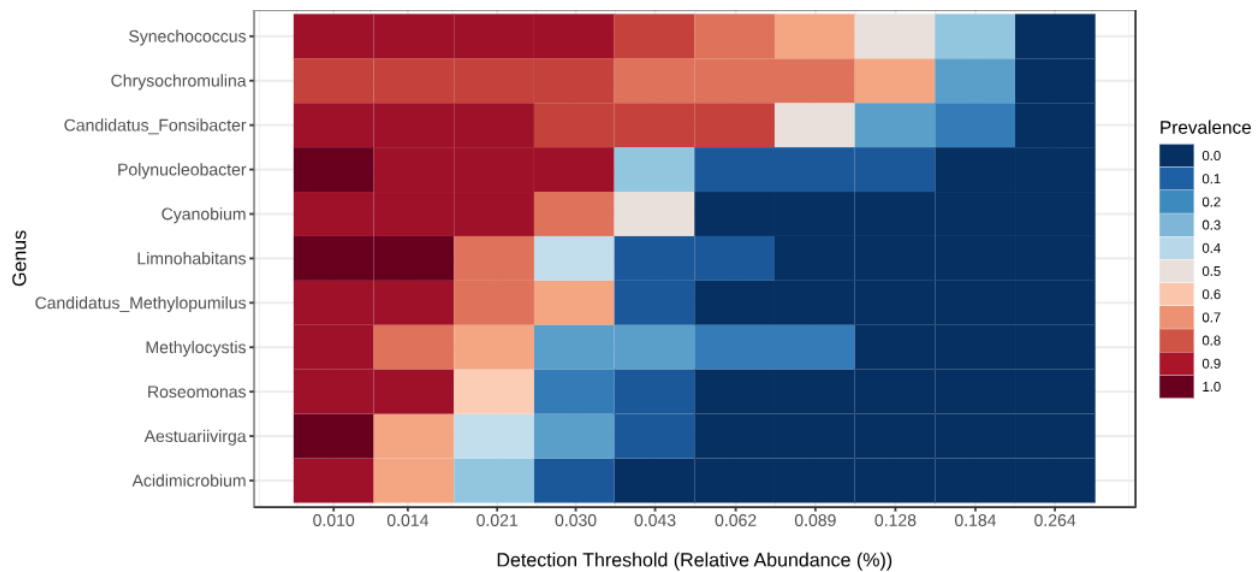
En materia de indicadores de alteración microbiológica del agua, la especie *Pseudomonas aeruginosa*, un bacilo Gram negativo no fermentador (BGNNF) notable por su capacidad de producción de pigmentos como piocianina, pioverdina y piomelanina. Se considera un patógeno emergente de importancia en salud pública, que ha sido aislado en sistemas de tratamiento de agua potable (Behzadi et al., 2021). Su presencia en este tipo de ambientes se explica por su adaptabilidad, ampliamente documentada, y específicamente por su capacidad para formar biopelículas en diversas superficies. Esta estrategia brinda una destacada protección frente a ataques del sistema inmune del hospedero, así como frente al efecto de antibióticos, bactericidas e incluso desinfectantes como el cloro (Shahab et al., 2025). Esto favorece el desarrollo de células en un estado viable pero no cultivable, que demuestran resiliencia celular y pueden recuperar su virulencia en condiciones adecuadas (Horikian et al., 2024). Estos microorganismos afectan principalmente a pacientes inmunocomprometidos siendo las Unidades de Cuidados Intensivos un entorno donde estos patógenos suelen encontrarse, y su circulación podría estar asociada con la contaminación proveniente del agua (Turban et al., 2024; Zhou Q. et al., 2024).

En conjunto, estos hallazgos reflejan una comunidad microbiana con baja abundancia de patógenos reconocidos en la mayoría de las muestras, aunque con presencia de géneros de importancia en salud pública que justifican un monitoreo continuo. Estos resultados constituyen una base técnica de valor para fortalecer los Planes de Seguridad del Agua (PSA) en el sistema de abastecimiento de Bucaramanga, priorizando la vigilancia de microorganismos emergentes y resistentes que podrían representar riesgos futuros bajo cambios en las condiciones ambientales o en la presión antrópica sobre el embalse.

4.4.2 Bioindicadores de alteración fisicoquímica de la calidad del agua identificados en el Embalse de Bucaramanga.

La alteración fisicoquímica del agua derivada de procesos biológicos representa una preocupación creciente en salud pública. Estas alteraciones afectan directamente los procesos de tratamiento de agua, tales como la coagulación y filtración, y también la calidad del agua modificando sus características organolépticas, por ejemplo, el sabor y olor (WHO, 2022b). Además, pueden generarse compuestos químicos no regulados con potencial impacto negativo sobre la salud de humana y la fauna (WHO, 2022a)

Al analizar la abundancia de los microorganismos encontrados en el embalse de Bucaramanga se encontró una dominancia marcada de cianobacterias, (figura 8), donde el género *Synechococcus* fue el organismo que presentó mayor prevalencia, lo que fue consecuente con la abundancia relativa presentada de 15- 30% aproximadamente principalmente en las muestras del epilimnion del embalse (figura 4B).

Figura 8. *Microbioma central del agua del Embalse de Bucaramanga.*

La dominancia de cianobacterias en el fitoplancton representa un problema ambiental y sanitario creciente, principalmente por la ocurrencia de floraciones tóxicas asociadas a estos organismos (Lefler et al., 2025). Estos eventos suelen desencadenarse por variaciones fisicoquímicas, como el aumento de la temperatura, la concentración de nutrientes, la luz y el pH del agua, que favorecen tanto a su proliferación como al estrés celular. Como resultado, se ve comprometida la calidad del recurso hídrico, su sustentabilidad y sus posibles usos, debido a la capacidad documentada de las cianobacterias para producir toxinas como microcistinas, cilindrospermopsinas, anatoxinas-a y saxitoxinas (Krausfeldt et al., 2024; Mao et al., 2022).

Aunque las cianobacterias del género *Synechococcus* no han sido tradicionalmente relacionadas con la generación de floraciones tóxicas, Gin et al. (2021) describieron la capacidad de ciertos aislamientos de *Synechococcus* sp. provenientes de un cuerpo de agua dulce para producir cilindrospermopsina (CYN) y anatoxina-a (ATX). Además, considerando la notable

adaptación de estos organismos a condiciones de estrés ambiental, se plantea la posibilidad de que, en el futuro, puedan originar floraciones tóxicas (Bukowska et al., 2017; Sim, Z. et al., 2023).

La contaminación de los cuerpos de agua por cianotoxinas es un problema de salud pública que puede acarrear complicaciones para la salud humana (WHO, 2020a). La cilindrospermopsina (CYN), producida por varios géneros de cianobacterias, presenta una alta persistencia ambiental, estabilidad química y baja tasa de degradación. La intoxicación aguda por CYN afecta principalmente al hígado y los riñones, alterando el metabolismo de proteínas y colesterol, además de provocar modificaciones en los eritrocitos y coagulopatías (Martínez A., 2021; Mutoti et al., 2023). Teniendo en cuenta la toxicidad demostrada en modelos animales, la OMS estableció valores de alerta para el agua destinada al consumo humano: 0,7 µg/L para exposición crónica y 3 µg/L para exposición aguda (WHO, 2022a).

En referencia a la neurotoxina de tipo alcaloide ATX, este tipo de toxina es un agente bloqueador neuromuscular despolarizante postsináptico, agonista de los receptores nicotínicos en las uniones neuromusculares, ganglios autónomos y otras partes del sistema nervioso (Lovin et al., 2024; Mutoti et al., 2023). La intoxicación con esta sustancia puede generar una estimulación colinérgica con síntomas como salivación, temblor muscular, convulsiones e insuficiencia respiratoria por su acción en la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa. La principal vía de exposición a este tipo de cianotoxina es el consumo de agua potable proveniente de fuentes afectadas por floraciones tóxicas de cianobacterias (WHO, 2022a). Plata-Calzado et al. (2023) demostraron en ensayos *In vitro* de análisis de micronúcleos que la combinación de CYN y ATX presentó genotoxicidad en la línea celular L5178Y Tk+/-; lo que podría estar relacionado con efecto de tipo carcinogénico por la exposición prolongada (Rajput et al., 2024).

Otra alteración documentada que pueden generar las cianobacterias es la producción de compuestos responsables de olor y sabor, los cuales afectan la calidad del agua superficial y pueden percibirse en el agua potable. La geosmina (GSM) y el 2-metilisoborneol (MIB) son compuestos olorosos comúnmente detectados en embalses alrededor del mundo. El MIB, en particular, es producido principalmente por cianobacterias (Su et al., 2014; Clercin et al., 2021; Zhangsun et al., 2024). Se ha reportado la producción de 2-metilisoborneol en embalses por parte de varios géneros de cianobacterias, siendo *Cyanobium* uno de los principales productores de MIB en cuerpos de agua (Zhangsun et al., 2024). Este género fue el segundo más abundante dentro del microbioma central del embalse (Figura 8), por lo que, en épocas de sequía intensa, podría favorecerse un aumento de olores en el agua embalsada. Este hallazgo es relevante, ya que permite anticipar y gestionar eventos similares, como el ocurrido en el lago Erie, en Toledo (Ohio), donde una floración de cianobacterias generó toxinas en el sistema de captación de agua, afectando a más de 450.000 usuarios del acueducto local. Este caso demostró la vulnerabilidad ante fenómenos de esta magnitud y la necesidad de implementar soluciones basadas en innovación tecnológica para mejorar la gestión del riesgo asociado a las cianobacterias (Alliance for the Great Lakes, 2019; Erratt et al., 2023; Wang N. et al., 2024).

Como se observa en el microbioma central del agua del embalse de Bucaramanga (Figura 8), el segundo grupo microbiano dominante fue el género de haptofitas *Chrysochromulina*, con presencia en 11 de las 12 muestras analizadas y una abundancia relativa por muestra entre el 45 % y el 80 %, aproximadamente. Si bien este tipo de microalgas destaca por su papel fundamental como productores primarios en la red trófica, también tienen la capacidad de alterar el medio en el que se desarrollan, principalmente por su potencial de generar floraciones algales nocivas (FAN) (Erdner et al., 2008). Este tipo de fenómenos, caracterizados por la proliferación exacerbada de

algas, pueden causar graves daños ambientales, afectar la ictiofauna y representar riesgos potenciales para la salud humana (Anderson et al., 2021). Las especies con capacidad nociva, por su producción de toxinas, generan un aumento en la biomasa descontrolado, causan agotamiento de la concentración de oxígeno y reducción de la biodiversidad en la columna de agua, afectando las condiciones tróficas del cuerpo de agua (Anderson et al., 2021). Esto no se observó en el Embalse de Bucaramanga, debido a que la diversidad exhibida por las comunidades microbianas es considerablemente alta y no se presenta un desequilibrio ecológico de las comunidades microbianas, expresado por la dominancia de un organismo en particular.

Las FAN se han reportado en cuerpos de agua del norte de Europa, ocasionando pérdidas considerables en la industria piscícola de esta región. En 2019, se registró una FAN causada por la especie *Chrysochromulina leadbeateri*, que provocó la muerte de aproximadamente 14 mil toneladas de peces en las costas y fiordos noruegos, siendo la floración más devastadora conocida en la zona. Este fenómeno estuvo influenciado por la concentración de nutrientes, el aumento de la temperatura del agua y la disminución de la salinidad (Wang X. et al., 2024). El incremento en la concentración celular de microalgas se ha asociado con la producción de compuestos bioactivos citotóxicos, que han demostrado tener actividad lítica y efectos nocivos sobre el tejido epitelial de las branquias de los peces. Además, el alto contenido de ácidos grasos libres generado durante una floración puede interactuar con especies reactivas de oxígeno (ROS), dando lugar a compuestos potencialmente perjudiciales para la salud humana (Fon et al., 2025).

Dentro de la comunidad microbiana identificada en el microbioma central del Embalse de Bucaramanga, destacó un patrón de diversidad relativa homogénea (entre el 3 % y el 12 %) en las secuencias correspondientes a géneros bacterianos presentes en todas las muestras analizadas. Entre ellos, sobresalió *Polynucleobacter*, un género bacteriano documentado como indicador de

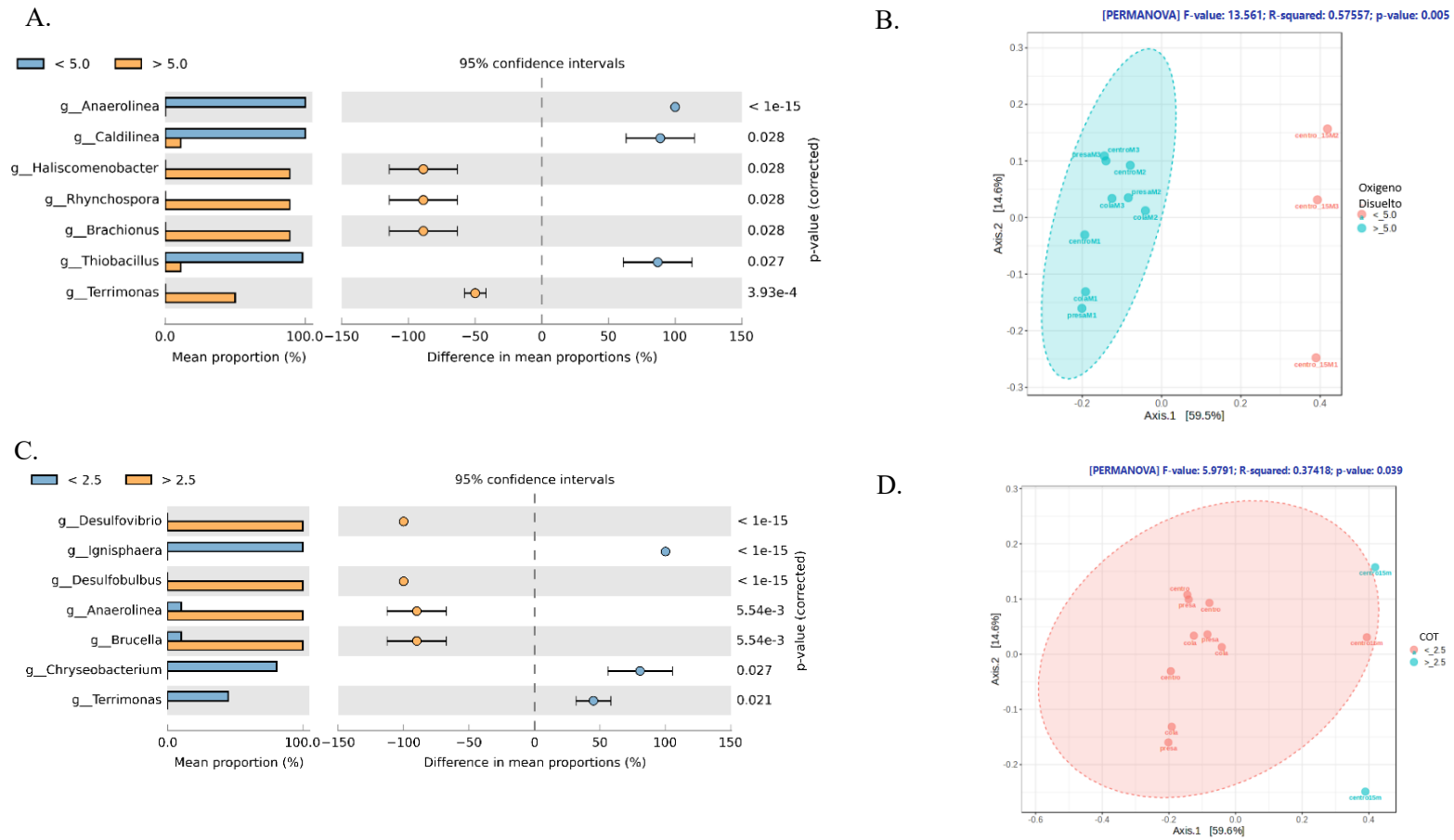
eutrofización e impacto antropogénico. Hosen et al. (2017) lo describen como altamente abundante en arroyos urbanizados, donde representó el 1,65 % de las secuencias, en comparación con solo el 0,58 % en arroyos forestados. Este grupo bacteriano también fue identificado en humedales colombianos con distintos grados de carga antropogénica, evidenciándose su predominancia en sistemas con elevada intervención humana (Ballesteros et al., 2023). Ecológicamente, *Polynucleobacter* se clasifica como una ultramicrobacteria oligotrófica, con capacidad de adaptación y descomposición de materia orgánica. Por estas características, este género podría representar un bioindicador potencial de las condiciones tróficas y de acumulación de materia orgánica en el agua del Embalse de Bucaramanga, así como en otros cuerpos de agua de la región con distintos niveles de impacto antrópico, lo que es importante en el monitoreo y conservación de las fuentes de agua a nivel regional.

El agua del Embalse de Bucaramanga alberga grupos microbianos con potencial impacto de la calidad del agua y la salud pública. La dominancia de cianobacterias del género *Synechococcus*, junto con la abundancia de *Cyanobium*, sugiere riesgo de producción de cianotoxinas y/o compuestos organolépticos que afectan el sabor y olor del agua derivados de floraciones de cianobacterias. Asimismo, la prevalencia de haptofitas del género *Chrysochromulina*, con antecedentes de floraciones nocivas, resalta la importancia de vigilar posibles cambios ambientales que favorezcan este tipo de eventos. La detección de *Polynucleobacter*, indicador de eutrofización e impacto antrópico, refuerza la necesidad de monitoreo permanente para prevenir desequilibrios ecológicos y garantizar la calidad y seguridad del recurso hídrico.

4.5 Correlación de la calidad fisicoquímica del agua del Embalse de Bucaramanga con la presencia y abundancia de bioindicadores.

Los procesos biológicos y químicos están estrechamente relacionados en todos los ecosistemas del planeta. Los microorganismos requieren diversos elementos para su crecimiento y reproducción celular; además, su capacidad adaptativa puede reflejar variaciones significativas en ambientes específicos; por lo tanto, los parámetros fisicoquímicos desempeñan un papel crucial en la interacción entre los microorganismos y su entorno. La comparación entre los patrones taxonómicos y los análisis fisicoquímicos de las muestras extraídas del Embalse de Bucaramanga, realizada mediante pruebas de Welch con corrección de Bonferroni usando la herramienta estadística STAMP (Parks et al., 2014), permitió identificar géneros microbianos con potencial como bioindicadores asociados a variaciones fisicoquímicas.

Se encontró una relación positiva estadísticamente significativa (IC del 95% y p-valor corregido $< 0,05$) entre la concentración de oxígeno disuelto y la abundancia de algunos géneros microbianos, tales como *Anaerolinea*, *Thiobacillus* y *Caldilinea*, los cuales presentan una relación positiva a condiciones hipóxicas con concentraciones de oxígeno menores a 5,0 mg O₂/l. Por otra parte, los géneros *Haliscomenobacter*, *Rhynchospira*, *Brachionus* y *Terrimonas* se relacionaron positivamente con concentraciones de oxígeno mayores a 5,0 mg O₂/l (figura 9A), evidenciándose la influencia directa que tiene la concentración de oxígeno en la estructura de las comunidades microbianas encontradas en el embalse. Lo anterior se relaciona con las diferencias observadas entre las muestras de la superficie y profundidad, explicándose aproximadamente el 57% de la variación microbiana de las comunidades, respecto a este parámetro en específico con una relevancia estadística significativa (figura 9B).

Figura 9. Relación de parámetros fisicoquímicos y abundancia de géneros microbianos en el agua del Embalse de Bucaramanga

Nota: **A.** Relación de la abundancia relativa de géneros microbianos y concentración de OD en el agua del Embalse de Bucaramanga. **B.** PCoA análisis diversidad beta comunidades microbianas relacionada con concentración OD. **C.** Relación abundancia relativa de géneros microbianos y concentración de COT **D.** PCoA análisis de diversidad beta comunidades microbianas relacionadas con la concentración de COT.

En cuanto a la relación a la materia orgánica y los datos taxonómicos del metagenoma del embalse de Bucaramanga se logró observar una relación positiva estadísticamente significativa (IC del 95% y p-valor corregido $< 0,05$) entre la abundancia de ciertos géneros microbianos y la concentración de carbono orgánico total (COT) que representa la fracción orgánica de los compuestos presentes en el agua (figura 9C): Por ejemplo, los géneros *Desulfovibrio*, *Desulfibulbus*, *Anaerolinea* y *Brucella* presentaron una correlación positiva con concentraciones de COT superiores a 2,5 mg COT/l, mientras que *Ignisphaera*, *Chryseobacterium* y *Terrimonas* evidenciaron una relación positiva estadísticamente significativa con concentraciones de COT inferiores a 2,5 mg COT/l. La figura 9D muestra la ordenación multivariada asociada a la concentración de COT en el agua, explicando alrededor del 34% de la variación total de las comunidades microbianas detectadas en el agua del Embalse ($P < 0,05$), demostrando que la concentración de materia orgánica representa un factor importante en cómo se conforman y establecen las comunidades microbianas.

Las especies bacterianas de la familia Anaerolineaceae han sido aisladas de sistemas de digestión anaeróbica, donde exhiben un metabolismo fermentativo basado en el uso de carbohidratos, compuestos proteicos y fuentes de azufre bajo condiciones anaerobias (McIlroy et al., 2017; Hu et al., 2024; Pu et al., 2024). Además de su papel en la metilación del mercurio en suelos agrícolas y en la nitrificación de sedimentos costeros (Pu et al., 2024; You et al., 2023), la mayoría de los géneros asociados a esta familia son bacterias termófilas. *Anaerolinea*, por ejemplo, incluye especies representativas como *Anaerolinea thermophila*, comúnmente asociadas a ambientes con alta concentración de materia orgánica, como biorreactores de plantas de tratamiento biológico de aguas residuales (PTBAR) (Hu et al., 2024). Esto se evidenció en el presente estudio mediante una correlación positiva estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre

la abundancia del género *Anaerolinea* y la concentración de carbono orgánico total (COT) (Figura 9C), lo que sugiere su potencial como bioindicador de eutrofización en lagos o embalses y del aumento en la contaminación de cuerpos de agua.

El género *Terrimonas* mostró una relación positiva con condiciones oxigénicas ($> 5,0$ mg O_2/l) y concentraciones bajas de materia orgánica ($< 2,5$ mg COT/l). Estas bacterias desempeñan un papel clave en los procesos de desnitrificación en suelos rizosféricos, y también han sido identificadas en microbiomas asociados a sistemas de tratamiento de aguas residuales, participando tanto en las fases aeróbicas como anaeróbicas del proceso (Wang H. et al., 2021; Zhang Y. et al., 2024). La especie *Terrimonas aquatica* fue aislada por primera vez en un manantial de agua dulce en Taiwán, y se describió como una bacteria aerobia e inocua en estos ambientes (Sheu et al., 2010).

La desnitrificación aerobia constituye un proceso esencial en cuerpos de agua como lagos y embalses, debido a la eutrofización generada por la acumulación de nitrógeno, teniendo en cuenta que en ambientes oligotróficos la relación de carbono/nitrógeno no es lo suficientemente alta para ofrecer energía y un fuerte flujo de electrones para el crecimiento celular y la desnitrificación biológica (Deng et al., 2020; Di et al., 2025; Kou et al., 2024). Esto resulta en bajas tasas de transformación del nitrógeno total, generando una acumulación a largo plazo, ocasionando un aumento progresivo de la eutrofización, lo que en embalses significa condiciones de afectación del ecosistema acuático (Di et al., 2025), aumento de costos en el tratamiento de agua para consumo humano y disminución de la vida útil del embalse (Pérez & Restrepo, 2008).

La relación positiva presentada entre el género *Terrimonas* con concentraciones de oxígeno disuelto elevadas y COT bajas (oligotrofia), posiblemente por su papel como organismo desnitrificador aerobio en el sistema, el aumento de la abundancia de este tipo de organismos puede

emplearse como un indicador de agua bien oxigenadas con poco impacto, como manantiales o lagunas de alta montaña.

Los resultados evidencian que las condiciones fisicoquímicas, como oxígeno disuelto y el carbono orgánico total, influyen de manera determinante en la estructura y composición de las comunidades microbianas de un entorno determinado, permitiendo identificar géneros con potencial como bioindicadores de calidad del agua y grado de eutrofización. La asociación de *Anaerolinea* con ambientes hipóxicos y altos niveles de materia orgánica sugiere su utilidad como marcador de procesos de contaminación y enriquecimiento trófico, mientras que *Terrimonas*, destacó como un organismo relacionado con condiciones oxigenadas y bajas concentraciones de carbono, podría indicar aguas de mejor calidad y menor intervención antrópica. Estos hallazgos resaltan la importancia de integrar análisis metagenómicos con parámetros fisicoquímicos para mejorar el monitoreo y la gestión de ecosistemas acuáticos.

5. Conclusiones

En este estudio se logró identificar por primera vez las comunidades microbianas presentes en el Proyecto de Regulación Hídrica del río Tona - Embalse de Bucaramanga, el reservorio de agua más importante del nororiente colombiano. Mediante un enfoque metagenómico innovador basado en secuenciación masiva tipo *shotgun* mediante la tecnología de secuenciación de nanoporos, se identificaron 675 géneros microbianos dominados principalmente por organismos bacterianos y eucariotas, destacando filos tales como Pseudomonadota, Cyanobacteriota y Actinomycetota. La estructura de las comunidades microbianas encontradas en el embalse es compleja y diversa, con una dinámica significativa asociada a la estratificación del embalse y a las interacciones con la red trófica, demostrando así una posible especialización funcional y ecológica en el cuerpo de agua establecida a lo largo del tiempo.

Se estableció la presencia y abundancia de bioindicadores de alteración de la calidad microbiológica conforme a la legislación colombiana y normativas internacionales vigentes. Se identificaron géneros bacterianos clave tales como *Escherichia*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Aeromonas* y *Pseudomonas*, los cuales poseen potencial documentado para afectar la salud de los seres humanos incluso con bajas dosis infectivas, y están asociados a brotes infecciosos en la comunidad como es el caso de *Escherichia coli* O157:H7 enterohemorrágica. Asimismo, se detectaron organismos oportunistas con mecanismos de resistencia a los desinfectantes estudiados, así como microorganismos considerados como contaminantes emergentes con potencial de comprometer la calidad del agua potable lo cual destaca la necesidad de su monitoreo e investigación constante no sólo en las fuentes de agua, sino también en la red de distribución de agua potable.

En relación con los bioindicadores asociados a la alteración de la calidad fisicoquímica del agua, se identificaron los géneros *Synechococcus*, *Cyanobium* y *Chrysochromulina*, cuya proliferación desmedida podría dar lugar a floraciones algales nocivas, así como a la alteración de las propiedades organolépticas del recurso hídrico, con posibles repercusiones a gran escala. Estos eventos representan una amenaza directa a la calidad del agua del embalse, por su potencial de disminución de la vida útil dado por la eutroficación, aumento de los costos de tratamiento y pueden afectar la salud humana; por lo tanto, su monitoreo constante es fundamental para detectar patrones de alteración temprana y mitigar riesgos asociados.

Se observó una correlación positiva y estadísticamente significativa entre la abundancia de ciertos bioindicadores y la calidad fisicoquímica del agua, destacándose los géneros *Terrimonas* y *Anaerolinea* como indicadores microbianos representativos de condiciones ambientales contrastantes, particularmente en relación con las concentraciones de oxígeno disuelto y carbono orgánico total. El género *Terrimonas* mostró asociación con niveles altos de oxígeno disuelto y baja concentración de materia orgánica, posicionándolo como un posible bioindicador de condiciones oligotróficas; por otra parte, el género *Anaerolinea* se asoció a condiciones hipóxicas y alto contenido de materia orgánica, lo que lo convierte en un potencial bioindicador de deterioro ambiental. Esto refleja la influencia que representan las variables fisicoquímicas y la estructura microbiana, siendo este análisis muy útil para el monitoreo ecológico del Embalse y cuerpos de agua similares en el país.

Referencias Bibliográficas

- Aeschlimann, S. H., Jönsson, F., Postberg, J., Stover, N. A., Petera, R. L., Lipps, H., Nowacki, M., & Swart, E. C. (2014). The Draft Assembly of the Radically Organized Stylonychia lemnae Macronuclear Genome. *Genome Biology And Evolution*, 6(7), 1707-1723. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu139>
- Alliance for the Great Lakes. (2019). Five years later: Lessons from the Toledo water crisis. Alliance for the Great Lakes. Recuperado de <https://greatlakes.org/2019/08/five-years-later-lessons-from-the-toledo-water-crisis/>
- Allioux, M., Yvenou, S., Merkel, A. *et al.* Una perspectiva metagenómica de los microbiomas de los manantiales geotermales en las Islas Kerguelén Subantárticas. *Sci Rep* **12** , 22243 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-26299-4>
- Álvarez-Cabria, M., Barquín, J., & Peñas, F. J. (2015). Modelling the spatial and seasonal variability of water quality for entire river networks: Relationships with natural and anthropogenic factors. *The Science Of The Total Environment*, 545-546, 152-162. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.109>
- Alotaibi, M. O., Mohammed, A. E., & Eltom, K. H. (2022). Metagenomic analysis of bacterial communities of Wadi Namar Lake, Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi Journal Of Biological Sciences*, 29(5), 3749-3758. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.001>.
- American Public Health Association, American Water Works Association, & Water Environment Federation. (2023). Standard methods for the examination of water and wastewater (24th ed.). APHA Press.

- Amorim, M. L., Soares, J., Vieira, B. B., Batista-Silva, W., & Martins, M. A. (2020). Extraction of proteins from the microalga *Scenedesmus obliquus* BR003 followed by lipid extraction of the wet deproteinized biomass using hexane and ethyl acetate. *Bioresource Technology*, 307, 123190. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123190>
- Amrane, S., & Lagier, J. (2018). Metagenomic and clinical microbiology. *Human Microbiome Journal*, 9, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.humic.2018.06.001>
- Anderson, D. M., Fensin, E., Gobler, C. J., Hoeglund, A. E., Hubbard, K. A., Kulis, D. M., Landsberg, J. H., Lefebvre, K. A., Provoost, P., Richlen, M. L., Smith, J. L., Solow, A. R., & Trainer, V. L. (2021). Marine harmful algal blooms (HABs) in the United States: History, current status and future trends. *Harmful Algae*, 102, 101975. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2021.101975>
- Araújo, S., Silva, V., De Lurdes Enes Dapkevicius, M., Pereira, J. E., Martins, Â., Igrejas, G., & Poeta, P. (2024). Comprehensive Profiling of *Klebsiella* in Surface Waters from Northern Portugal: Understanding Patterns in Prevalence, Antibiotic Resistance, and Biofilm Formation. *Water*, 16(9), 1297. <https://doi.org/10.3390/w16091297>
- Arcos Pulido, M. D. P., Ávila de Navia MSC, S. L., Estupiñán Torres MSC, S. M., & Gómez Prieto, A. C. (2005). Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova*, 3(4), 69. <https://doi.org/10.22490/24629448.338>.
- Arslan, A. H., Ciloglu, F. U., Yilmaz, U., Simsek, E., & Aydin, O. (2021). Discrimination of waterborne pathogens, *Cryptosporidium parvum* oocysts and bacteria using surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with principal component analysis and hierarchical clustering. *Spectrochimica Acta Part A Molecular And Biomolecular Spectroscopy*, 267, 120475. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120475>

- Ayrapetyan, M., & Oliver, J. D. (2016). The viable but non-culturable state and its relevance in food safety. *Current Opinion In Food Science*, 8, 127-133. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.04.010>.
- Baek, C., Shin, S., & Yi, H. (2019). *Phenylobacterium parvum* sp. nov., isolated from lake water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(4), 1169-1172. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003284>.
- Ballesteros, N., Páez, L., Luna, N., Reina, A., Urrea, V., Sánchez, C., Ramírez, A., Ramirez, J. D., & Muñoz, M. (2023). Characterization of microbial communities in seven wetlands with different anthropogenic burden using Next Generation Sequencing in Bogotá, Colombia. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42970-w>
- Behnam, H., Saeedfar, S., Mojaverlyazdi, F. S. (2013). Biological contamination of the water and its effects. Technology, education, and science international conference.
- Behzadi, P., Baráth, Z., & Gajdács, M. (2021). It's Not Easy Being Green: A Narrative Review on the Microbiology, Virulence and Therapeutic Prospects of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics*, 10(1), 42. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010042>
- Belhaouari, D. B., Hannat, S., Rodrigues, R., Aherfi, S., La Scola, B., & Andreani, J. (2022). Genome Sequences of Two New Pandoravirus Strains Isolated from Brazil and France. *Microbiology Resource Announcements*, 11(7). <https://doi.org/10.1128/mra.00131-22>
- Bellinger, E. G., & Sigeo, D. C. (2015). Freshwater algae: Identification, enumeration and use as bioindicators (E. G. Bellinger & D. C. Sigeo, Eds.). Wiley-Blackwell.
- Betiku, O. C., Sarjeant, K. C., Ngatia, L. W., Aghimien, M. O., Odewumi, C. O., & Latinwo, L. M. (2021). Evaluation of microbial diversity of three recreational water bodies using 16S

- rRNA metagenomic approach. *The Science Of The Total Environment*, 771, 144773.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144773>
- Bivins, A., Lowry, S., Wankhede, S., Hajare, R., Murphy, H. M., Borchardt, M., Labhasetwar, P., & Brown, J. (2021). Microbial water quality improvement associated with transitioning from intermittent to continuous water supply in Nagpur, India. *Water Research*, 201, 117301. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117301>
- Björnerås, C., Persson, P., Weyhenmeyer, G. A., Hammarlund, D., & Kritzberg, E. S. (2021). The lake as an iron sink - new insights on the role of iron speciation. *Chemical Geology*, 584, 120529. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2021.120529>
- Bollmann, A., Sedlacek, C. J., Sayavedra-Soto, L., & Norton, J. M. (2024). Metagenome-assembled genomes of two nitrifying microorganisms from the freshwater archaeal ammonia-oxidizing enrichment culture BO1. *Microbiology Resource Announcements*. <https://doi.org/10.1128/mra.00900-23>
- Borrel, G., Jézéquel, D., Biderre-Petit, C., Morel-Desrosiers, N., Morel, J., Peyret, P., Fonty, G., & Lehours, A. (2011). Production and consumption of methane in freshwater lake ecosystems. *Research In Microbiology*, 162(9), 832-847. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2011.06.004>
- Botero, L., Galeano, L., Montoya, L. J., Machado, A., Byrne, J. A., Fernandez-Ibañez, P., & Hincapié, M. (2023). *Aeromonas hydrophila* in surface water and their removal using a POU technology for drinking in rural communities. *Environmental Advances*, 13, 100425. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2023.100425>
- Bravo, S. G. P., Chávez, M. R. C., Vázquez, L. A., & Rivas, N. V. G. (2024). Biological treatment of eutrophicated lagoon water with *Tetrademus dimorphus* under ambient conditions: a

- sustainable alternative for lipid production. *International Journal Of Environmental Science And Technology*. <https://doi.org/10.1007/s13762-024-06184-5>
- Buchfink, B., Reuter, K., & Drost, H. (2021). Sensitive protein alignments at tree-of-life scale using DIAMOND. *Nature Methods*, *18*(4), 366-368. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01101-x>
- Bukowska, A., Kaliński, T., Koper, M., Kostrzevska-Szlakowska, I., Kwiatowski, J., Mazur-Marzec, H., & Jasser, I. (2017). Predicting blooms of toxic cyanobacteria in eutrophic lakes with diverse cyanobacterial communities. *Scientific Reports*, *7*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08701-8>
- Carusi, J., Kabuki, D. Y., De Seixas Pereira, P. M., & Cabral, L. (2023). *Aeromonas* spp. in drinking water and food: Occurrence, virulence potential and antimicrobial resistance. *Food Research International*, *175*, 113710. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113710>
- Cesário, C. D. C., Soares, J., Cossolin, J. F. S., Almeida, A. V. M., Sierra, J. J. B., De Oliveira Leite, M., Nunes, M. C., Serrão, J. E., Martins, M. A., & Coimbra, J. S. D. R. (2021). Biochemical and morphological characterization of freshwater microalga *Tetrademus obliquus* (Chlorophyta: Chlorophyceae). *PROTOPLASMA*, *259*(4), 937-948. <https://doi.org/10.1007/s00709-021-01712-3>
- Chen, J., Yang, Y., Liu, Y., Tang, M., Wang, R., Zhang, C., Jiang, J., & Jia, C. (2019). Bacterial community shift in response to a deep municipal tail wastewater treatment system. *Bioresource Technology*, *281*, 195-201. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019>
- Clerc, N. A., Koltsidou, I., Picard, C. J., & Druschel, G. K. (2021). Prevalence of Actinobacteria in the production of 2-methylisoborneol and geosmin, over Cyanobacteria in a temperate

- eutrophic reservoir. *Chemical Engineering Journal Advances*, 9, 100226. <https://doi.org/10.1016/j.ceja.2021.100226>
- Cuvelier, M. L., Allen, A. E., Monier, A., McCrow, J. P., Messié, M., Tringe, S. G., Woyke, T., Welsh, R. M., Ishoey, T., Lee, J., Binder, B. J., DuPont, C. L., Latasa, M., Guigand, C., Buck, K. R., Hilton, J., Thiagarajan, M., Caler, E., Read, B., . . . Worden, A. Z. (2010). Targeted metagenomics and ecology of globally important uncultured eukaryotic phytoplankton. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 107(33), 14679-14684. <https://doi.org/10.1073/pnas.1001665107>
- Dai, Y., Yang, Y., Wu, Z., Feng, Q., Xie, S., & Liu, Y. (2015). Spatiotemporal variation of planktonic and sediment bacterial assemblages in two plateau freshwater lakes at different trophic status. *Applied Microbiology And Biotechnology*, 100(9), 4161-4175. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7253-2>
- Dedysh, S. N., Belova, S. E., Bodelier, P. L. E., Smirnova, K. V., Khmelenina, V. N., Chidthaisong, A., Trotsenko, Y. A., Liesack, W., & Dunfield, P. F. (2007). *Methylocystis heyeri* sp. nov., a novel type II methanotrophic bacterium possessing 'signature' fatty acids of type I methanotrophs. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(3), 472-479. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64623-0>
- De Hoyos, E. I. P. V., & Arzate, E. U. (2016). El derecho humano al agua. Una cuestión de interpretación o de reconocimiento. *Cuestiones constitucionales*, (34), 3-25. Recuperado en 20 de mayo de 2025, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-91932016000100003&lng=es&tlng=es.

- DeLong, J. P., Van Etten, J. L., Al-Ameeli, Z., Agarkova, I. V., & Dunigan, D. D. (2022). The consumption of viruses returns energy to food chains. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, *120*(1). <https://doi.org/10.1073/pnas.2215000120>
- Deng, M., Zhao, X., Senbati, Y., Song, K., & He, X. (2020). Nitrogen removal by heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium *Pseudomonas* sp. DM02: Removal performance, mechanism and immobilized application for real aquaculture wastewater treatment. *Bioresource Technology*, *322*, 124555. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124555>
- Denissen, J., Reyneke, B., Barnard, T., Khan, S., & Khan, W. (2023). Risk assessment of *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa* in environmental water sources: Development of surrogate models for antibiotic resistance genes. *The Science Of The Total Environment*, *901*, 166217. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166217>
- Deodato, C. R., Barlow, S. B., Hovde, B. T., & Cattolico, R. A. (2019). Naked Chrysochromulina (Haptophyta) isolates from lake and river ecosystems: An electron microscopic comparison including new observations on the type species of this taxon. *Algal Research*, *40*, 101492. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101492>
- De Oliveira, D. M. P., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N. A., Schembri, M. A., Beatson, S. A., Paterson, D. L., & Walker, M. J. (2020). Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, *33*(3). <https://doi.org/10.1128/cmr.00181-19>

- Di, Y., Li, W., Huo, R., Wu, C., Zhao, Y., Shi, K., Zhou, S., & Liu, C. (2025). Response of aerobic denitrification system to long-term stress of sulfamethoxazole, erythromycin and ofloxacin in oligotrophic water. *Bioresource Technology*, 132458. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2025.132458>
- Dong, M., Yang, S., Yang, X., Xu, M., Hu, W., Wang, B., Huang, Y., Xu, J., Lu, H., Yang, Y., Chen, X., Huang, H., & Sun, G. (2022). Water quality drives the distribution of freshwater cable bacteria. *The Science Of The Total Environment*, 841, 156468. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156468>
- Dowdell, K., Haig, S., Caverly, L. J., Shen, Y., LiPuma, J. J., & Raskin, L. (2019). Nontuberculous mycobacteria in drinking water systems – the challenges of characterization and risk mitigation. *Current Opinion In Biotechnology*, 57, 127-136. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.03.010>
- Dowdell, K. S., Potgieter, S. C., Olsen, K., Lee, S., Vedrin, M., Caverly, L. J., LiPuma, J. J., & Raskin, L. (2024). Source-to-tap investigation of the occurrence of nontuberculous mycobacteria in a full-scale chloraminated drinking water system. *Applied And Environmental Microbiology*, 90(9). <https://doi.org/10.1128/aem.00609-24>
- Dubey, D., Toppo, K., Kumar, S., & Dutta, V. (2024). Intensive aquaculture affects lake's trophic status and aquatic floral diversity. *Environmental Science Advances*. <https://doi.org/10.1039/d4va00038b>
- Environmental Protection Agency (EPA). (2022). *Drinking Water Contaminant Candidate List 5—Final Rule*. *Federal Register*, 87(218), 68060–68073.

<https://www.federalregister.gov/documents/2022/11/14/2022-23963/drinking-water-contaminant-candidate-list-5-final>

- Erdner, D. L., Dyble, J., Parsons, M. L., Stevens, R. C., Hubbard, K. A., Wrabel, M. L., Moore, S. K., Lefebvre, K. A., Anderson, D. M., Bienfang, P., Bidigare, R. R., Parker, M. S., Moeller, P., Brand, L. E., & Trainer, V. L. (2008). Centers for Oceans and Human Health: a unified approach to the challenge of harmful algal blooms. *Environmental Health*, 7(Suppl 2), S2. <https://doi.org/10.1186/1476-069x-7-s2-s2>
- Erratt, K. J., Creed, I. F., Favot, E. J., Smol, J. P., Vinebrooke, R. D., Lobb, D. A., & Trick, C. G. (2023). Reconstructing historical time-series of cyanobacteria in lake sediments: Integrating technological innovation to enhance cyanobacterial management. *Journal Of Environmental Management*, 343, 118162. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118162>
- Figueira, V., Vaz-Moreira, I., Silva, M., & Manaia, C. M. (2011). Diversity and antibiotic resistance of *Aeromonas* spp. in drinking and waste water treatment plants. *Water Research*, 45(17), 5599-5611. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.08.021>
- Fon, M., Chen, A., Ghesquière, R., Uhlig, S., Edvardsen, B., & Solhaug, A. (2025). The cytotoxicity of the haptophyte *Chrysochromulina leadbeateri* towards the Atlantic salmon gill cell line ASG-10. *Harmful Algae*, 142, 102797. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2024.102797>
- Francis, C. A., Roberts, K. J., Beman, J. M., Santoro, A. E., & Oakley, B. B. (2005). Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean.

- Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 102(41), 14683-14688.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0506625102>
- Garner, E., Davis, B. C., Milligan, E., Blair, M. F., Keenum, I., Maile-Moskowitz, A., Pan, J., Gnegy, M., Liguori, K., Gupta, S., Prussin, A. J., Marr, L. C., Heath, L. S., Vikesland, P. J., Zhang, L., & Pruden, A. (2021). Next generation sequencing approaches to evaluate water and wastewater quality. *Water Research*, 194, 116907.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116907>
- Ghai, R., Rodríguez-Valera, F., McMahon, K. D., Toyama, D., Rinke, R., De Oliveira, T. C. S., Garcia, J. W., De Miranda, F. P., & Henrique-Silva, F. (2011). Metagenomics of the Water Column in the Pristine Upper Course of the Amazon River. *PLoS ONE*, 6(8), e23785.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023785>
- Gin, K. Y., Sim, Z. Y., Goh, K. C., Kok, J. W. K., Te, S. H., Tran, N. H., Li, W., & He, Y. (2021). Novel cyanotoxin-producing *Synechococcus* in tropical lakes. *Water Research*, 192, 116828. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116828>
- Grujic, V., Nuy, J. K., Salcher, M. M., Shabarova, T., Kasalicky, V., Boenigk, J., Jensen, M., & Simek, K. (2018). Cryptophyta as major bacterivores in freshwater summer plankton. *The ISME Journal*, 12(7), 1668-1681. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0057-5>
- Gupta, A., Gupta, R., & Singh, R. L. (2016). Microbes and Environment. En *Springer eBooks* (pp. 43-84). https://doi.org/10.1007/978-981-10-1866-4_3

- Haig, S., Kotlarz, N., LiPuma, J. J., & Raskin, L. (2018). A High-Throughput Approach for Identification of Nontuberculous Mycobacteria in Drinking Water Reveals Relationship between Water Age and Mycobacterium avium. *mBio*, 9(1). <https://doi.org/10.1128/mbio.02354-17>
- Hahn, M. W., Koll, U., Karbon, G., Schmidt, J., & Lang, E. (2017). Polynucleobacter aenigmaticus sp. nov. isolated from the permanently anoxic monimolimnion of a temperate meromictic lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(11), 4646-4654. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002347>
- Henson, M. W., Lanclos, V. C., Faircloth, B. C., & Thrash, J. C. (2018). Cultivation and genomics of the first freshwater SAR11 (LD12) isolate. *The ISME Journal*, 12(7), 1846-1860. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0092-2>
- Hong, W., Mei, H., Shi, X., Lin, X., Wang, S., Ni, R., Wang, Y., & Song, L. (2024). Viral community distribution, assembly mechanism, and associated hosts in an industrial park wastewater treatment plant. *Environmental Research*, 247, 118156. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.118156>
- Horikian, A., Jeanvoine, A., Amarache, A., Tourtet, M., Ory, J., Boulestreau, H., Van Der Mee Marquet, N., Lemaitre, N., Eveillard, M., Lepelletier, D., Bertrand, X., Valot, B., & Hocquet, D. (2024). High-risk clones of Pseudomonas aeruginosa contaminate the drinking water networks of French cities. *Npj Clean Water*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41545-024-00323-8>

- Hosen, J. D., Febria, C. M., Crump, B. C., & Palmer, M. A. (2017). Watershed Urbanization Linked to Differences in Stream Bacterial Community Composition. *Frontiers In Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01452>
- Huson, D. H., Beier, S., Flade, I., Górska, A., El-Hadidi, M., Mitra, S., Ruscheweyh, H., & Tappu, R. (2016). MEGAN Community Edition - Interactive Exploration and Analysis of Large-Scale Microbiome Sequencing Data. *PLoS Computational Biology*, 12(6), e1004957. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004957>
- Hu, Y., Zhou, Z., & Shen, C. (2024). Microbial community acclimation during anaerobic digestion of high-oil food waste. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-77136-9>
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (Ideam). (2023). Estudio Nacional del Agua 2022. <https://www.ideam.gov.co/web/agua/estudio-nacional-del-agua>
- Imhoff J. F. (2016). New Dimensions in Microbial Ecology-Functional Genes in Studies to Unravel the Biodiversity and Role of Functional Microbial Groups in the Environment. *Microorganisms*, 4(2), 19. <https://doi.org/10.3390/microorganisms4020019>
- Jain, V., Arya, P., Yagnik, S. M., Raval, V. H., & Singh, N. A. (2023). Microbial Diversity of Cold-Water Reservoirs and Their Prospective Applications. En *Current Status of Fresh Water Microbiology* (pp. 49-75). https://doi.org/10.1007/978-981-99-5018-8_3
- Jakubowska, N., & Szeląg-Wasielewska, E. (2015). Toxic Picoplanktonic Cyanobacteria—Review. *Marine Drugs*, 13(3), 1497-1518. <https://doi.org/10.3390/md13031497>
- Jiang, T., Guo, C., Wang, M., Wang, M., Zhang, X., Liu, Y., Liang, Y., Jiang, Y., He, H., Shao, H., & McMinn, A. (2020). Genome Analysis of Two Novel Synechococcus Phages That

- Lack Common Auxiliary Metabolic Genes: Possible Reasons and Ecological Insights by Comparative Analysis of Cyanomyoviruses. *Viruses*, 12(8), 800. <https://doi.org/10.3390/v12080800>
- Jin, D., Kong, X., Cui, B., Jin, S., Xie, Y., Wang, X., & Deng, Y. (2018). Bacterial communities and potential waterborne pathogens within the typical urban surface waters. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31706-w>
- Jung, M., Islam, M. A., Gwak, J., Kim, J., & Rhee, S. (2018). Nitrosarchaeum koreense gen. nov., sp. nov., an aerobic and mesophilic, ammonia-oxidizing archaeon member of the phylum Thaumarchaeota isolated from agricultural soil. *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY*, 68(10), 3084-3095. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002926>
- Juottonen, H., Fontaine, L., Wurzbacher, C., Drakare, S., Peura, S., & Eiler, A. (2020). Archaea in boreal Swedish lakes are diverse, dominated by Woearchaeota and follow deterministic community assembly. *Environmental Microbiology*, 22(8), 3158-3171. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15058>
- Kao, S., Kao, C., Chang, W., & Ku, C. (2023). Widespread Distribution and Evolution of Poxviral Entry-Fusion Complex Proteins in Giant Viruses. *Microbiology Spectrum*, 11(2). <https://doi.org/10.1128/spectrum.04944-22>
- Keck, F., Millet, L., Debroas, D. *et al.* Evaluación de la respuesta de la diversidad microeucariota a la Gran Aceleración utilizando ADN sedimentario lacustre. *Nat Commun* 11, 3831 (2020). <https://doi-org.bibliotecavirtual.uis.edu.co/10.1038/s41467-020-17682-8>

- Kellogg, C. A. (2010). Enumeration of viruses and prokaryotes in deep-sea sediments and cold seeps of the Gulf of Mexico. *Deep Sea Research Part II Topical Studies In Oceanography*, 57(21-23), 2002-2007. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2010.05.006>
- Klotz, F., Kitzinger, K., Ngugi, D.K. et al. Quantification of archaea-driven freshwater nitrification from single cell to ecosystem levels. *ISME J* 16, 1647–1656 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41396-022-01216-9>
- Kotlarz, N., Raskin, L., Zimbric, M., Errickson, J., LiPuma, J. J., & Caverly, L. J. (2019). Retrospective Analysis of Nontuberculous Mycobacterial Infection and Monochloramine Disinfection of Municipal Drinking Water in Michigan. *mSphere*, 4(4). <https://doi.org/10.1128/msphere.00160-19>
- Kou, L., Huang, T., Zhang, H., Wen, G., & Li, K. (2024). Aerobic denitrifying bacterial community with low C/N ratio remove nitrate from micro-polluted water: Metagenomics unravels denitrification pathways. *The Science Of The Total Environment*, 951, 175457. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175457>
- Krausfeldt, L. E., Shmakova, E., Lee, H. W., Mazzei, V., Loftin, K. A., Smith, R. P., Karwacki, E., Fortman, P. E., Rosen, B. H., Urakawa, H., Dadlani, M., Colwell, R. R., & Lopez, J. V. (2024). Microbial diversity, genomics, and phage–host interactions of cyanobacterial harmful algal blooms. *mSystems*, 9(7). <https://doi.org/10.1128/msystems.00709-23>
- Kuroda, K., Yamamoto, K., Isshiki, R., Tokizawa, R., Shiiba, C., Hino, S., Yamano, N., Usui, E., Miyakawa, T., Miura, T., Kamino, K., Tamaki, H., Nakayama, A., & Narihiro, T. (2025). Metagenomic and metatranscriptomic analyses reveal uncharted microbial constituents responsible for polyhydroxybutyrate biodegradation in coastal waters. *Journal Of Hazardous Materials*, 487, 137202. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.137202>

- Larrea J.; Rojas M.; Romeu B.; Rojas N; Heydrich M. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura Revista CENIC. Ciencias Biológicas, vol. 44, núm. 3, 2013, pp. 24-34 Centro Nacional de Investigaciones Científicas Ciudad de La Habana, Cuba.
- Lavrinovičs, A., Mežule, L., Cacivkins, P., & Juhna, T. (2022). Optimizing phosphorus removal for municipal wastewater post-treatment with *Chlorella vulgaris*. *Journal Of Environmental Management*, 324, 116313. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116313>
- Lefler, F. W., Berthold, D. E., Barbosa, M., Hu, J., Taylor, A., Moretto, J., Chaffin, J. D., Raymond, H., & Laughinghouse, H. D. (2025). Metagenomes from cyanobacterial harmful algal blooms from lakes in Ohio (USA). *Microbiology Resource Announcements*. <https://doi.org/10.1128/mra.00400-25>
- Li, Q., Liu, L., Guo, A., Zhang, X., Liu, W., & Ruan, Y. (2021). Formation of Multispecies Biofilms and Their Resistance to Disinfectants in Food Processing Environments: A Review. *Journal Of Food Protection*, 84(12), 2071-2083. <https://doi.org/10.4315/jfp-21-071>
- Liu, Q., Feng, C., Li, R., Zhou, Y., Meng, X., & Liu, H. (2025). Study on methane flux variation characteristics and regulation mechanisms in urban wetlands under different restoration years and moisture gradients. *Environmental Research*, 121043. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2025.121043>
- Lovin, L. M., Langan, L. M., Scarlett, K. R., Taylor, R. B., Kim, S., Chambliss, C. K., Chatterjee, S., Scott, J. T., & Brooks, B. W. (2024). (+) anatoxin-a elicits differential survival,

- photolocomotor behavior, and gene expression in two alternative vertebrate models. *Environment International*, 193, 109045. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.109045>
- Lu, Y., Zhou, G., Ewald, J., Pang, Z., Shiri, T., & Xia, J. (2023). MicrobiomeAnalyst 2.0: comprehensive statistical, functional and integrative analysis of microbiome data. *Nucleic Acids Research*, 51(W1), W310-W318. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad407>
- Lyautey, E., Billard, E., Tissot, N., Jacquet, S., & Domaizon, I. (2021). Seasonal Dynamics of Abundance, Structure, and Diversity of Methanogens and Methanotrophs in Lake Sediments. *Microbial Ecology*, 82(3), 559-571. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01689-9>
- Maghini, D. G., Moss, E. L., Vance, S. E., & Bhatt, A. S. (2020). Improved high-molecular-weight DNA extraction, nanopore sequencing and metagenomic assembly from the human gut microbiome. *Nature Protocols*, 16(1), 458-471. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-00424-x>
- Malham, S. K., Rajko-Nenow, P., Howlett, E., Tuson, K. E., Perkins, T. L., Pallett, D. W., Wang, H., Jago, C. F., Jones, D. L., & McDonald, J. E. (2014). The interaction of human microbial pathogens, particulate material and nutrients in estuarine environments and their impacts on recreational and shellfish waters. *Environmental Science Processes & Impacts*, 16(9), 2145-2155. <https://doi.org/10.1039/c4em00031e>
- Mao, F., Li, W., Sim, Z. Y., He, Y., Chen, Q., & Gin, K. Y. (2022). Phycocyanin-rich *Synechococcus* dominates the blooms in a tropical estuary lake. *Journal Of Environmental Management*, 311, 114889. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114889>
- Martínez Ríos, A. (2021). Nefrotoxicidad de la cilindrospermopsina. (Trabajo Fin de Grado Inédito). Universidad de Sevilla, Sevilla.

- McIlroy, S. J., Kirkegaard, R. H., Dueholm, M. S., Fernando, E., Karst, S. M., Albertsen, M., & Nielsen, P. H. (2017). Culture-Independent Analyses Reveal Novel Anaerolineaceae as Abundant Primary Fermenters in Anaerobic Digesters Treating Waste Activated Sludge. *Frontiers In Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01134>
- Mendonça, R., Müller, R. A., Clow, D., Verpoorter, C., Raymond, P., Tranvik, L. J., & Sobek, S. (2017). Organic carbon burial in global lakes and reservoirs. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01789-6>
- Mendoza-Espinosa, L. G., & Mojiri, A. (2024). Editorial: Wastewater and microbial contamination of water courses. *Frontiers In Water*, 6. <https://doi.org/10.3389/frwa.2024.1428714>
- Ministerio de Ambiente, Vivienda Y Desarrollo Territorial. Política Nacional para la Gestión Integral del Recurso Hídrico. Bogotá, D.C.: Colombia, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 2010. 124 p. <https://www.minambiente.gov.co>
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la República de Colombia (2015). Decreto 1076 de 2015 “Por medio del cual se expide el Decreto Único Reglamentario del Sector Ambiente y Desarrollo Sostenible”. ÚLTIMA FECHA DE ACTUALIZACIÓN: 24 DE ABRIL DE 2024. <https://www.minambiente.gov.co>
- Mirza, S., Staniewski, M., Short, C., Long, A., Chaban, Y., & Short, S. (2015). Isolation and characterization of a virus infecting the freshwater algae *Chrysochromulina parva*. *Virology*, 486, 105-115. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.09.005>
- Mogessie, H., Legesse, M., Hailu, A. F., Teklehaymanot, T., Alemayehu, H., Abubeker, R., & Ashenafi, M. (2024). *Vibrio cholerae* O1 and *Escherichia coli* O157:H7 from drinking

- water and wastewater in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Microbiology*, 24(1).
<https://doi.org/10.1186/s12866-024-03302-8>
- Moschos, S., Kormas, K. A., & Karayanni, H. (2024). Ciliate diversity and growth rates in experimental recirculating aquaculture and aquaponics systems using microscopy. *European Journal Of Protistology*, 95, 126113.
<https://doi.org/10.1016/j.ejop.2024.126113>
- Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Hamadani, B. H. K., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., . . . Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629-655. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)02724-0)
- Mostajir, B., Amblard, C., Buffan-Dubau, E., De Wit, R., Lensi, R., & Sime-Ngando, T. (2014). Microbial Food Webs in Aquatic and Terrestrial Ecosystems. En *Springer eBooks* (pp. 485-509). https://doi.org/10.1007/978-94-017-9118-2_13
- Mutoti, M. I., Edokpayi, J. N., Mutileni, N., Durowoju, O. S., & Munyai, F. L. (2023). Cyanotoxins in groundwater; occurrence, potential sources, health impacts and knowledge gap for public health. *Toxicon*, 226, 107077. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107077>
- Narayanan, M., Prabhakaran, M., Natarajan, D., Kandasamy, S., Raja, R., Carvalho, I. S., Ashokkumar, V., Chinnathambi, A., Alharbi, S. A., Devarayan, K., & Pugazhendhi, A. (2021). Phycoremediation potential of *Chlorella* sp. on the polluted Thirumanimutharu river water. *Chemosphere*, 277, 130246.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130246>

- Newton R.J., Jones S.E., A. Eiler, K.D. McMahon, S. Bertilsson A guide to the natural history of freshwater lake bacteria *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 75 (2011), pp. 14-49.
- Obieze, C. C., Wani, G. A., Shah, M. A., Reshi, Z. A., Comeau, A. M., & Khasa, D. P. (2022). Anthropogenic activities and geographic locations regulate microbial diversity, community assembly and species sorting in Canadian and Indian freshwater lakes. *The Science Of The Total Environment*, 826, 154292. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154292>
- OECD/The World Bank (2020), *Panorama de la Salud: Latinoamérica y el Caribe 2020*, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/740f9640-es>.
- ONU-Agua. Resumen actualizado de 2021 sobre los progresos en el ODS 6: agua y saneamiento para todos. https://www.unwater.org/sites/default/files/app/uploads/2021/12/SDG-6-Summary-Progress-Update-2021_Version-July-2021_SP.pdf
- Pagels, F., Guedes, A. C., Vicente, A. A., & Vasconcelos, V. (2023). Cyanobacteria-Based Bioprocess for Cosmetic Products—Cyanobium sp. as a Novel Source of Bioactive Pigments. *Phycology*, 3(1), 47-64. <https://doi.org/10.3390/phycology3010004>
- Parks, D. H., Tyson, G. W., Hugenholtz, P., & Beiko, R. G. (2014). STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. *Bioinformatics*, 30(21), 3123-3124. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu494>
- Parli, B. V., Bhaskar, J. T., Jawak, S., Jyothibabu, R., & Mishra, N. (2021). Mixotrophic plankton and Synechococcus distribution in waters around Svalbard, Norway during June 2019. *Polar Science*, 30, 100697. <https://doi.org/10.1016/j.polar.2021.100697>
- Parra, Y. J. R.-., Gómez, J. D.-., Escobar, A. F. S.-., Quitian, Z. A. S. —., Carrero, S. H. S.-., Casas, N. y. Z.-., & Alfonso, M. M.-. (2025). Risk assessment of the drinking water supply and distribution system in rural areas in Boyacá - Colombia using water safety plans. *Case*

- Studies In Chemical And Environmental Engineering*, 101169.
<https://doi.org/10.1016/j.cscee.2025.101169>
- Pérez, C. S. (2017). Calidad del agua y salud pública en Colombia: un diagnóstico de las atenciones médicas atribuibles a la mala calidad del agua. Uniandes. Disponible en: <http://hdl.handle.net/1992/34228>
- Pérez, G. R., & Restrepo, J. J. R. (2008). Fundamentos de limnología neotropical. En Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (2.a ed.). Editorial Universidad de Antioquia.
- Pérez-Barradas, F. V., Ortega-Clemente, L. A., Pérez-Legaspi, I. A., Jiménez-García, M. I., Huerta-Heredia, A. A., & Quintana-Castro, R. (2023). Variation in the fatty acid composition of microalgal lipids due to the effect of the extraction method. *Journal Of Applied Phycology*, 35(6), 2851-2863. <https://doi.org/10.1007/s10811-023-03092-y>
- Pérez-Portilla, P., Araya, J., Gallardo, K., & Aránguiz-Acuña, A. (2021). Potential of arsenic bioremediation by a cyanobacterium isolated from the Salado River in the Atacama Desert. *Journal Of Plankton Research*, 43(2), 156-160. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbab016>
- Perneel, M., Lagaisse, R., Mortelmans, J., Maere, S., & Hablützel, P. I. (2024). Seasonal metabolic dynamics of microeukaryotic plankton: a year-long metatranscriptomic study in a temperate sea. *mBio*, 15(8). <https://doi.org/10.1128/mbio.00383-24>
- Philippe, N., Legendre, M., Doutre, G., Couté, Y., Poirot, O., Lescot, M., Arslan, D., Seltzer, V., Bertaux, L., Bruley, C., Garin, J., Claverie, J., & Abergel, C. (2013). Pandoraviruses: Amoeba Viruses with Genomes Up to 2.5 Mb Reaching That of Parasitic Eukaryotes. *Science*, 341(6143), 281-286. <https://doi.org/10.1126/science.1239181>

- Piegdoń, I., & Tchórzewska-Cieślak, B. (2025). Risk of water quality changes in domestic water supply systems. *Desalination And Water Treatment*, 101105. <https://doi.org/10.1016/j.dwt.2025.101105>
- Pinto, I., Azevedo, L., & Antunes, S. C. (2025). The role of crustacean zooplankton in water quality monitoring: Findings from two Portuguese reservoirs. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 100646. <https://doi.org/10.1016/j.ecohyd.2025.100646>
- Plata-Calzado, C., Diez-Quijada, L., Medrano-Padial, C., Prieto, A. I., Cameán, A. M., & Jos, A. (2023). In Vitro Mutagenic and Genotoxic Assessment of Anatoxin-a Alone and in Combination with Cylindrospermopsin. *Toxins*, 15(7), 458. <https://doi.org/10.3390/toxins15070458>
- Podosokorskaya, O. A., Elcheninov, A. G., Klyukina, A. A., & Merkel, A. Y. (2024). *Ignisphaera cupida* sp. nov., a hyperthermophilic hydrolytic archaeon from a hot spring of Uzon (Kamchatka), and emended description of the genus *Ignisphaera*. *Systematic And Applied Microbiology*, 47(5), 126541. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2024.126541>
- Presidencia de la República de Colombia (1984) Decreto 1594 de 1984 “*Por el cual se reglamenta parcialmente el Título I de la Ley 09 de 1979, así como el Capítulo II del Título VI - Parte III - Libro II y el Título III de la Parte III Libro I del Decreto 2811 de 1974 en cuanto a usos del agua y residuos líquidos.*”
- Pu, Q., Zhang, K., Liu, J., Zhang, Q., Abdelhafiz, M. A., Meng, B., & Feng, X. (2024). Key active mercury methylating microorganisms and their synergistic effects on methylmercury production in paddy soils. *Journal Of Hazardous Materials*, 480, 136481. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.136481>

- Qin, W., Heal, K. R., Ramdasi, R., Kobelt, J. N., Martens-Habbena, W., Bertagnolli, A. D., Amin, S. A., Walker, C. B., Urakawa, H., Könneke, M., Devol, A. H., Moffett, J. W., Armbrust, E. V., Jensen, G. J., Ingalls, A. E., & Stahl, D. A. (2017a). *Nitrosopumilus maritimus* gen. nov., sp. nov., *Nitrosopumilus cobalaminigenes* sp. nov., *Nitrosopumilus oxyclinae* sp. nov., and *Nitrosopumilus ureiphilus* sp. nov., four marine ammonia-oxidizing archaea of the phylum Thaumarchaeota. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(12), 5067-5079. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002416>
- Qin, W., Meinhardt, K. A., Moffett, J. W., Devol, A. H., Armbrust, E. V., Ingalls, A. E., & Stahl, D. A. (2017b). Influence of oxygen availability on the activities of ammonia-oxidizing archaea. *Environmental Microbiology Reports*, 9(3), 250-256. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12525>
- Quince, C., Walker, A. W., Simpson, J. T., Loman, N. J., & Segata, N. (2017). Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nature Biotechnology*, 35(9), 833-844. <https://doi.org/10.1038/nbt.3935>
- Rajeev, A. C., Sahu, N., Arvind, K., Deori, M., Grace, T., Dev, S. A., Yadav, V. P., & Ghosh, I. (2021). Exploring prevalence of potential pathogens and fecal indicators in geographically distinct river systems through comparative metagenomics. *Environmental Pollution*, 282, 117003. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117003>.
- Rajput, S., Jain, S., Dash, D., Gupta, N., Rajpoot, R., Upadhyaya, C. P., Khan, M. L., & Koiri, R. K. (2024). Role of cyanotoxins in the development and promotion of cancer. *Toxicology Reports*, 13, 101798. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2024.101798>
- Ramette, A. (2007). Multivariate analyses in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, 62(2), 142-160. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00375.x>

- Ramos-Tapia, I., Salinas, P., Núñez, R., Cortez, D., Soto, J., & Paneque, M. (2023). Compositional Changes in Sediment Microbiota Are Associated with Seasonal Variation of the Water Column in High-Altitude Hyperarid Andean Lake Systems. *Microbiology Spectrum*, *11*(3). <https://doi.org/10.1128/spectrum.05200-22>
- Rani, D., Rana, V., Rani, A., Malyan, S. K., Kumar, A., Dhaka, R. K., & Rana, A. (2024). Microbial contamination in municipal water: Potential sources, analytical methods and remediation strategies. En *Elsevier eBooks* (pp. 125-141). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91023-1.00009-0>
- Reddington, K., Eccles, D., O'Grady, J., Drown, D. M., Hansen, L. H., Nielsen, T. K., Ducluzeau, A., Leggett, R. M., Heavens, D., Peel, N., Snutch, T. P., Bayega, A., Oikonomopoulos, S., Ragoussis, J., Barry, T., Van Der Helm, E., Jolic, D., Richardson, H., Jansen, H., . . . Brown, B. L. (2020). Corrigendum to: Metagenomic analysis of planktonic riverine microbial consortia using nanopore sequencing reveals insight into river microbe taxonomy and function. *GigaScience*, *9*(6). <https://doi.org/10.1093/gigascience/giaa074>
- Regar, R. K., Kamthan, M., Gaur, V. K., Singh, S. P., Mishra, S., Dwivedi, S., Mishra, A., Manickam, N., & Nautiyal, C. S. (2024). Microbiome divergence across four major Indian riverine water ecosystems impacted by anthropogenic contamination: A comparative metagenomic analysis. *Chemosphere*, *368*, 143672. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143672>
- Reis, P. C. J., Tsuji, J. M., Weiblen, C., Schiff, S. L., Scott, M., Stein, L. Y., & Neufeld, J. D. (2024). Enigmatic persistence of aerobic methanotrophs in oxygen-limiting freshwater habitats. *The ISME Journal*, *18*(1). <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrae041>

- Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R. M., & Gutiérrez-Builes, L. A. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista de la Escuela Nacional de Salud Pública*, 35(2), 236-247. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>.
- Rivera-Urbalejo, A. P., Vázquez, D., Vázquez, J. L. F., Enríquez, M. R., Cesa-Luna, C., Morales-García, Y. E., Rojas, J. M., & Hernández, V. Q. (2021). APORTES y DIFICULTADES DE LA METAGENÓMICA DE SUELOS y SU IMPACTO EN LA AGRICULTURA. *Acta Biológica Colombiana*, 26(3), 449-461. <https://doi.org/10.15446/abc.v26n3.85760>
- Rocha, R. P., Machado, M., Vaz, M. G. M. V., Vinson, C. C., Leite, M., Richard, R., Mendes, L. B. B., Araujo, W. L., Caldana, C., Martins, M. A., Williams, T. C., & Nunes-Nesi, A. (2017). Exploring the metabolic and physiological diversity of native microalgal strains (Chlorophyta) isolated from tropical freshwater reservoirs. *Algal Research*, 28, 139-150. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.10.021>
- Rolbiecki, D., Kiedrzyńska, E., Czatkowska, M., Kiedrzyński, M., Korzeniewska, E., & Harnisz, M. (2025). Global dissemination of *Klebsiella pneumoniae* in surface waters: genomic insights into drug resistance, virulence, and clinical relevance. *Drug Resistance Updates*, 79, 101204. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2025.101204>
- Roldán Pérez, G. (2016). Los macroinvertebrados como bioindicadores de la calidad del agua: cuatro décadas de desarrollo en Colombia y Latinoamérica. *Revista académica colombiana de ciencias exactas físicas naturales*, 254-274.
- Röske, K., Röske, I., & Uhlmann, D. (2008). Characterization of the bacterial population and chemistry in the bottom sediment of a laterally subdivided drinking water reservoir system. *Limnologia*, 38(3-4), 367-377. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2008.06.005>.

- Roy, M. A., Arnaud, J. M., Jasmin, P. M., Hamner, S., Hasan, N. A., Colwell, R. R., & Ford, T. E. (2018). A Metagenomic Approach to Evaluating Surface Water Quality in Haiti. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 15(10), 2211. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102211>
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P., & Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable And Sustainable Energy Reviews*, 35, 265-278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>
- Salcher, M. M., Pernthaler, J., & Posch, T. (2011). Seasonal bloom dynamics and ecophysiology of the freshwater sister clade of SAR11 bacteria ‘that rule the waves’ (LD12). *The ISME Journal*, 5(8), 1242-1252. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.8>
- Salcher, M. M., Neuenschwander, S. M., Posch, T., & Pernthaler, J. (2015). The ecology of pelagic freshwater methylotrophs assessed by a high-resolution monitoring and isolation campaign. *The ISME Journal*, 9(11), 2442-2453. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.55>
- Saleem, F., Azim, M. K., Mustafa, A., Kori, J. A., & Hussain, M. S. (2019). Metagenomic profiling of fresh water lakes at different altitudes in Pakistan. *Ecological Informatics*, 51, 73-81. <https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2019.02.013>
- Salo, T., & Salovius-Laurén, S. (2022). Green algae as bioindicators for long-term nutrient pollution along a coastal eutrophication gradient. *Ecological Indicators*, 140, 109034. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109034>
- Sambrook J, and Russell DW, (2001) *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. 3 rd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Sang, Y., Hao, Q., Zhang, Y., Wang, O., Zheng, S., & Liu, F. (2024). Simultaneous removal of methane and high nitrite from the wastewater by *Methylomonas* sp. with soluble methane

- monooxygenase. *Bioresource Technology*, 418, 131972.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131972>
- Shahab, S. N., Van Veen, A., Kemper, M. A., Rijfkogel, A., Vos, M. C., Karuniawati, A., Severin, J. A., & Schmitt, H. (2025). Detection methods for carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in surface water and wastewater. *The Science Of The Total Environment*, 961, 178086. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.178086>
- Sheu, S., Cho, N., Arun, A. B., & Chen, W. (2010). *Terrimonas aquatica* sp. nov., isolated from a freshwater spring. *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY*, 60(12), 2705-2709.
<https://doi.org/10.1099/ijs.0.020164-0>
- Shi, J., Ni, L., Liu, J., Xu, C., Zhang, J., & Chen, X. (2023). Spatiotemporal distribution of phytoplankton community structure and its relationship with environmental factors in Hongze Lake, China. *Urban Climate*, 52, 101746.
<https://doi.org/10.1016/j.uclim.2023.101746>
- Scholz, M., Tett, A., & Segata, N. (2014). Computational Tools for Taxonomic Microbiome Profiling of Shotgun Metagenomes. En *Elsevier eBooks* (pp. 67-80). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-410472-3.00005-1>
- Siallagan, Z.L., Fadli, M., de Fretes, C.E. et al. Metagenomic analysis of deep-sea bacterial communities in the Makassar and Lombok Straits. *Sci Rep* 14, 25472 (2024).
<https://doi.org/10.1038/s41598-024-74118-9>
- Sim, Z. Y., Goh, K. C., He, Y., & Gin, K. (2023). Present and future potential role of toxin-producing *Synechococcus* in the tropical region. *The Science Of The Total Environment*, 896, 165230. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165230>

- Silambarasan, S., Logeswari, P., Sivaramakrishnan, R., Incharoensakdi, A., Kamaraj, B., & Cornejo, P. (2022). *Scenedesmus* sp. strain SD07 cultivation in municipal wastewater for pollutant removal and production of lipid and exopolysaccharides. *Environmental Research*, 218, 115051. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.115051>
- Simek, K., Jürgens, K., Nedoma, J., Comerma, M., & Armengol, J. (2000). Ecological role and bacterial grazing of *Halteria* spp.: small freshwater oligotrichs as dominant pelagic ciliate bacterivores. *Aquatic Microbial Ecology*, 22, 43-56. <https://doi.org/10.3354/ame022043>
- SqueezeMeta. (s.f.). *Limitations of taxonomic assignments from shotgun metagenomics data*. https://squeezemeta.readthedocs.io/en/stable/alg_details.html#limitations-of-taxonomic-assignments-from-shotgun-metagenomics-data
- Staley, C., Gould, T. J., Wang, P., Phillips, J., Cotner, J. B., & Sadowsky, M. J. (2014). Core functional traits of bacterial communities in the Upper Mississippi River show limited variation in response to land cover. *Frontiers In Microbiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00414>
- Su, M., Yu, J., Zhang, J., Chen, H., An, W., Vogt, R. D., Andersen, T., Jia, D., Wang, J., & Yang, M. (2014). MIB-producing cyanobacteria (*Planktothrix* sp.) in a drinking water reservoir: Distribution and odor producing potential. *Water Research*, 68, 444-453. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.09.038>
- Su, X., Jia, Y., Chen, P., Peng, G., Peng, S., Jiang, Y., Kang, X., Feng, W., Zhang, T., Li, J., & Pu, J. (2025). Variations of dissolved organic matter (DOM) and its influencing factors driven by thermal structure turn in a subtropical karst reservoir, south China. *Journal of Hydrology*, 657, 133051. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2025.133051>

- Sweetlove, M., Tytgat, B., Van de Vyver, E., Verleyen, E., D'Hondt, S., Obbels, D., Buck, M., Urrutia, R., Bertilsson, S., & Vyverman, W. (2025). Differences in community structuring among planktonic bacterial and micro-eukaryotic phyla in Chilean freshwater lakes. *Limnologica*, 126233. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2025.126233>
- Tamames, J., & Puente-Sánchez, F. (2019). SqueezeMeta, a highly portable, fully automatic metagenomic analysis pipeline. *Frontiers In Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03349>
- Taylor, R. H., Falkinham, J. O., Norton, C. D., & LeChevallier, M. W. (2000). Chlorine, Chloramine, Chlorine Dioxide, and Ozone Susceptibility of *Mycobacterium avium*. *Applied And Environmental Microbiology*, 66(4), 1702-1705. <https://doi.org/10.1128/aem.66.4.1702-1705.2000>
- Thangam, K. R., Santhiya, A., Sri, S. A., MubarakAli, D., Karthikumar, S., Kumar, R. S., Thajuddin, N., Soosai, M. R., Varalakshmi, P., Moorthy, I. G., & Pugazhendhi, A. (2021). Bio-refinery approaches based concomitant microalgal biofuel production and wastewater treatment. *The Science Of The Total Environment*, 785, 147267. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147267>
- Tilman, D (2001). Functional diversity. In *Enciclopedia of Biodiversity* (Vol.3 Issue 3, pp. 109-120). <https://doi.org/10.1016/Bo-12-226865-2/00132-2>
- Toole, D. R., Zhao, J., Martens-Habbena, W., & Strauss, S. L. (2021). Bacterial functional prediction tools detect but underestimate metabolic diversity compared to shotgun metagenomics in southwest Florida soils. *Applied Soil Ecology*, 168, 104129. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104129>

- Tsementzi, D., Rodriguez-R, L. M., Ruiz-Perez, C. A., Meziti, A., Hatt, J. K., & Konstantinidis, K. T. (2019). Ecogenomic characterization of widespread, closely-related SAR11 clades of the freshwater genus “Candidatus Fonsibacter” and proposal of *Ca. Fonsibacter lacus* sp. nov. *Systematic And Applied Microbiology*, 42(4), 495-505. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2019.03.007>
- Turban, A., Bihan, A. M., Derbier, L., Piau-Couapel, C., Nessler, N., Cattoir, V., Donnio, P. Y., & Ménard, G. (2024). Effectiveness of water system chemical disinfection against *Pseudomonas aeruginosa* infections, despite a not-so obvious connection. *American Journal Of Infection Control*, 52(12), 1432-1437. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2024.08.028>
- United Nations Economic and Social Council. (2003). General comment No. 15: The right to water (arts. 11 and 12 of the International Covenant on Economic, Social and Cultural Rights). E/C.12/2002/11. <https://www.refworld.org/es/leg/coment/cescr/2003/es/39347>
- United Nations. (2020). The sustainable development goal report. <https://doi.org/10.18356/214e6642-en>
- Urrea V., Castañeda S., Herrera G., Vega L., Ramírez J.D, Muñoz M. (2022). Descripción de comunidades bacterianas en afluentes del río Bogotá usando un enfoque metagenómico.
- Urrea V., Páez-Triana L, Velásquez-Ortiz N, Camargo M, Patiño L.H, Vega L., Ballesteros N., Hidalgo-Troya A., Galeano L.A., Ramírez J.D., Muñoz M. (2024). *Metagenomic Analyses of Surface Waters and Wastewater in the Colombian Andean Highlands: Implications in health and disease.*
- Wang, F., Dong, W., Zhao, Z., Wang, H., Li, W., Chen, G., Wang, F., Zhao, Y., Huang, J., & Zhou, T. (2021). Heavy metal pollution in urban river sediment of different urban

- functional areas and its influence on microbial community structure. *The Science Of The Total Environment*, 778, 146383. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146383>
- Wang, H., Sun, Y., Zhang, L., Wang, W., & Guan, Y. (2021). Enhanced nitrogen removal and mitigation of nitrous oxide emission potential in a lab-scale rain garden with internal water storage. *Journal Of Water Process Engineering*, 42, 102147. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102147>
- Wang, J., Wu, D., Wu, Q., Chen, J., Zhao, Y., Wang, H., Liu, F., & Yuan, Q. (2024). Vertical profiles of community and activity of methanotrophs in large lake and reservoir of Southwest China. *The Science Of The Total Environment*, 957, 177782. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.177782>
- Wang, L., Chen, Y., Zhao, Y., Du, M., Wang, Y., Fan, J., Ren, N., & Lee, D. (2020). Toxicity of two tetracycline antibiotics on *Stentor coeruleus* and *Stylonychia lemnae*: Potential use as toxicity indicator. *Chemosphere*, 255, 127011. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127011>
- Wang, N., Mark, N., Launer, N., Hirtler, A., Weston, C., Cleckner, L., Faehndrich, C., LaGorga, L., Xia, L., Pyrek, D., Penningroth, S. M., & Richardson, R. E. (2024). Harmful algal blooms in Cayuga lake, NY: From microbiome analysis to eDNA monitoring. *Journal Of Environmental Management*, 354, 120128. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120128>
- Wang, X., Fon, M., Andersen, A. J., Solhaug, A., Ingebrigtsen, R. A., Samdal, I. A., Uhlig, S., Miles, C. O., Edvardsen, B., & Larsen, T. O. (2024). Insights into the nature of ichthyotoxins from the *Chrysochromulina leadbeateri* blooms in Northern Norwegian fjords. *Harmful Algae*, 137, 102681. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2024.102681>

- Wang, X., Lin, Y., Li, S., Wang, J., Li, X., Zhang, D., Duan, D., & Shao, Z. (2025). Metagenomic analysis reveals the composition and sources of antibiotic resistance genes in coastal water ecosystems of the Yellow Sea and Yangtze River Delta. *Environmental Pollution*, 125923. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2025.125923>
- Wang, Y., Guo, M., Li, X., Liu, G., Hua, Y., Zhao, J., Huguet, A., & Li, S. (2022). Shifts in microbial communities in shallow lakes depending on trophic states: Feasibility as an evaluation index for eutrophication. *Ecological Indicators*, 136, 108691. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.108691>
- Wei, C., Sun, D., Yuan, W., Li, L., Dai, C., Chen, Z., Zeng, X., Wang, S., Zhang, Y., Jiang, S., Wu, Z., Liu, D., Jiang, L., & Peng, S. (2022). Metagenomics revealing molecular profiles of microbial community structure and metabolic capacity in Bamucuo lake, Tibet. *Environmental Research*, 217, 114847. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114847>
- Wilkes, G., Edge, T., Gannon, V., Jokinen, C., Lyautey, E., Medeiros, D., Neumann, N., Ruecker, N., Topp, E., & Lapen, D. R. (2009). Seasonal relationships among indicator bacteria, pathogenic bacteria, Cryptosporidium oocysts, Giardia cysts, and hydrological indices for surface waters within an agricultural landscape. *Water Research*, 43(8), 2209-2223. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.01.033>.
- Witt, ASA, Carvalho, JVRP, Serafim, MSM *et al.* "El paisaje de GC% de *Nucleocytoviricota*". *Braz J Microbiol* 55, 3373–3387 (2024). <https://doi-org.bibliotecavirtual.uis.edu.co/10.1007/s42770-024-01496-7>
- Wood, A. W., Callaghan, J. D., Loiselle, R., McManus, R. M., Brovold, S. S., Kelly, H. A. W., Alexson, E. E., Sterner, R. W., Hudson, M. J., & Sheik, C. S. (2024). Spatiotemporal dynamics of cyanobacterium *Dolichospermum lemmermannii* populations in a bloom-

- prone region of Lake Superior. *Journal Of Great Lakes Research*, 102455. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2024.102455>
- Woo, Y., Cruz, M. C., & Wuertz, S. (2022). Selective Enrichment of *Nitrososphaera viennensis*-Like Ammonia-Oxidizing Archaea over Ammonia-Oxidizing Bacteria from Drinking Water Biofilms. *Microbiology Spectrum*, 10(6). <https://doi.org/10.1128/spectrum.01845-22>
- World Health Organization (WHO), (2020a) Cyanobacterial toxins: cylindrospermopsins. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality and Guidelines for safe recreational water environments. Geneva: (WHO/HEP/ECH/WSH/2020.4). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- World Health Organization (WHO), (2020b) Cyanobacterial toxins: anatoxin-a and analogues. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality and Guidelines for safe recreational water environments. Geneva: (WHO/HEP/ECH/WSH/2020.1). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- World Health Organization (WHO), (2022a) Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first and second addenda. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- World Health Organization (WHO), (2022b) Guidelines for drinking-water quality: small water supplies. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Wu, Q. L., & Hahn, M. W. (2006). High predictability of the seasonal dynamics of a species-like *Polynucleobacter* population in a freshwater lake. *Environmental Microbiology*, 8(9), 1660-1666. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01049.x>

- Wu, S., Zhou, L., Zhou, Y., Wang, H., Xiao, J., Yan, S., & Wang, Y. (2020). Diverse and unique viruses discovered in the surface water of the East China Sea. *BMC Genomics*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06861-y>
- Xu, J., Jin, G., Tang, H., Mo, Y., Wang, Y., & Li, L. (2019). Response of water quality to land use and sewage outfalls in different seasons. *The Science Of The Total Environment*, 696, 134014. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134014>
- Yamagishi, T., Fuchida, S., Katsumata, M., Horie, Y., Mori, F., Kitayama, A., Kawachi, M., Koshikawa, H., Nozaki, T., Kumagai, H., Ishibashi, J., & Tatarazako, N. (2018). Evaluation of the toxicity of leaches from hydrothermal sulfide deposits by means of a delayed fluorescence-based bioassay with the marine cyanobacterium *Cyanobium* sp. NIES-981. *Ecotoxicology*, 27(10), 1303-1309. <https://doi.org/10.1007/s10646-018-1989-2>
- Yin, J., Hu, W., Chen, A., Li, T., & Zhang, W. (2024). Human-caused increases in organic carbon burial in plateau lakes: The response to warming effect. *The Science Of The Total Environment*, 937, 173556. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173556>
- Yi Wang, Minli Guo, Xiaolu Li, Guanglong Liu, Yumei Hua, Jianwei Zhao, Arnaud Huguet, Suxia Li, Shifts in microbial communities in shallow lakes depending on trophic states: Feasibility as an evaluation index for eutrophication, *Ecological Indicators*, Volume 136, 2022, 108691, ISSN 1470-160X, <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.108691>.
- You, A., Hua, L., Hu, J., Tian, J., Ding, T., Cheng, N., & Hu, L. (2023). Patters of reactive nitrogen removal at the waters in the semi-constructed wetland. *Journal Of Environmental Management*, 344, 118733. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118733>

- Zhang, J., Tang, A., Jin, T., Sun, D., Guo, F., Lei, H., Lin, L., Shu, W., Yu, P., Li, X., & Li, B. (2024). A panoramic view of the virosphere in three wastewater treatment plants by integrating viral-like particle-concentrated and traditional non-concentrated metagenomic approaches. *iMeta*, 3(3). <https://doi.org/10.1002/imt2.188>
- Zhang, L., Chen, F., Zeng, Z., Xu, M., Sun, F., Yang, L., Bi, X., Lin, Y., Gao, Y., Hao, H., Yi, W., Li, M., & Xie, Y. (2021). Advances in Metagenomics and Its Application in Environmental Microorganisms. *Frontiers In Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.766364>
- Zhang, N., Liang, C., Kan, P., Yangyao, J., Lu, D., Yao, Z., Gan, H., & Zhu, D. Z. (2023). Indigenous microbial community governs the survival of Escherichia coli O157:H7 in constructed wetlands. *Journal Of Environmental Management*, 334, 117524. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.117524>
- Zhang, P., Xu, L., Su, J., Liu, Y., & Zhao, B. (2024). Bioremediation of oligotrophic waters by iron-humus-containing bio-immobilized materials: Performance and possible mechanisms. *Water Research*, 268, 122713. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.122713>
- Zhang, S., Fu, Z., Dong, X., Zheng, X., & Gu, H. (2024). Diversity and seasonal occurrence of haptophyta in northern South China Sea through size-fractionated metabarcoding. *Marine Pollution Bulletin*, 205, 116609. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2024.116609>
- Zhangsun, X., Guo, H., Du, Q., Li, N., Xue, S., Li, R., Ma, W., Liu, X., Zhang, H., & Huang, T. (2024). Spatial and temporal dynamics of microbes and genes in drinking water reservoirs:

- Distribution and potential for taste and odor generation. *Journal Of Hazardous Materials*, 479, 135708. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.135708>
- Zhang, Y., Wang, X., Liu, M., Liu, C., & Yin, Z. (2024). Simultaneous nitrogen and phosphorus removal from black water: Effects of dissolved oxygen level and sludge concentration on full-scale performance and bacterial community dynamics. *Journal Of Water Process Engineering*, 57, 104735. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2023.104735>
- Zhou, J., Smith, J. A., Li, M., & Holmes, D. E. (2023). Methane production by Methanotrix thermoacetophila via direct interspecies electron transfer with Geobacter metallireducens. *mBio*. <https://doi.org/10.1128/mbio.00360-23>
- Zhou, Q., Li, Y., Wang, M., Huang, J., Li, W., Qiu, S., & Wang, H. (2024). Prediction of Pseudomonas aeruginosa abundance in drinking water distribution systems using machine learning. *Process Safety And Environmental Protection*. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2024.11.099>
- Zhu, C., Zhang, J., Wang, X., Yang, Y., Chen, N., Lu, Z., Ge, Q., Jiang, R., Zhang, X., Yang, Y., & Chen, T. (2021). Responses of cyanobacterial aggregate microbial communities to algal blooms. *Water Research*, 196, 117014. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117014>
- Zhu, D., Feng, Z., He, B., Li, J., Zhu, D. Z., Xiong, J., & Yao, Z. (2025). Keystone bacterial groups dominate Escherichia coli O157:H7 survival in long-term reclaimed water headwater stream. *Environmental Pollution*, 125738. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2025.125738>

- Zirión-Martínez, C., Garfias-Gallegos, D., Arellano-Fernandez, T. V., Espinosa-Jaime, A., Bustos-Díaz, E. D., Lovaco-Flores, J. A., Tejero-Gómez, L. G., Avelar-Rivas, J. A., & Sélem-Mojica, N. (2024). A Data Carpentry- style Metagenomics workshop. *Journal Of Open Source Education*, 7(72), 209. <https://doi.org/10.21105/jose.00209>
- Zou, S., Huang, Z., Wu, X., & Yu, X. (2022). Physiological and Genetic Regulation for High Lipid Accumulation by *Chlorella sorokiniana* Strains from Different Environments of an Arctic Glacier, Desert, and Temperate Lake under Nitrogen Deprivation Conditions. *Microbiology Spectrum*, 10(5). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00394-22>

Apéndices

Apéndice A. *Protocolo de Muestreo de agua Embalse de Bucaramanga.*

1. Objetivo

Obtener muestras representativas de agua superficial del Proyecto de Regulación Hídrica Embalse de Bucaramanga para su posterior análisis metagenómico, siguiendo procedimientos estandarizados que aseguren la integridad microbiológica y genética de las muestras.

2. Selección del sitio de muestreo

De acuerdo con ISO 5667-4:2016:

- Se seleccionaron puntos de muestreo que representen diferentes zonas del cuerpo de agua, en este caso los muestreos se realizarán en las principales zonas del embalse (cola, centro y presa)
- Se evitó el muestreo cerca de la orilla inmediata para reducir el riesgo de contaminación externa.
- Se realizó un muestreo en la zona fótica (10 – 15 metros de profundidad) de la zona de transición del embalse o también llamada centro.

3. Equipamiento y material

- Botellas de vidrio borosilicato de 500 ml estériles, resistentes a ácidos y libres de ADNase/RNase.
- Guantes estériles, pinzas y material auxiliar esterilizado.
- Nevera portátil con acumuladores de frío para transporte.
- Registro de condiciones ambientales (conductividad y oxígeno disuelto).
- Registro GPS del punto exacto de muestreo.
- Controles de campo (Triplicados).

4. Procedimiento de muestreo

- Se empleó un protocolo de muestreo estéril bajo condiciones asépticas para minimizar la contaminación cruzada.
- En cada punto de muestreo, se recolectaron tres réplicas independientes (triplicado biológico) utilizando botellas de 500 ml, totalizando aproximadamente 1500 ml por sitio.
- El muestreo se realizó entre 20 y 50 cm bajo la superficie del agua (cola, centro y presa) y en la zona fótica del centro del embalse (15 metros), evitando el contacto con sedimentos o la capa superficial, de acuerdo con la norma.
- Las muestras colectadas en el punto centro en la zona fótica (15 metros) se tomaron mediante muestreo automático empleando muestreador de agua horizontal Wildco® Beta Plus
- Las muestras fueron mantenidas en condiciones de refrigeración (4 ± 2 °C) inmediatamente tras su recolección y transportadas al laboratorio GIBIM UIS en un plazo máximo de 2 horas.
- Se evitó la exposición a la luz solar directa y a cambios bruscos de temperatura.

5. Conservación y pretratamiento

- En el laboratorio, las muestras fueron filtradas en condiciones estériles utilizando filtros de membrana de 0,22 μm \varnothing 47 mm (PALL) para la captura del ADN microbiano.
- Los filtros fueron procesados inmediatamente después del proceso de filtración para extracción de ADN.

6. Control de calidad

- Se incluyeron controles negativos (agua ultrapura estéril) en campo y laboratorio para detectar posibles contaminaciones.
- Todo el material utilizado fue previamente esterilizado y manipulado en cabina de bioseguridad clase II, cuando fuese necesario.

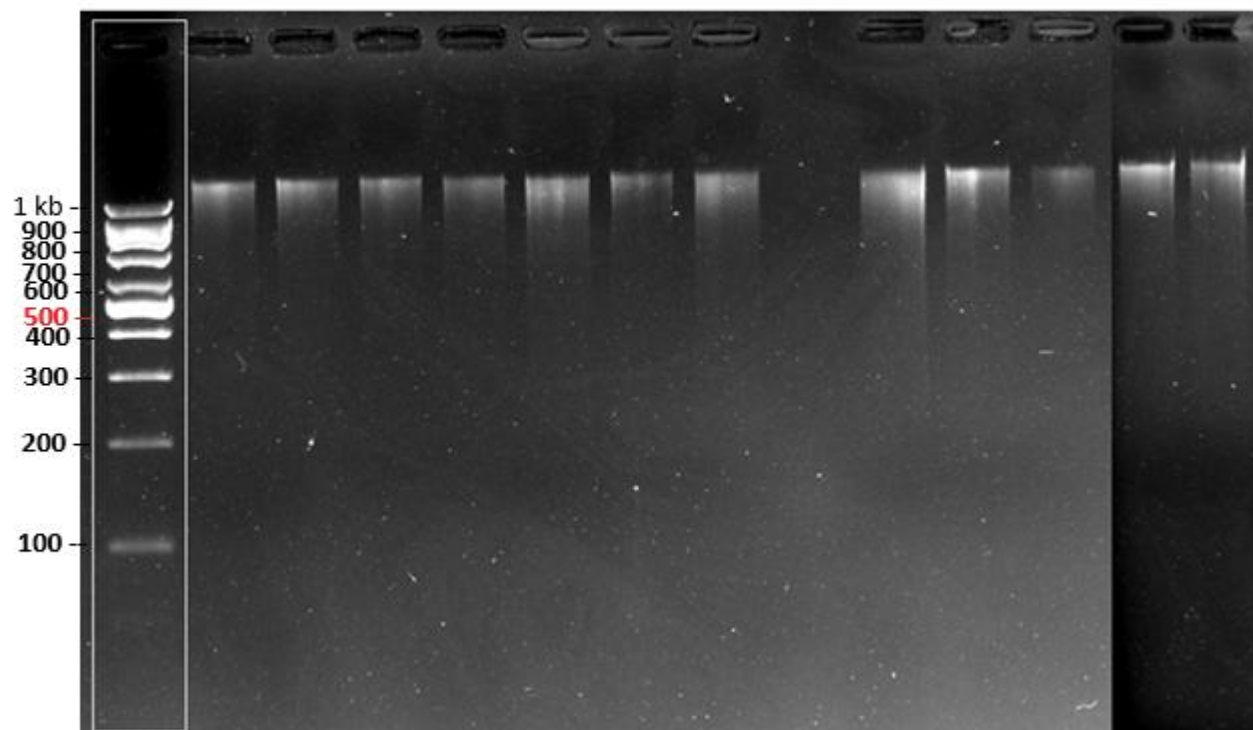
Apéndice B. *Control de calidad extracción ADN muestras Embalse de Bucaramanga.*

Muestra	Concentración	Unidades	A260/A280	A260/A230
Cola (M1)	90,200	ng/ul	1,881	1,120
Centro (M1)	82,800	ng/ul	1,882	2,407
Centro_15m (M1)	60,550	ng/ul	1,904	1,852
Presa(M1)	54,200	ng/ul	1,895	1,068
Cola (M2)	93,150	ng/ul	1,911	2,202
Centro (M2)	109,05	ng/ul	1,915	2,291
Centro_15m(M2)	40,250	ng/ul	1,863	1,551
Presa (M2)	104,10	ng/ul	1,893	2,103
Cola (M3)	156,20	ng/ul	1,893	2,014
Centro (M3)	108,95	ng/ul	1,903	2,190
Centro_15m (M3)	46,700	ng/ul	1,902	1,084
Presa (M3)	126,10	ng/ul	1,902	2,262

Nota: M1: Muestras colectadas el día 29 de agosto del 2024; M2: Muestras colectadas el día 30 de septiembre del 2024; M3: Muestras colectadas el día 3 de noviembre del 2024

* Relación de absorbancias 260/230 indica baja pureza del ADN.

Apéndice C. *Electroforesis en gel de agarosa al 1% ADN genómico.*



Nota: Gel de agarosa al 1% coloreado con SYBR safe (Life Technologies), marcador de peso molecular DM 2100 100 bp leader (SMOBIO)

Apéndice D. Resultados fisicoquímicos emitidos por el laboratorio de control de calidad de aguas del amb, de las muestras colectadas en el Embalse.

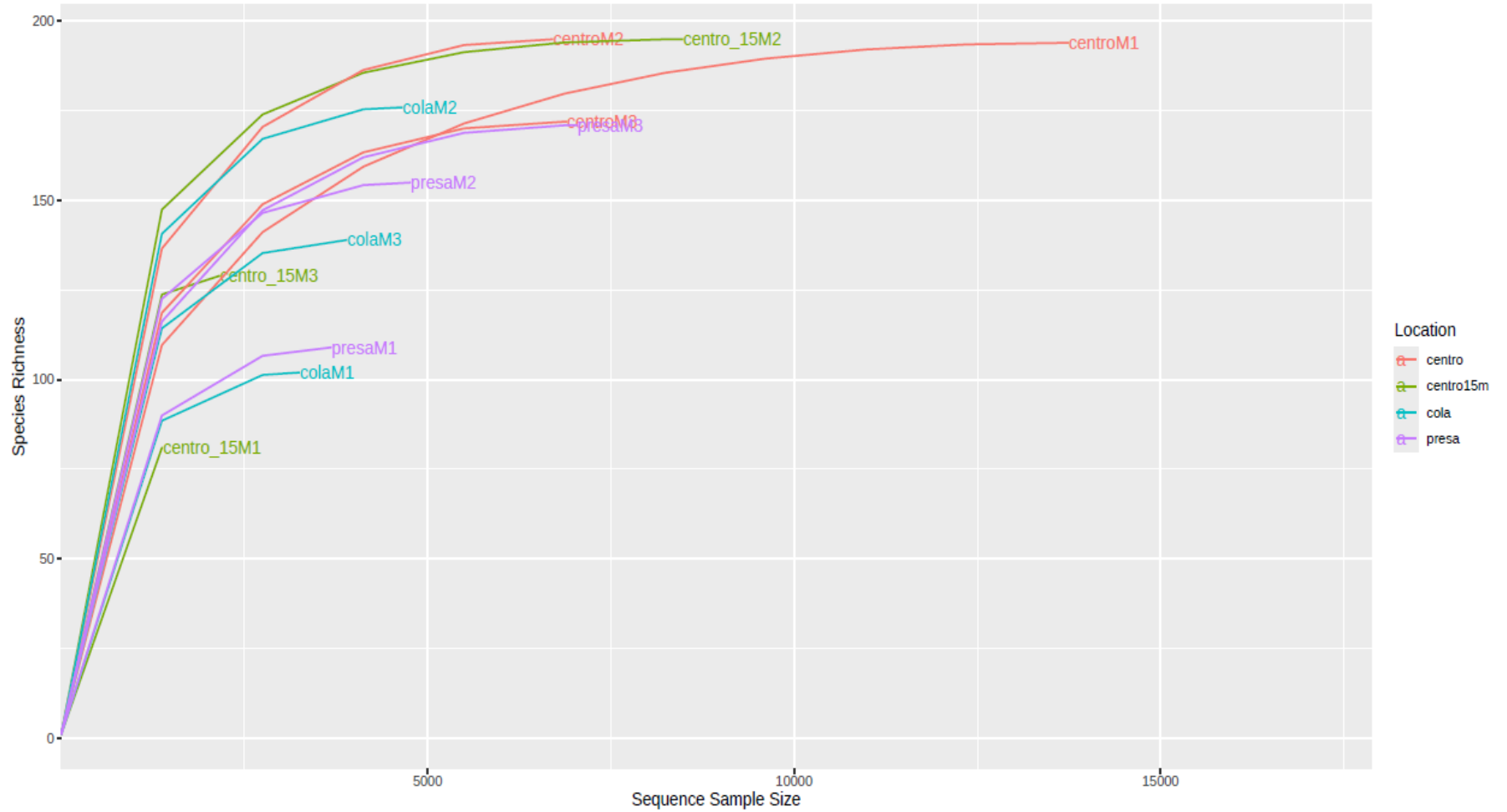
Parámetro	Unidades	Resultados												Límite decreto 1594/84	Método analítico
		29-ago-24				30-sep-24				5-nov-24					
		Cola	Centro	Centro (15m)	Presa	Cola	Centro	Centro (15m)	Presa	Cola	Centro	Centro (15m)	Presa		
Alcalinidad Total	mg CaCO3/L	78	76,8	80	77,2	74,8	75,2	79,6	74,8	78	77,8	82,6	81	-	Titulométrico
Aluminio Residual	mg Al/L	< 0,040	< 0,040	< 0,040	< 0,040	< 0,04	< 0,040	< 0,04	< 0,040	< 0,040	< 0,04	< 0,04	< 0,04	-	Eriocromo Cianina R
Amonio	mg NH4+/L	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	0,25	< 0,25	-	A. A. Electrotermal
Calcio	mg Ca/L	22,6	23,1	25,8	23	25,3	25,2	25,6	24,7	28	26,6	29,8	25,8	-	A. A. Electrotermal
COT	mg COT/L	2,34	2,28	2,6	2,32	2,41	2,3	3,41	2,29	2,28	2,14	2,13	2,16	-	Colorimétrico
Cloruros	mg Cl-/L	2,1	2,1	< 2,1	2,1	< 2,1	2,1	< 2,1	< 2,1	2,1	2,1	< 2,1	< 2,1	250	Potenciométrico
Color verdadero	Unidades Pt-Co	11,5	10	25	10	8,2	12,8	20,8	7,8	7,4	7,8	12,5	7,3	75	Espectrofotométrico
Conductividad	µS/cm	172	172	176	172	176	175	177	176	177	177	185	179	-	Electrométrico
Dureza total	mg CaCO3/L	70,6	71,8	78,6	71,2	76,8	77,2	80	77,6	82	83	84,6	82,4	-	Volumétrico con EDTA
Fluoruros	mg F-/L	0,13	0,13	< 0,13	0,13	0,2	0,24	0,26	0,19	0,3	0,3	0,3	0,35	-	Sustrato Enzimático
Fósforo reactivo	mg PO4-3/L	< 0,04	< 0,04	< 0,04	< 0,04	0,112	< 0,04	< 0,04	< 0,04	< 0,04	< 0,04	0,06	0,04	-	Absorción Atómica
Hierro Total	mg Fe/L	0,063	< 0,060	< 0,060	< 0,060	0,06	< 0,060	0,25	< 0,060	< 0,06	< 0,06	0,11	< 0,06	-	Absorción Atómica
Magnesio	mg Mg/L	3,4	3,4	3,5	3,4	3,3	3,4	3,5	3,7	2,4	3,6	3,6	3,7	-	A. A. Vapor Frío
Nitratos	mg NO3-/L	< 0,40	< 0,40	< 0,40	< 0,40	< 0,40	< 0,40	< 0,40	< 0,40	< 0,40	< 0,40	< 0,40	< 0,40	44,3	Espectrofotometría UV
Nitritos	mg NO2-/L	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	3,3	Colorimétrico
pH	Unidades de pH	8,55	8,66	8,59	8,59	7,59	7,72	7,6	7,68	7,63	7,92	7,91	7,99	5,0 - 9,0	Potenciométrico
Potasio	mg K/L	1,2	1,2	1,3	1,2	1,4	1,1	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	-	A. A. Electrotermal
Sodio	mg Na/L	5	5	4,5	5	5,4	5,3	4,7	5,4	5,5	5,5	4,9	5,5	-	Cromatografía Ionica
Sulfatos	mg SO42-/L	10	10,3	10,5	10,3	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	400	Turbidimétrico
Turbiedad	NTU	2,4	2,1	2,7	2	2,7	2	14	1,9	1,8	2,3	19,7	1,6	-	Nefelométrico

Nota: Esta tabla es una imagen adaptada del archivo original, teniendo en cuenta las dimensiones del documento.

Apéndice E. *Parámetros medidos In Situ en los muestreos realizados en el Embalse de Bucaramanga.*

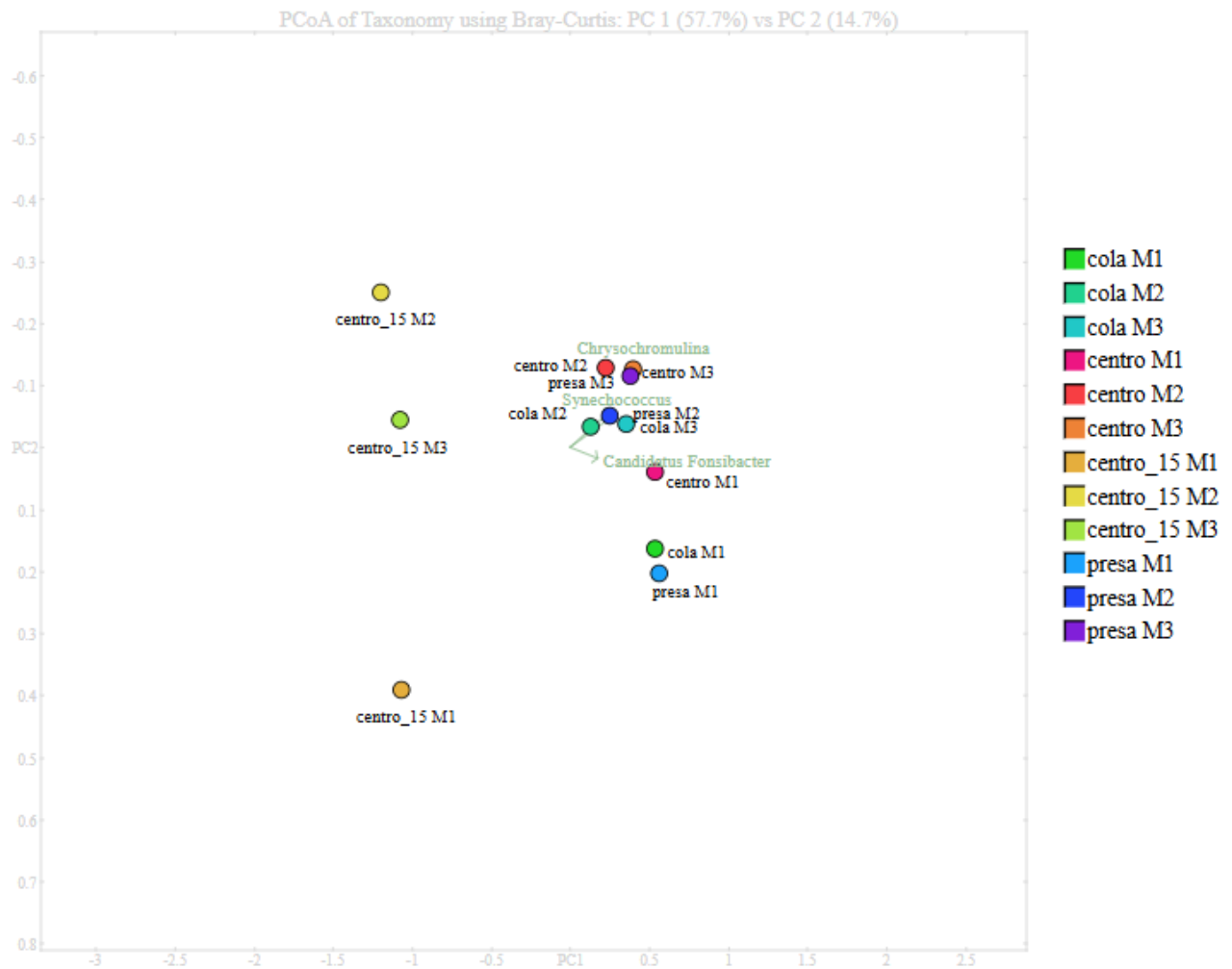
Parámetro	Unidades	Resultados											
		29-ago-24				30-sep-24				5-nov-24			
		Cola M1	Centro M1	Centro (15m) M1	Presa M1	Cola M2	Centro M2	Centro (15m) M2	Presa M2	Cola M3	Centro M3	Centro (15m) M3	Presa M3
Oxígeno Disuelto	mg O ₂ /L	7,32	7,16	2,5*	7,98	6,32	7,78	3,04*	6,87	7,16	6,88	2,64*	6,59
Conductividad	μS/cm	191,3	181,8	189,7	183,8	176,6	174,7	176,3	175	174,7	175,3	180,2	182,2

Nota: * Los parámetros se encuentran fuera de lo establecido en el Decreto 1076 de 2015 para aguas dulces frías para el mantenimiento de flora y fauna y la resolución 1096 de 2000

Apéndice F. *Análisis de rarefacción y riqueza de las asignaciones taxonómicas a nivel de géneros microbianos por muestra.*

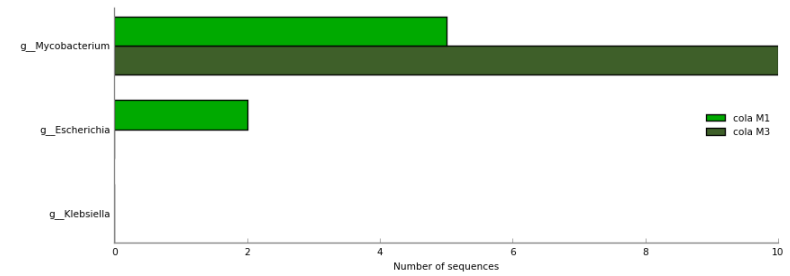
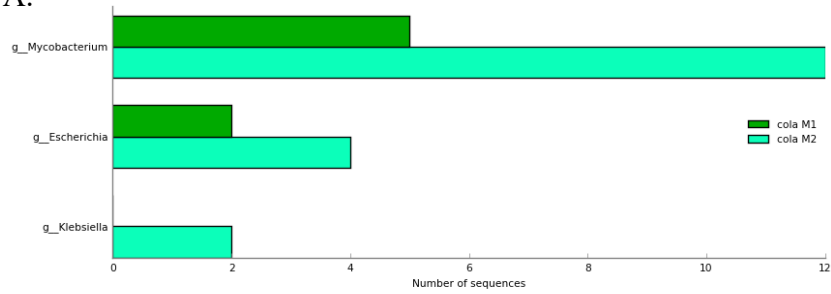
Nota: Las curvas de rarefacción se encuentran discriminadas por localización de los muestreos realizados.

Apéndice G. Patrón de agrupamiento de las muestras del embalse de Bucaramanga respecto a la composición de géneros microbianos.

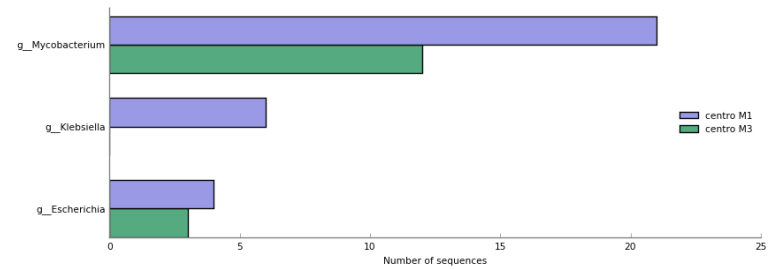
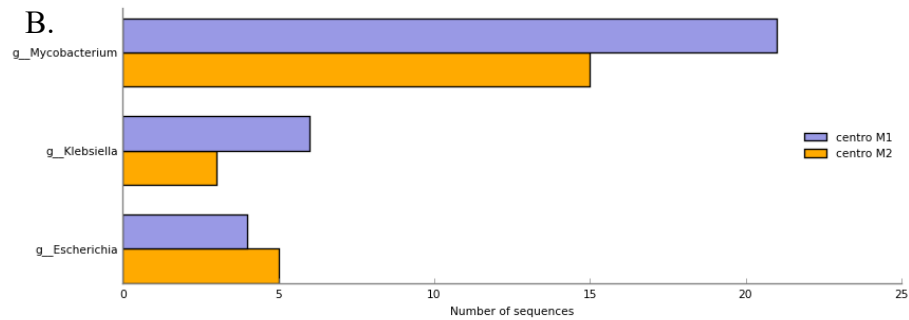


Apéndice H. *Presencia de secuencias compatibles con bioindicadores en el agua del Embalse de Bucaramanga.*

A.

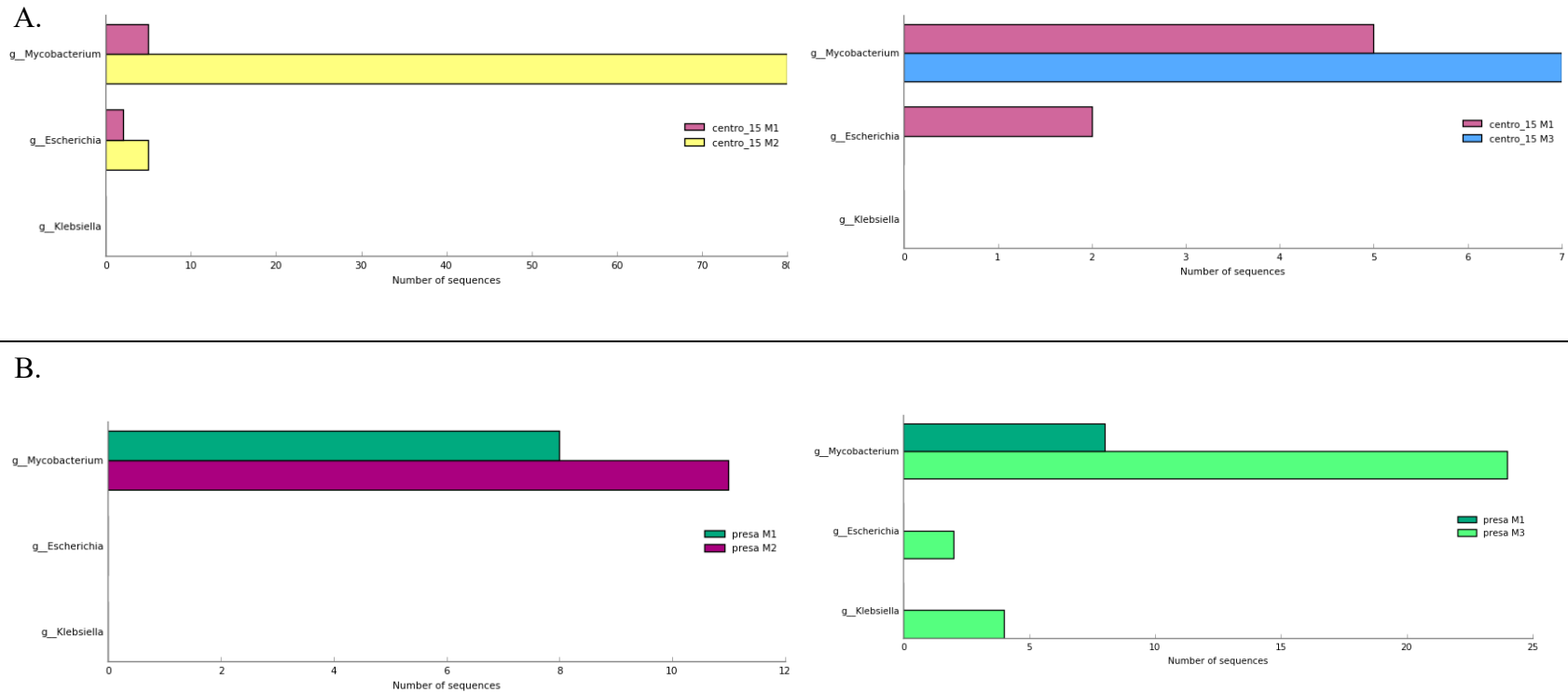


B.



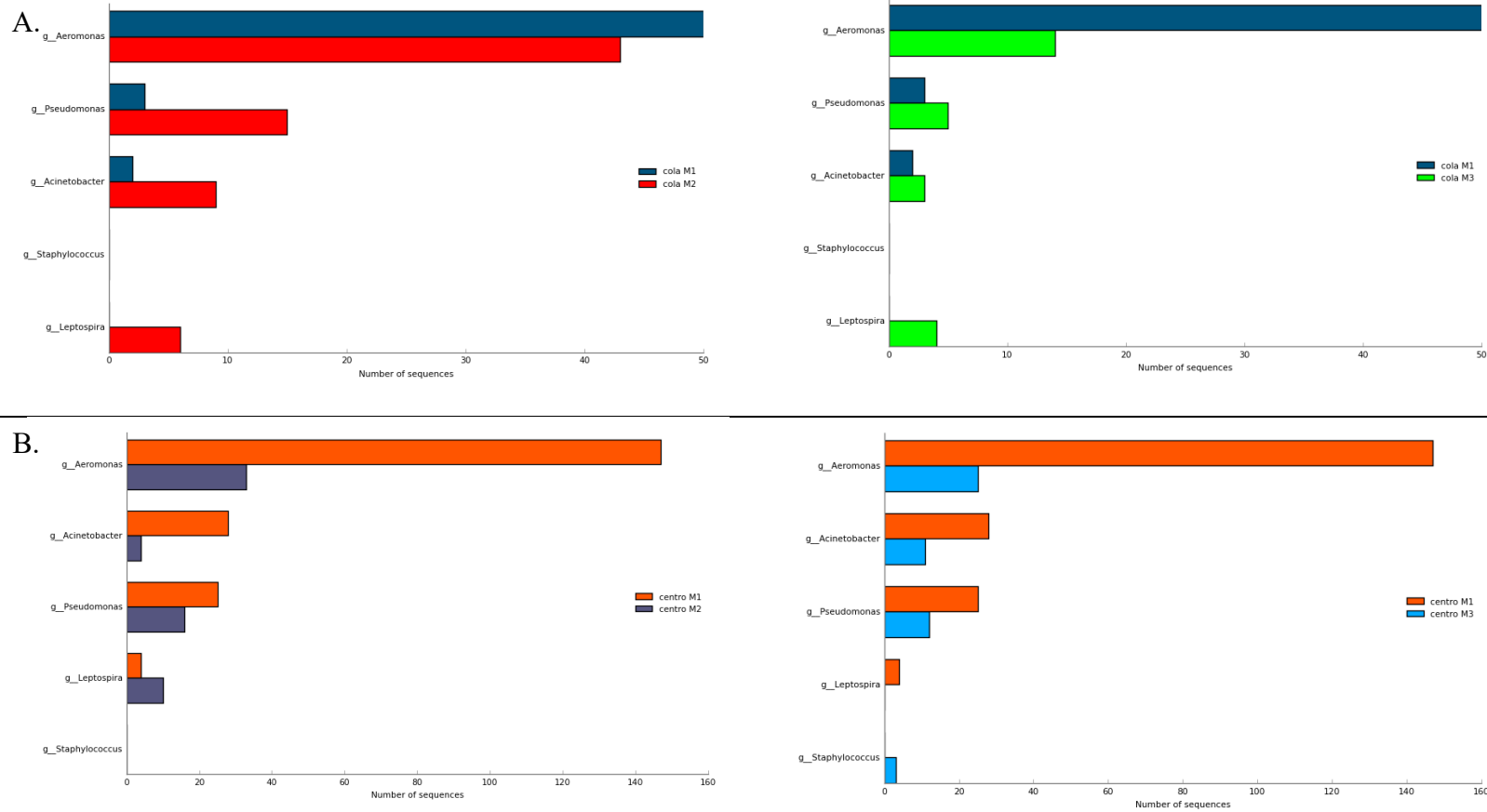
Nota: **A.** Bioindicadores de alteración de calidad microbiológica del agua encontrados en las muestras tomadas en la cola del embalse. **B.** Bioindicadores de alteración de calidad microbiológica del agua encontrados en las muestras tomadas en el centro del embalse

Apéndice I. *Presencia de secuencias compatibles con bioindicadores en el agua del Embalse de Bucaramanga.*



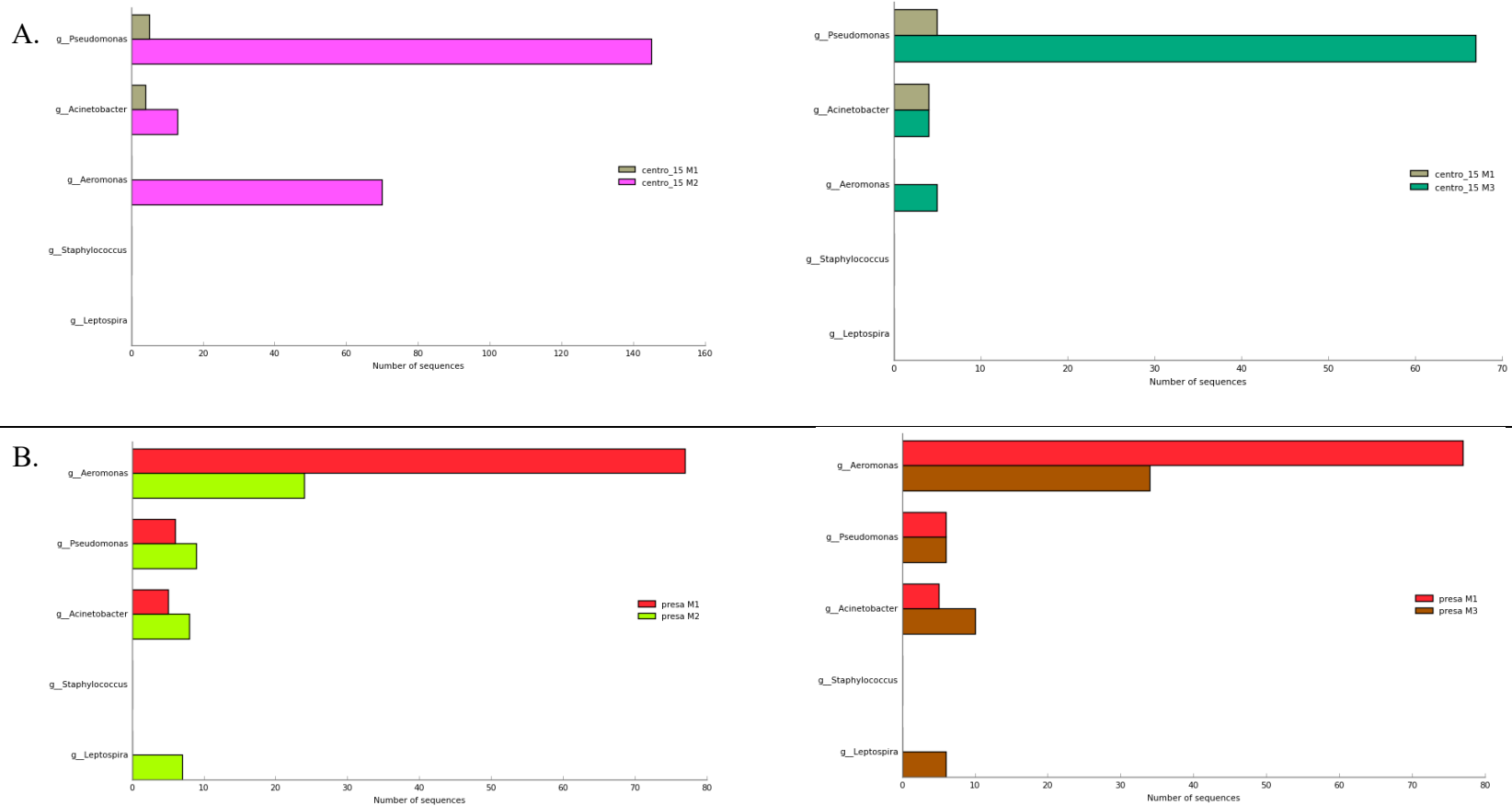
Nota: **A.** Bioindicadores de alteración de calidad microbiológica del agua encontrados en las muestras tomadas en el centro a 15 metros de profundidad en el embalse. **B.** Bioindicadores de alteración de calidad microbiológica del agua encontrados en las muestras tomadas en la presa del embalse

Apéndice J. Presencia de secuencias compatibles con microorganismos con potencial patogénico y alteración microbiológica en el agua del Embalse.



Nota: **A.** Potenciales patógenos encontrados en las muestras tomadas en el centro a 15 metros de profundidad en el embalse. **B.** Potenciales patógenos encontrados en las muestras tomadas en la presa del embalse

Apéndice K. *Presencia de secuencias compatibles con microorganismos con potencial patogénico y alteración microbiológica en el agua del Embalse.*



Nota: **A.** Potenciales patógenos encontrados en las muestras tomadas en el centro a 15 metros de profundidad en el embalse. **B.** Potenciales patógenos encontrados en las muestras tomadas en la presa del embalse.