



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGUA DE LA CUENCA DEL RÍO
GUAYLLABAMBA MEDIANTE BIOENSAYOS CON LACTUCA SATIVA

AUTOR

Andrés Miguel Arguello Pazmiño

AÑO

2018



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

Evaluación de la toxicidad del agua de la Cuenca del río Guayllabamba
mediante bioensayos con *Lactuca sativa*

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Ingeniero Ambiental en Prevención y
Remediación

Profesor Guía
MSc. Indira Fernandina Black Solís

Autor
Andrés Miguel Arguello Pazmiño

Año
2018

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo, Evaluación de la toxicidad del agua de la Cuenca del río Guayllabamba mediante bioensayos con *Lactuca sativa*, a través de reuniones periódicas con el estudiante Andrés Miguel Arguello Pazmiño, en el semestre 2018-2, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.”

Indira Fernandina Black Solís

Magister en Conservación y Gestión del Medio Natural

C.I: 171127356-3

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, Evaluación de la toxicidad del agua de la Cuenca del río Guayllabamba mediante bioensayos con *Lactuca sativa*, del estudiante Andrés Miguel Arguello Pazmiño, en el semestre 2018-2, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.”

Yasser Alejandro González Romero

Magister en Ingeniería Ambiental

C.I: 070373762-7

DECLARACIÓN DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

Andrés Miguel Arguello Pazmiño

C.I: 020241625-1

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser mi guía, a mis padres María y Pedro y a mis hermanas Verónica y Alexandra por su apoyo incondicional.

También a mi profesora guía Indira Black, por ser mi profesora y amiga, gracias por sus consejos, y apoyo incondicional.

También a mis docentes y amigos Paola Posligua, Yasser González, Pavlova Sigcha, por todos sus conocimientos impartidos, ayuda y consejos, en el transcurso de mi carrera. También a la PhD. Blanca Ríos por su ayuda en el desarrollo de mi trabajo de titulación.

A mis amigos de la carrera y a César Rojas y Carlos Muela por su amistad y apoyo.

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mis padres, por ser mis pilares fundamentales en el proceso de mi formación académica y a mis queridas hermanas que son mi ejemplo a seguir y a mis tíos José y Zulema por ser mis consejeros y ser como mis segundos padres.

RESUMEN

Entre los métodos usados para la evaluación de la calidad del agua encontramos la evaluación de fitotoxicidad como son el de germinación de semillas y la prueba de la elongación radical. Los objetivos de este trabajo consistieron en evaluar la toxicidad de las aguas de la Cuenca del Río Guayllabamba a través de bioensayos con *Lactuca sativa* (lechuga) y establecer un índice biológico que permita conocer y evaluar las condiciones de contaminación del agua de este río. Se determinaron cinco puntos de muestreo, observando gradientes de contaminación desde el punto no contaminado bajo hasta el punto más contaminado. Los parámetros físico-químicos del agua de la cuenca del río Guayllabamba que se midieron fueron: cloruros, sulfatos, fosfatos, nitratos DQO, DBO₅, oxígeno, pH y conductividad.

Cada punto de muestreo fue utilizado como tratamiento para desarrollar el diseño experimental, por lo que se obtuvo cinco tratamientos más un testigo con 5 repeticiones de 10 semillas cada uno. Los bioensayos se realizaron con semillas de *Lactuca sativa* mediante una prueba estática de toxicidad aguda (120 horas de exposición) para evaluar los efectos fitotóxicos. Se valoró la respuesta de esta planta en la germinación de sus semillas y en la elongación de sus radículas y epicotilos. También el desarrollo de sus hojas y tamaño en plántulas. Encontramos respuestas diferenciales de la germinación y elongación de radículas, directamente relacionadas a la contaminación del agua.

Palabras claves: contaminación de ríos, toxicología, *Lactuca sativa* L. bioensayos, semillas, plántulas

ABSTRACT

Among the methods used for the evaluation of water quality, is the phytotoxicity evaluation as a result of seed germination and the radical elongation test. The objectives of this work were to evaluate the toxicity of the waters of the Guayllabamba River Basin through bioassays with *Lactuca sativa* (lettuce) and to establish a biological index that allows us to know and evaluate the water contamination conditions of this river. Five sampling points were determined, observing pollution gradients from the low uncontaminated point to the most contaminated point. The physical-chemical parameters of the water of the Guayllabamba river basin measured were: chlorides, sulphates, phosphates, nitrates, ammonium, DQO, DBO₅, oxygen, pH and conductivity.

Each sampling point was used as a treatment to develop the experimental design, with five repetitions of 10 seeds each. The bioassays were performed with seeds of *Lactuca sativa* by means of a static test of acute toxicity (120 hours of exposure) to evaluate the phytotoxic effects. The response of this plant was evaluated in the germination of its seeds and in the extension of its radicles and epicotiles. Also the development of its leaves and size in seedlings. We find differential responses from the germination and elongation of radicles, directly related to water pollution

Keywords: river pollution, toxicology, bioassays, *Lactuca sativa* L. seeds, seedlings

ÍNDICE

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Alcance.....	2
1.3 Justificación	3
1.4 Objetivo General	3
1.5 Objetivos Específicos	4
1.6 Hipótesis	4
Hipótesis Nula (H_{01})	4
Hipótesis Alternativa (H_{11}).....	4
Hipótesis Nula (H_{02})	4
Hipótesis Alternativa (H_{12}).....	4
2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Ecosistemas lóticos	5
2.2 Bosque de Ribera	5
2.3 Contaminación de ríos	6
2.4 Cuenca del Guayllabamba.....	7
2.5 Indicadores de la calidad del agua	10
2.6 Bioensayos de toxicidad	11
2.6.1 <i>Lactuca sativa</i> como indicador	12
2.7 Lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	12
2.7.1 Morfología.....	13
3. CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	16
3.1 Área de estudio:	16

3.2 Puntos de muestreo.....	17
3.3 Toma de parámetros in- situ.....	18
3.4 Recolección de muestras de agua para análisis de laboratorio	18
3.5 Recolección de muestras de agua para experimentos de semillas y plántulas	18
3.6 Análisis en laboratorio	19
3.7 Descripción de la especie de estudio	19
3.8 Diseños experimentales.....	19
3.8.1 Análisis de varianza (ANOVA)	19
3.8.2 Germinación de semillas de <i>Lactuca sativa</i> en condiciones de laboratorio.....	21
3.8.3 Desarrollo de plántulas de <i>Lactuca sativa</i> L.	23
3.9 Procesamiento y análisis de datos	25
3.9.1 Análisis y tratamiento de datos para semillas	25
3.9.2 Correlación de Pearson	27
4. CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS	27
4. 1 Análisis de Parámetros Físico- Químico del agua de la Cuenca del rio Guayllabamba.....	27
4.2. Respuestas biológicas en semillas de <i>Lactuca sativa</i>	31
4.2.1 Índices de toxicidad	31
4.2.2 Respuesta germinativa de <i>Lactuca sativa</i>	34
4.3 Respuesta de <i>Lactuca sativa</i> en plántulas	37
4.4 Correlación de PEARSON de parámetros físico- químico con las semillas de <i>Lactuca sativa</i>	39

4.5 Correlación de PEARSON de parámetros físico-químico con plántulas de <i>Lactuca sativa</i>	40
5. CAPÍTULO V. DISCUSIONES.....	41
6. CONCLUSIONES	44
REFERENCIAS	45
ANEXOS.....	50

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Existen contaminantes que afectan de una u otra manera a los bosques de ribera de los ríos y a la calidad de los ríos (Andrade, 2011). La agricultura, la urbanización, y la deforestación son los principales causantes de la degradación y pérdida del suelo y del recurso agua, también las descargas directas de las aguas de industrias causan problemas en la actualidad (García, 2010). En los países de América Latina, habitan 40 millones de personas, las mismas que aprovechan recursos de los Andes y ecosistemas acuáticos para poder sobresalir en el ámbito socioeconómico (Renner , 2011).

Otra causa de la contaminación de ríos, es por el uso de pesticidas, en la agricultura, dando lugar al lavado de nitratos, causando un deterioro al nivel freático, es decir a las aguas subterráneas, la presencia de estos compuestos nitrogenados causan la eutrofización en los depósitos de las aguas subterráneas, provocando un crecimiento anormal de organismos presentes, originando una pérdida excesiva del oxígeno disuelto presente, ocasionando la muerte de los organismos presentes (Martinez , Dibut , & Ríos , 2010).

Otro factor de contaminación de los ríos son las descargas directas de las industrias, aquí sobresalen la presencia de metales pesados y materia orgánica, los contaminantes estarán presentes de acuerdo a la empresa (UNESCO, 2017). El DMQ, cuenta con una variedad de ríos, los mismos que se encuentran perdiendo biodiversidad por el impacto de actividades como: ganadería, agricultura y el crecimiento demográfico. (Acosta, Ríos, Rieradevall, & Prat , 2009). Quito pertenece a la Cuenca del río Guayllabamba, sus ríos principales son: Pita, San Pedro, Machangara, y Monjas, mismos que ofrecen bienes hídricos, y hábitats vegetales (Oleas, Ríos-Touma, Peña Altamirano, & Bustamante, 2016).

Dentro de los puntos de estudio, se puede observar la presencia de materia orgánica por las descargas directas de las aguas industriales a la ciudad,

además la presencias de residuos sólidos de origen industrial y urbano (Acosta, Ríos, Rieradevall, & Prat , 2009).

Los bioensayos son considerados como una técnica en la cual se evalúa la toxicidad de una variedad de sustancias que afectan al agua de una zona determinada, que pueden ser de origen agrícola o industrial, existe la posibilidad de realizar análisis físico-químico pero son muy costosos, es por ello que se realizan estas pruebas por su bajo costo y como una alternativa eficiente (Gómez, Espínola, Escarcena, & Tagliani, 2001).

Se recomiendan una variedad de técnicas eco toxicológicas, donde se utilizan organismos como blanco, la germinación de semillas, y la prueba de elongación radical de *Lactuca sativa*, son de los indicadores más sencillos de la calidad del agua en el monitoreo ambiental. Cuando las semillas se muestran a aguas contaminadas, la respuesta inmediata puede ser medida, estos ensayos evalúan toxicidad de aguas de ríos, lagos, aguas para consumo humano (Rodríguez Romero, et al., 2014).

1.1 Alcance

El trabajo de investigación consistió en levantar información sobre la toxicidad de los ríos que forman parte de la cuenca del río Guayllabamba, donde se definieron cinco puntos de muestreo.

Consta de dos etapas, la primera es el análisis in situ y en laboratorio de la calidad de agua, utilizando parámetros fisicoquímicos (pH, conductividad, temperatura, oxígeno disuelto, turbidez, nitritos, nitratos, amonio, fosfatos, DBO₅, DQO, cloruros, sulfatos, aceites y grasas y alcalinidad).

La segunda fase fue del tipo experimental, se midió la respuesta de semillas y plántulas de *Lactuca sativa*, frente al agua de diferentes puntos de la Cuenca del río Guayllabamba. En el proceso de germinación de semillas, donde se evidencio

la germinación y la elongación de la radícula y el epicotilo como indicadores de la calidad del agua (Rodríguez Romero , et al., 2014).

Finalmente se realizó un ensayo con plántulas de lechuga de cinco semanas de crecimiento, donde se registró número de hojas y tamaño de plántulas como indicadores de la calidad del agua.

1.2 Justificación

En la actualidad los ríos de la ciudad de Quito, entre estos los de la Cuenca del río Guayllabamba, presentan cambios en la calidad del agua y ecosistémica. Estos cambios se deben por origen agropecuario por la presencia de compuestos químicos es decir fertilizantes, también por las descargas directas de aguas servidas causando alteraciones fisicoquímicas del agua , también existe la perdida de los bosques de ribera los mismos que mantienen el equilibrio ecológico para protección del suelo de las laderas de los ríos.

Se han realizado pruebas eco toxicológicas para determinar la presencia de sustancias que ingresan al medio ambiente, los mismos que ayudan a determinar el grado de contaminación estos indicadores combinados con la longitud del crecimiento de plántulas y germinación de las semillas reflejan cambios en la calidad de los ecosistemas, estos son usados por su costo bajo, ya que estos resultados son basados en pruebas de sensibilidad a las plantas mediante el uso de estas muestras de agua.

1.4 Objetivo General

Evaluar la toxicidad del agua de la Cuenca del río Guayllabamba mediante bioensayos con *Lactuca sativa*

1.5 Objetivos Específicos

- Determinar la respuesta de *Lactuca sativa* en relación a la toxicidad del agua de la Cuenca del río Guayllabamba
- Correlacionar parámetros físico-químicos del agua de la Cuenca del río Guayllabamba con la respuesta de germinación y desarrollo de plántulas de *Lactuca sativa*

1.6 Hipótesis

Hipótesis Nula (H0₁)

Los procesos germinativos de la especie no se ven afectados por la calidad de agua de la Cuenca de río Guayllabamba

Hipótesis Alternativa (H1₁)

Los procesos germinativos de la especie se ven afectados por la calidad de agua de la Cuenca del río Guayllabamba

Hipótesis Nula (H0₂)

El desarrollo de plántulas *Lactuca sativa* no se ve afectado por la calidad del agua de la Cuenca del río Guayllabamba

Hipótesis Alternativa (H1₂)

El desarrollo de plántulas *Lactuca sativa* se ve afectado por la calidad del agua de la Cuenca del río Guayllabamba

2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Ecosistemas lóticos

Los ecosistemas lóticos son conocidos como un ecosistema ribereño, este se encuentra relacionado con ríos de aguas fluidas, formando parte de la llamada ecología del agua dulce o llamada ecología acuática, puede ser cualquier tipo de agua en movimiento, un río, canal o arroyo. El agua existente en el ecosistema debe tener gases atmosféricos, turbidez, graduación de temperatura longitudinal y material disuelto en ella, desde el ingreso hasta el fin del río. Los ecosistemas lóticos poseen dos zonas principales, rápidos y piscinas. Los rápidos tienen áreas donde el fondo es libre de materiales, las piscinas existen acumulación de sedimentos y son más profundas y lentas (Reinbold, 2018).

Los hábitats de agua dulce cubren menos del 1% de la superficie terrestre, pero contienen alrededor del 10% de todas las especies conocidas. Al mismo tiempo, la biodiversidad de agua dulce ha disminuido más que en otros ecosistemas del mundo, siendo los seres humanos los principales impulsores de la contaminación ambiental. Los ecosistemas lóticos se ven afectados en particular por las actividades humanas a través de un rango de perturbaciones que incluyen la contaminación del agua, la degradación del hábitat y las modificaciones del flujo del río. Se prevé que la presión futura sobre arroyos y ríos aumentará aún más a medida que el cambio climático, en combinación con presiones ambientales, probablemente tenga impactos negativos de largo alcance sobre la estructura y el funcionamiento del ecosistema (Friebert, 2014).

2.2 Bosque de Ribera

El bosque de ribera es la cobertura vegetal que encontramos en la zona periferia de los ríos. Son de mucha importancia por su elevada variedad biológica, por que acogen especies propias de la zona, también ayudan a regular el microclima de los ríos. En la actualidad se ven afectados por las actividades agropecuarias

que se realizan, causando modificaciones (fragmentaciones) en el suelo (CEDEX, 2014).

2.3 Contaminación de ríos

La contaminación se define como la alteración del medio natural producto de factores externos, como son los físicos, químicos o biológicos (Mackenzie & Cornwell, 2012). La contaminación de la ecología acuática ocasionan problemas indestructibles o transitorios en las comunidades biológicas en ríos (Kiely, 2000).

El problema que presenta los ríos y que causa contaminación en los mismos, son las descargas residuales directas (Varea, et al., 2010). Causando la presencia de grandes cantidades de materia orgánica que mediante oxígeno ayudan a la descomposición con ayuda de las bacterias, llamado la demanda de oxígeno (Kiely, 2000). Existe el incremento de DBO y sólidos en suspensión, también de compuestos tales como nitritos, nitratos, fosfatos y compuestos amoniacales, cuando los ríos reciben las descargas de los efluentes (Kiely, 2000).

Existen dos clasificaciones sobre la contaminación ya sea fija o indefinida (Mackenzie & Cornwell, 2012). El arrojar agua residual a ríos se denomina contaminación fija ya que afecta a una zona en particular, en cambio la indefinida no existe un punto exacto, es decir no se conoce el origen de contaminación (Ibáñez, 2012).

Estos cambios en el agua producen modificaciones de origen físicas, químicas y biológicas (Villamarín, Prat, & Rieradevall, 2014).

El agua presenta cambios fisicoquímicos por los contaminantes, es decir hay cambios en color, temperatura, las empresas que se dedican a utilizar el recurso agua con sustancias químicas, causan el deterioro del caudal ecológico de los ríos. Los tensoactivos causan problemas al agua por la presencia en los

productos de aseo ocasionando daños en la tensión superficial del agua (Montane de la Vega, 2012).

La presencia de contaminantes químicos en el agua, causa problemas, como presencia de metales pesados, presencia e incremento de sales solubles. También hay variaciones en el pH del agua, el mismo que ayuda en la determinación si el agua es tipo alcalina o acida, esto puede variar por el agua que se desecha al efluente acuático (Montane de la Vega, 2012).

En la parte biológica por la contaminación puede existir presencia de organismos virales, bacteriológicos, que causan enfermedades, concurrentes en el caudal del río, ya sea por las descargas directas con presencia de contaminantes en los arroyos (Elliott, 2003). La presencia de estos organismos patógenos, producen que el agua no sea potable y por ende no sea ingerida por las personas o animales (Leppäkoski , 2012).

2.4 Cuenca del Guayllabamba

La Cuenca del río Guayllabamba, se encuentra en la región Interandina del Ecuador, en la provincia de Pichincha; formando parte de la cuenca del río Esmeraldas, Posee una extensión de 4.710 Km², la misma que comparte cinco cantones: Mejía, Cayambe, Pedro Moncayo y el DMQ (FONAG, 2009).

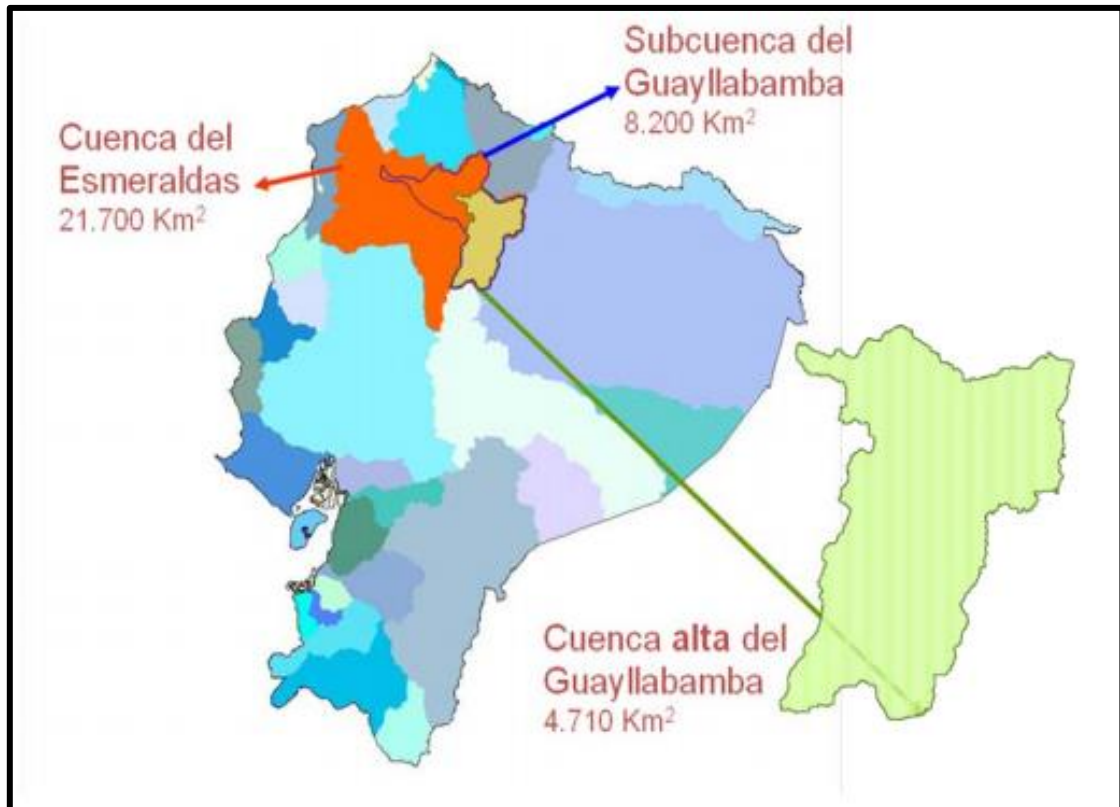


Figura 1. Cuenca del río Guayllabamba

Tomada de (FONAG, 2009)

El río Guayllabamba pertenece al afluente del río Esmeraldas, el mismo que termina en el Océano Pacífico. Las subcuencas de la Cuenca de río del Guayllabamba son: San Pedro, Pita, Guayllabamba Alto Pisque y Guayllabamba Medio. El centro de la Cuenca es la ciudad de Quito, ubicando a la población a lado izquierdo del río San Pedro, donde existe mayor población. Aquí habitan 2 millones de personas. La mayoría de las comunidades realizan actividades agrícolas, ganaderas. El sector industrial muestra un gran potencial. La generación de energía se pretende llegar a desarrollarse en un aplazamiento corto. En la cuenca se pretende realizar alianzas para cuidar el medio ambiente (FONAG, 2009).

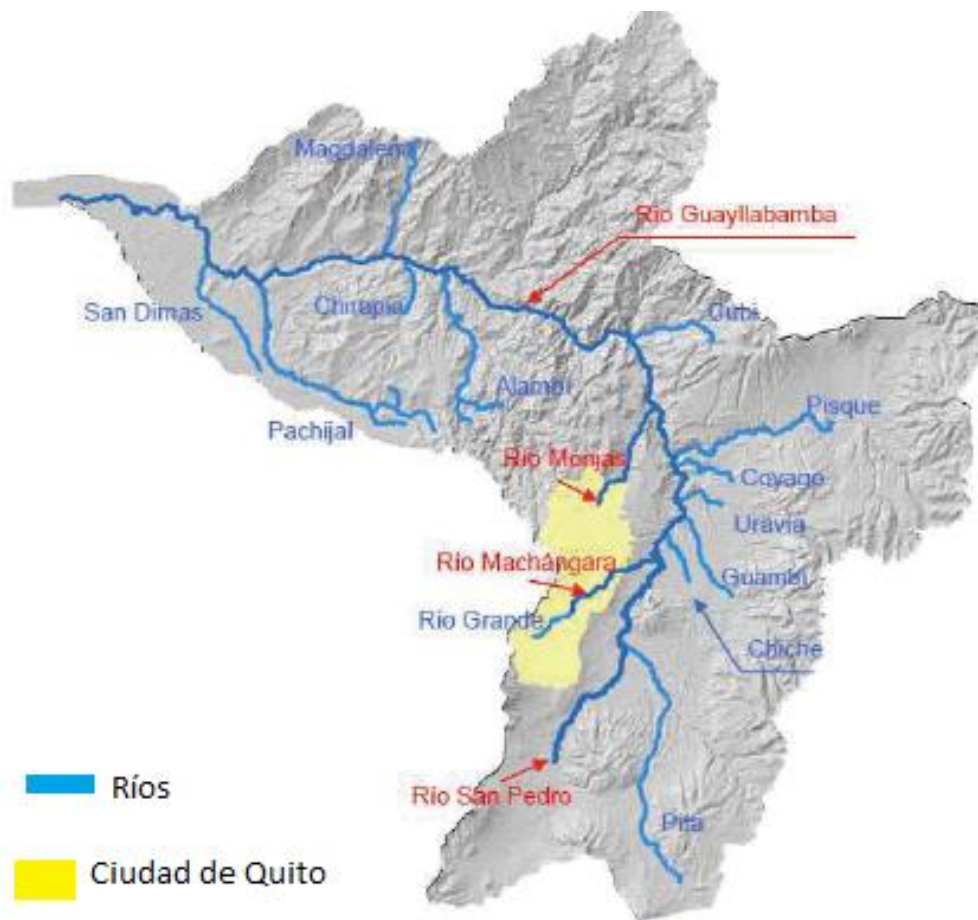


Figura 2. Ríos y afluentes de Quito

El río Machángara es el resultado de las quebradas que se ubican al sur de la ciudad de Quito y también la quebrada el Batán que se ubica en el centro norte. El río San Pedro nace en el Oriente de Quito, teniendo como afluente al río Pita, siendo el que recepta todas las aguas de origen residual de los valles Chillós y Cumbayá- Tumbaco. Sus aguas se utilizan para producir energía en las centrales de Guangopolo y Cumbayá, también en la de Nayón que funciona con aguas del Machángara y San Pedro (Chisaguano, 2015).

Tabla 1.

Longitud de los principales ríos de Quito

Río	Longitud (Km)
Machángara	22.5
San Pedro	24.3
Pita	175.3

El agua de estos ríos no es apta para el uso humano o doméstico, uso agrícola, también para uso pecuario e industrial. Las aguas residuales de Quito son descargadas de manera directa a los ríos de Quito, siendo el más principal el Machángara, este recibe las descargas del sur, norte y parte del norte de Quito (FICHTNER, 2009).

El río Pita presenta contaminación del agua por la presencia de los coliformes, también existe contenido de pesticidas e insecticidas, no sobrepasa los límites establecidos por el TULSMA, también otros factores de contaminación es por las personas que realizan pesca artesanal en el Parque Nacional Cotopaxi, contaminan el agua con alimentos en la zona (MAE, 2012).

2.5 Indicadores de la calidad del agua

Los indicadores de la calidad del agua se definen como un parámetro que ayuda a la evaluación del estado de calidad de las diferentes aguas que se estén estudiando (Loné Pérez, 2016).

Clasificación:

Según (Loné Pérez, 2016) los indicadores de calidad se clasifican en:

Según la complejidad:

Simples: Consiste en el uso de un solo parámetro, el mismo que mide la gradiente de contaminación del agua, usado para una medida (valor respuesta) en el análisis de la muestra u de manera directa en el agua.

Complejos: Medición en la que se utilizan los diferentes parámetros, es decir todos para la medición de la gradiente de contaminación.

Según el parámetro usado:

Físico-químicos: Estos hacen referencia a parámetros físicos o químicos del agua, tenemos el pH, temperatura, DBO₅, sólidos suspendidos.

Hidro morfológicos: Aquí se evalúa las características tanto geológicas como hidrológicas que tienen los ríos, también tener resultados positivos en los ecosistemas fluviales, mediante alteraciones humanas que carecen los ríos.

Biológicos: Son organismos que determinan el estado de los medios acuáticos, desarrollando ciclos biológicos. Los usado tenemos: macroinvertebrados, peces, plantas, etc.

2.6 Bioensayos de toxicidad

Desde años atrás se incrementó el uso de bioensayos para el control de la calidad del agua, utilizándose una amplia variedad de organismos, desde bacterias hasta peces, pasando por casi todos los animales y vegetales (Bohórquez Echeverry & Campos Pinilla, 2007).

Se entiende por bioensayo un ensayo en que un tejido, organismo o grupo de organismos vivos se usan como reactivo para determinar la potencia de cualquier sustancia fisiológicamente activa cuya actividad se desconoce (Reish, 1987).

Las pruebas de toxicidad son experimentos que miden el efecto de uno o más contaminantes en una o más especies (Castillo Morales, 2004) y permiten evaluar el grado de toxicidad de una sustancia química, un efluente, un cuerpo de agua, etc., empleando organismos vivos (Romero Andrade, 2010).

2.6.1 *Lactuca sativa* como indicador

El bioensayo con lechuga ha sido utilizado como herramienta de valoración de la contaminación del agua, debido a su habilidad para detectar efectos adversos a mezclas complejas de sustancias químicas (Bohórquez Echeverry & Campos Pinilla, 2007).

Dentro de las metodologías estandarizadas para establecer condiciones controladas, *Lactuca sativa* L. han sido recomendadas por la US EPA (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos) y la FDA (Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos) para ensayos de fitotoxicidad, encontrándose entre las especies más sensibles. Las plantas vasculares son recomendadas debido a su mayor sensibilidad, en comparación con otras especies. El ensayo eco toxicológico con semillas presenta algunas ventajas sobre otros ensayos porque permite usar cuantitativamente el crecimiento de la raíz (FAO, 2001).

2.7 Lechuga (*Lactuca sativa* L.)

La lechuga es una planta anual perteneciente a la familia Asteraceae y de esta manera corresponde a la especie *Lactuca sativa*, existen diferentes tipos de especies que se caracterizan por sus tipos de hojas y los hábitos de crecimiento (Sánchez Vorrallés, 2005).



Figura 3. Lechuga (*Lactuca sativa*)

Tabla 2.

Descripción botánica

<u>Reino:</u>	<u>Plantae</u>
<u>División:</u>	<u>Magnoliophyta</u>
<u>Clase:</u>	<u>Magnoliopsida</u>
<u>Orden:</u>	<u>Asterales</u>
<u>Familia:</u>	<u>Asteraceae,</u>
<u>Subfamilia:</u>	<u>Cichorioideae</u>
<u>Tribu:</u>	<u>Lactuceae</u>
<u>Género:</u>	<u><i>Lactuca</i></u>
<u>Especie:</u>	<i>Lactuca sativa</i> <u>L.</u>

2.7.1 Morfología

Raíz: No sobrepasa los 25 de profundidad, tiene ramificaciones, es pivotante.



Figura 4. Raíz lechuga

Hojas: Las hojas se encuentran distribuidas en forma de roseta, hojas abiertas al inicio, en algunas variedades durante todo el desarrollo (romanas), en otras se acogollan más tarde. Los bordes de los limbos pueden ser lisos, ondulados o aserrado.



Figura 5. Hojas lechuga romana

Tallo: Cilíndrico y ramificado.

Semillas: Presentan una capa externa, dura, leñosa, donde se encuentra ubicado el embrión, en algunos casos presentan doble embrión, dando lugar a dos o más plantas originadas de una sola semilla.

Germinación:

La germinación ocurre cuando la testa de la semilla se rompe, dando paso al desarrollo del embrión, produciendo una planta bajo condiciones favorables.

La semilla posee el embrión, el mismo que recibe los nutrientes para el crecimiento que se encuentra en la semilla. El epicotilo crece en sentido ascendente, fuera del suelo y forma tallos y hojas, y lo que sobra de manera inferior bajo el suelo, formando raíces. El epicotilo no recibe estímulos gravitacionales, creciendo en sentido contrario, a diferencia de la radícula crece en sentido gravitacional.

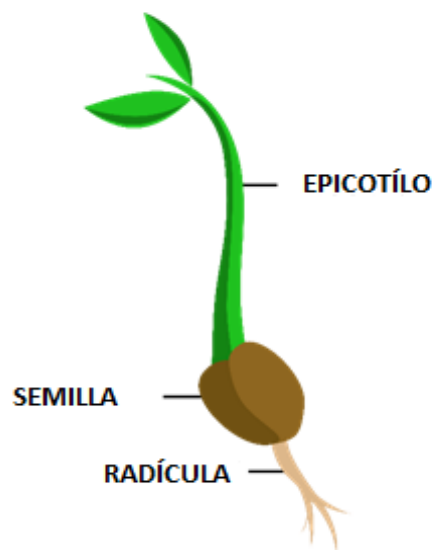


Figura 6. Morfología de la semilla y la plántula de lechuga (*Lactuca sativa*)

3. CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

La presente investigación de tipo experimental tuvo el propósito de medir los efectos del agua proveniente de la cuenca del Guayllabamba, (en un rango de contaminación de muy bajo a muy alto), sobre la germinación y desarrollo de *Lactuca sativa*.

3.1 Área de estudio:

El estudio se realizó en la Cuenca del río Guayllabamba, donde se seleccionaron cinco sitios en los ríos Pita, San Pedro y Machángara, en altitudes comprendidas entre los 2600 y 2800 msnm, el agua recolectada en los sitios mencionados fue utilizada para realizar los bioensayos con semillas de *Lactuca sativa*. Actualmente en la Cuenca existen problemas, debido a contaminación química proveniente de las actividades agrícolas, a descargas directas de aguas residuales sin tratamiento, cambio de uso del suelo y con ella pérdida de bosques de ribera y reducción del caudal ecológico. El cambio del uso del suelo se ha notado últimamente, ya que hay mucha vegetación arbustiva, pérdida de espacio

a lo largo de la cuenca (MAGAP, 2012), dando lugar a cultivos de ciclo corto, plantaciones forestales y presencia de pasto.

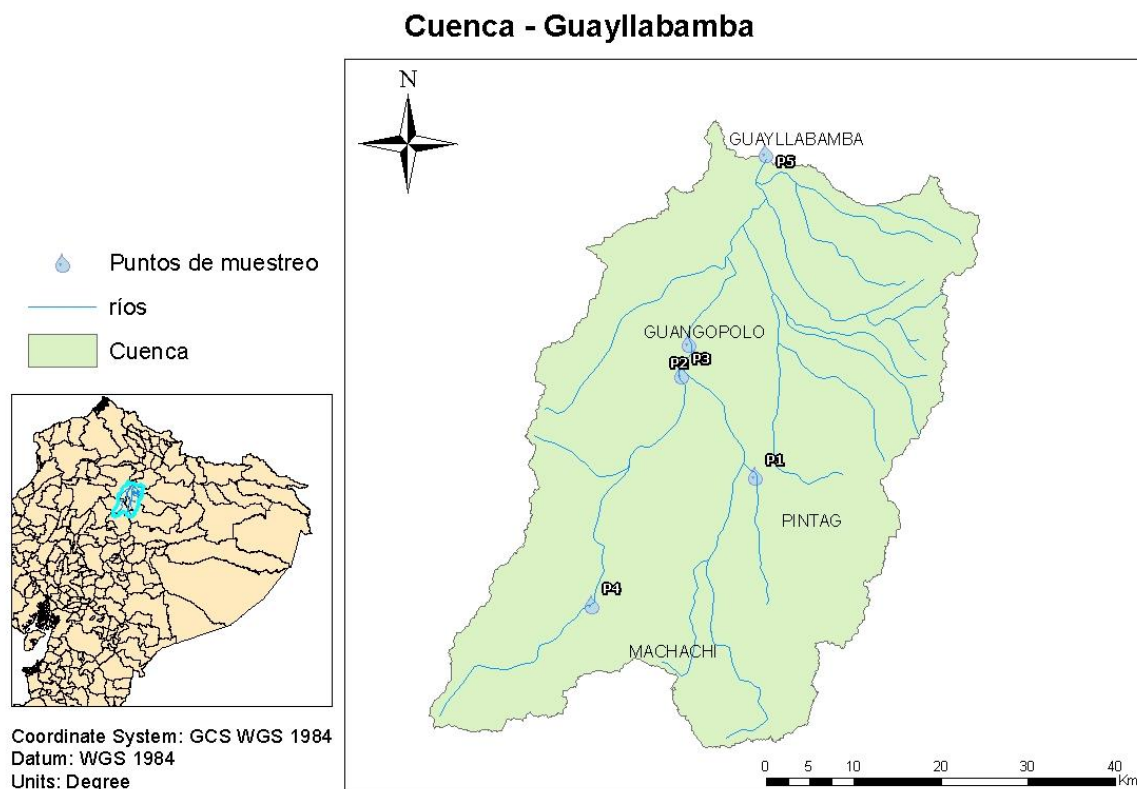


Figura 7. Puntos de muestreo en la Cuenca del río Guayllabamba

3.2 Puntos de muestreo

Se seleccionaron cinco sitios de muestreo, que se distribuyen desde la parte con menor grado de contaminación (P1), hasta el sector con alto grado de contaminación (P5), en los ríos Pita, San Pedro y Machángara, la gradiente de contaminación fue determinada por parámetros físico-químicos del agua, mediante estudios anteriormente realizados.

Tabla 3.

Puntos de muestreo

Puntos de muestreo	Río	Coordenadas		Grado de contaminación
		Latitud	Longitud	
P1	Pita	-0.400956	-78.383733	muy bajo
P2	San Pedro	-0.264217	-78.452697	bajo
P3	Pita	-0.296142	-78.459882	medio
P4	San Pedro	-0.533825	-78.552438	alto
P5	Machángara	-0.068651	-78.373258	muy alto

3.3 Toma de parámetros in- situ

En los meses de marzo, abril y mayo del 2018 se visitaron los cinco puntos de estudio, y se registraron parámetros In situ: oxígeno disuelto, pH y temperatura, con la sonda de medición *Mettler Toledo*; y la conductividad eléctrica con el equipo de medición de YSI Pro-30.

3.4 Recolección de muestras de agua para análisis de laboratorio

Se recolecto 1 litro de agua en cada sitio de estudio, utilizando para ello botellas ámbar, las cuales se llenaron con el agua de la corriente y se almacenaron en frío hasta ser transportados al laboratorio (Villmarin, Prat, & Rieradeval, 2014).

3.5 Recolección de muestras de agua para experimentos de semillas y plántulas

Para la recolección de agua para el riego de semillas y plántulas se usaron botellas de plástico de 3 litros, previamente lavadas, desinfectadas y etiquetadas. Las muestras de agua se transportaron en obscuridad y refrigeración de acuerdo con el método estándar (APHA, 2005).

3.6 Análisis en laboratorio

En laboratorio se evaluó para cada muestra: nitritos (4500-NO₂-), nitratos (4500-NO₃-), fosfatos (4500-P), amonio (4500-NH₃), sulfatos (4500-SO₄²⁻) y cloruros (4500-Cl), DBO₅, DQO, siguiendo las metodologías descritas en los *Standard Methods* (Health Association, 1992).

3.7 Descripción de la especie de estudio

La lechuga es una planta herbácea, anual que presenta una raíz pivotante y ramificada. Según la OECD (Guidelines for the Testing of Chemicals señala que a la lechuga *Lactuca sativa*) como una especie útil para el desarrollo de pruebas de toxicidad en los diferentes protocolos de aplicación en ecotoxicología. Debido a sus características tiene potencial como especie indicadora de la calidad del agua y suelo (Andrade, 2013).

3.8 Diseños experimentales

El trabajo experimental se basó en un diseño completamente aleatorio (DCA) lo que implica la variación de datos en los diferentes tratamientos analizados midiendo el efecto en los componentes.

3.8.1 Análisis de varianza (ANOVA)

El análisis de varianza o ANOVA es utilizado para demostrar la variación de datos de un solo lote o entre lotes. Esto, para que se pueda determinar una significancia y demostrar que los datos tienen diferencias dependiendo de las variables y constantes encontradas en los experimentos (Faraway, 2002). Durante este estudio fue utilizado para identificar diferencias significativas entre tratamientos (sitios de recolección de agua), complementado con pruebas de Tukey, con un $p > 0,05$, para GRS, CRR, IG, crecimiento de epicotilo, en semillas y en plántulas para crecimiento de las partes aérea y radicular. Previo a la

realización de los ANOVAS se hizo la prueba de normalidad de Kruskal-Wallis, los datos no normales fueron transformados con logaritmo natural.

En el caso de los parámetros físico químicos: pH, conductividad, nitratos, nitritos, fosfatos, cloruros, sulfatos y alcalinidad se realizó análisis no paramétrico, Kruskal-Wallis ANOVA, con un valor de significancia de 5. La Tabla 4- 5 y las ecuaciones 1-10 muestran el proceso realizado según los modelos estadísticos planteados (Zúñiga, 2010).

$$y_{kb} = \mu + \tau_k + \gamma_b + \varepsilon_{kb} \quad (\text{Ecuación 1})$$

y = Efecto (Variable Respuesta)

k = Tratamiento

Para la determinación de la significancia se utilizó una confiabilidad del 95%

$$\alpha = 1 - \left(\frac{\text{Confiabilidad}}{100} \right) \quad (\text{Ecuación 2})$$

Tabla 4.

Cálculo de ANOVA

- **Tratamientos**

Variables	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Razón f	P-valor
Tratamientos	k-1	SC _{trat}	CM _{trat}	$F_0 = \left(\frac{CM_{trat}}{CME} \right)$	p(F ≥ F ₀)
Error	(k-1) (b-1)	SC _E	CME		
Total	(k * b) -1	SC _T			

- **Meses**

Variables	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Razón f	P-valor
meses	k-1	SC _{mes}	CM _{tmes}	$F_0 = \left(\frac{CM_{mes}}{CME} \right)$	p(F ≥ F ₀)

Error	(k-1) (b-1)	SC _E	CME
Total	(k * b) -1	SC _T	

Donde:

$$SC_{\text{trat}} = \sum \frac{yk^2}{b} - \frac{y^2}{N}$$

Y=Media
N=(k*b)

(Ecuación 3)

$$SC_{\text{mes}} = \sum \frac{yk^2}{b} - \frac{y^2}{N}$$

(Ecuación 4)

$$SC_T = \sum \sum ykb^2 - \frac{y^2}{N}$$

(Ecuación 5)

$$SC_E = SC_T - SC_{\text{trat}} - SC_{\text{mes}}$$

(Ecuación 6)

$$CM_T = \frac{SCT}{N-1}$$

(Ecuación 7)

$$CM_{\text{trat}} = \frac{SCT_{\text{trat}}}{k-1}$$

(Ecuación 8)

$$CM_{\text{mes}} = \frac{SC_{\text{mes}}}{b-1}$$

(Ecuación 9)

$$CM_E = \frac{SCE}{(k-1)(b-1)}$$

(Ecuación 10)

3.8.2 Germinación de semillas de *Lactuca sativa* en condiciones de laboratorio

Los bioensayos realizados para evaluar el efecto tóxico del agua de la Cuenca del Río Guayllabamba en la germinación de semillas de *Lactuca sativa* se establecieron siguiendo el método propuesto por Sobrero y Ronco (2008) y Bagur-González *et al.* (2011). Para lo cual se colocaron 10 semillas de *Lactuca sativa*, en cajas Petri de 100 mm de diámetro sobre papel filtro de 9 mm de espesor. En cada caja de Petri se aplicaron 2 ml de agua de las muestras de agua de los sitios de estudio, se realizaron 6 repeticiones por tratamiento. El agua del punto 1 -río Pita- contaminación muy baja fue considerado como testigo.

Transcurrido el tiempo de exposición (120 horas) se contabilizó el número de semillas germinadas, considerando aquellas con una longitud radical mayor a 1 mm (Di Salvatore *et al.* 2008). Para evaluar el crecimiento de las plántulas de *L. sativa* en cada uno de los tratamientos al final de la experimentación se realizó la medición de la longitud del epicotilo y de la radícula de las plántulas. Esto fue replicado tres veces, con el agua colectada en marzo, abril y mayo de 2018.

Los factores controlados en este experimento fueron:

- Fotoperiodo (24 horas de oscuridad)
- Humedad (riego 2ml)
- Sustrato inerte (papel absorbente)
- Temperatura de (17 °C a 20 °C)

VARIABLES INDEPENDIENTES:

Tabla 5.

Detalle del diseño experimental germinación de semillas

Variables	Niveles	Repeticiones	Réplicas
	(Testigo)		
	Tratamiento 1		
Agua de	Tratamiento 2		
la Cuenca			
del Río	Tratamiento 3		
Guayllab			
amba	Tratamiento 4		
	Tratamiento 5		
Meses	Marzo		
	Abril		
	Mayo		

VARIABLES DEPENDIENTES:

- **Germinación de semillas:**

En el laboratorio se puede considerar germinada la semilla cuando las paredes de la testa se rompieron por acción de la radícula.

- **Crecimiento de la radícula:**

Se consideró la radícula a partir de 1 milímetro

- **Crecimiento del epicotilo**

Se consideró el epicotilo a partir de 1 milímetro

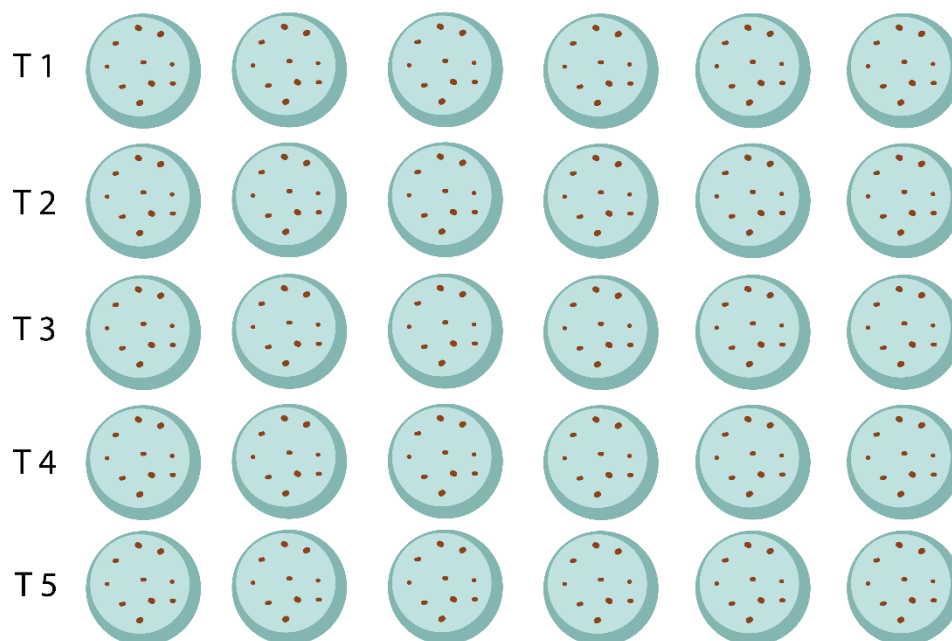


Figura 8. Diagrama de los 5 tratamientos

3.8.3 Desarrollo de plántulas de *Lactuca sativa* L.

Para este diseño se usaron almácigos donde se colocó 20gr de sustrato (humus) en cada agujero donde en que se sembraron las plántulas de 5 semanas de edad. Los datos del crecimiento de hojas, número de hojas se registraron vez

por semana, durante 4 semanas. Al finalizar el ensayo se retiraron las plantas del suelo y se midió su raíz.

VARIABLES INDEPENDIENTES:

Tabla 6.

Diseño experimental plántulas de Lactuca sativa

Variable	Niveles		Repeticiones
Agua de la cuenca del Río Guayllabamba	(Testigo)	Punto 1 (Río Pita)	16 repeticiones por punto de muestreo (tratamiento)
	Tratamiento 1	contaminación muy bajo	
	Tratamiento 2	Punto 2 (Río San Pedro) contaminación baja	
	Tratamiento 3	Punto 3 (Río Pita) contaminación media	
	Tratamiento 4	Punto 4 (Río San Pedro) contaminación alta	
Tratamiento 5	Punto 5 (Río Machangara) contaminación muy alta		

VARIABLES DEPENDIENTES:

- **Tamaño de la plántula**

Una vez por semana

- **Número de hojas**

Una vez por semana

- **Tamaño de raíz**

Al final de la experimentación (en plantas de 9 semanas de edad)

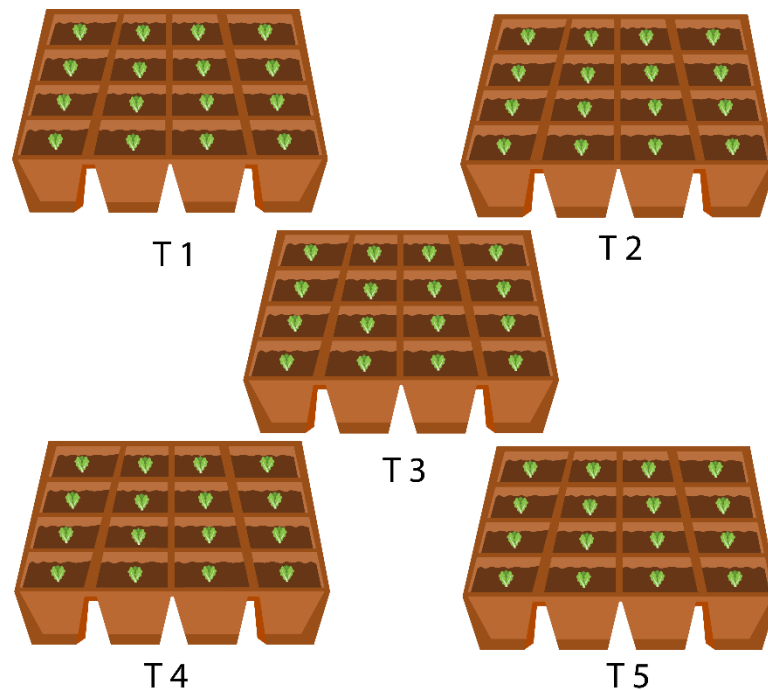


Figura 9. Diagrama de los 5 tratamientos

3.9 Procesamiento y análisis de datos

3.9.1 Análisis y tratamiento de datos para semillas

Para medir los efectos de la contaminación del agua de riego sobre los procesos de germinación y desarrollo temprano de *Lactuca sativa*, los resultados obtenidos fueron expresados, según (Bagur González et al., 2011).

- **Germinación relativa de semillas (GRS)**

Esta fórmula ayuda a determinar el porcentaje relativo de germinación es decir la relación de las semillas germinadas con el agua problema frente al testigo. Indicando un valor superior al 100% con la relación negativa testigo vs. problema y valores inferiores al 100% implica una relación positiva testigo vs. problema.

$$GRS (\%) = \frac{\text{Número de semillas germinadas con la muestra de agua problema}}{\text{Número de semillas germinadas en agua dura (testigo)}} \times 100$$

(Ecuación 11)

- **Crecimiento relativo de la raíz (CRR)**

Esta fórmula ayuda a relacionar el porcentaje de crecimiento radicular con el agua problema frente al testigo.

Indicando un valor superior al 100% con la relación negativa testigo vs. problema y valores inferiores al 100% implica una relación positiva testigo vs. problema.

$$CRR (\%) = \frac{\text{Longitud promedio de la raíz con la muestra de agua problema}}{\text{Longitud promedio de la raíz en agua dura (testigo)}} \times 100$$

(Ecuación 12)

- **Índice de germinación (IG)**

El índice de germinación indica la relación de las semillas germinadas y la relación del crecimiento radicular

$$IG (\%) = \frac{GRS \times CRR}{100}$$

(Ecuación 13)

- **Porcentaje de germinación residual normalizado (IGN)**

$$IGN = \frac{Germ_x - Germ_{Testigo}}{Germ_{Testigo}}$$

(Ecuación 14)

Donde Germ_x es el porcentaje promedio de semillas germinadas en el agua de cada sitio de estudio y Germ_{Testigo} es el porcentaje de semillas germinadas en el testigo.

- **Porcentaje elongación radical residual normalizado (IER)**

Donde $Elong_x$ es la longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en cada sitio de estudio y cada dilución, y $Elong_{Testigo}$ es la longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en el testigo. Ambos índices IGN e IER establecen valores de toxicidad desde -1 a > 0 bajo las siguientes categorías: índice de 0 a -0.25 baja toxicidad, de -0.25 a -0.5 toxicidad moderada, de -0.5 a -0.75 muy tóxico y de -0.75 a -1.0 , toxicidad muy alta; valores del índice > 0 indican crecimiento de la radícula u hormesis (Rodríguez Romero, et al., 2014).

$$IER = \frac{Elong_x - Elong_{Testigo}}{Elong_{Testigo}}$$

(Ecuación 15)

3.9.2 Correlación de Pearson

En una fase de experimentación, se necesita un método multivariante como el de Pearson, el cual permite determinar la relación entre variables. Para esta investigación se correlacionarán parámetros físico-químicos (pH, conductividad eléctrica, nitratos, nitritos, sulfatos, fosfatos y cloruros) con las respuestas biológicas (germinación; crecimiento de radícula y epicotilo; crecimiento de la parte aérea y radicular).

4. CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.1 Análisis de Parámetros Físico- Químico del agua de la Cuenca del rio Guayllabamba

- **pH:**

Los valores de pH dentro de la Cuenca se encuentran entre 8.75 y 6.95; con un promedio de 7.91, ligeramente alcalino. No se muestran diferencias significativas

entre los niveles de contaminación (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=7.57$, $p=0.1088$, para tratamientos y $H= 4.02$, $p= 0.1340$ para meses).

- **Conductividad:**

La conductividad dentro de la cuenca presenta valores muy diferentes entre puntos de muestreo, (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=11.60$, $p=0.0206$), en el punto 1 (contaminación muy baja) es tres veces menor al punto 4 (contaminación alta), (134.8 – 632 $\mu\text{S/cm}$). En tanto que no se muestran diferencias entre meses (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=1.46$, $p=0.4819$).

- **Oxígeno Disuelto:**

Dentro de la cuenca la saturación de oxígeno presentó valores que van de 91 a 103% en los puntos 1, 2, 4 y 5; y bajó a un promedio de 30,95% en el sitio con contaminación media (P3), el análisis de varianza muestra que sí existen diferencias significativas entre sitios de estudio (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=12.83$, $p=0.0119$). Respecto al contenido de oxígeno disuelto en la cuenca se encontraron valores entre 0,71 y 8.79 mg/l. Al igual que con la saturación los sitios de estudio 1, 2, 4 y 5 presentar un promedio de 7.46 mg/l, con un mínimo 6.20 mg/l en (P4) y un máximo de 8.25 mg/l en (P1); valores muy distantes al encontrado en (P3) 3.45 mg/l. Las diferencias encontradas son estadísticamente significativas (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=12.30$, $p=0.0153$). Tanto para saturación como contenido de oxígeno no se encontraron diferencias significativas entre meses (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=0.26$, $p=0.8781$; $H=0.06$, $p=0.9679$).

- **Turbidez:**

La turbidez del agua en la Cuenca presenta valores entre 5 y 220 NTU, la máxima y mínima lectura se encontró en el punto 2 en marzo y mayo respectivamente. Sin que exista por ello diferencias estadísticamente significativas, según lo

señala (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=4.94$, $p=0.3843$, para sitios de muestreo y $H=2.14$, $p=0.316$, entre meses).

En tanto que para el color la media de la cuenca fue de 99,86 UPC, con un mínimo de 3 UPC en el punto 4 durante marzo, y un máximo de 177 UPC para el mismo punto en mayo. Se encontraron diferencias significativas entre meses de muestreo (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=6.85$, $p=0.0320$), pero no entre puntos (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=1.98$, $p=0.7369$).

- **Nitritos:**

El contenido de nitritos dentro de la cuenca muestra diferencias significativas entre puntos, mientras que entre fechas no las hay, como lo muestra el análisis de varianza (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=11.33$, $p=0.0226$; $H=1.09$, $p=0.5796$). Existe una relación directa entre contaminación y contenido de nitritos. En el punto con contaminación muy baja (P1) el valor es de 0,001 mg/l, frente al 0,538 mg/l del punto con contaminación muy alta (P5).

- **Nitratos:**

Los nitratos dentro de la cuenca muestran valores diferentemente significativos en los puntos de muestreo, en tanto que en las fechas son similares, (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=12.21$, $p=0.0157$; $H=0.06$, $p=0.9704$).

Es importante indicar que en el punto 1 que corresponde al río Pita, contaminación muy baja, se encontró siempre contenidos de nitratos menores (1,522 mg/l; 1,211 mg/l; 1,126 mg/l), y en el punto 5, río Machangara, contaminación muy alta, se presentaron los valores más alto, sobre 2,81 mg/l.

- **Amonio:**

De la misma forma que en nitritos y nitratos, el contenido de amonio en la cuenca mostró diferencias significativas entre puntos de muestreo, en tanto que entre fechas los valores son similares, como lo muestra el análisis de varianza

(Kruskal-Wallis ANOVA: $H= 11.11$, $p= 0.0249$; $H= 1.55$, $p= 0.4606$). El contenido promedio de la cuenca fue de 1,385 mg/l. No existe una relación directa entre contaminación y contenido de amonio. En los puntos con contaminación muy baja (P1) y baja (P2) los valores están alrededor de 0,25 mg/l, frente al 1,51 mg/l del punto con contaminación muy alta (P5), que fue superado por el (P3) contaminación media con un valor de 3,5 mg/l.

- **Fosfatos:**

Los fosfatos en el punto con muy baja contaminación se encuentran entre el 0,74 y 0,99 mg/l, seguido por la zona de contaminación baja con un promedio de 1.47 mg/l. El contenido promedio de fosfatos más alto de la cuenca está en el sitio con contaminación media (P3) 13.00 mg/l. El análisis de varianza señala que existen diferencias significativas entre puntos de muestreo, pero no entre meses (Kruskal-Wallis ANOVA: $H= 11.13$, $p= 0.0250$; $H= 1.22$, $p= 0.5428$).

- **Cloruros:**

El contenido de cloruros dentro de la cuenca muestra valores estadísticamente diferentes entre puntos de muestreo (Kruskal-Wallis ANOVA: $H= 13.36$, $p= 0.0095$). En el punto 1 los valores están por debajo de 1mg/l; seguido por (P2) con un contenido promedio de 7,7mg/l; en tanto que para los puntos 3, 4 y 5 los valores superan los 32 mg/l, llegando a un máximo de 44,70 mg/l en (P3), sitio de contaminación media, durante el mes de abril.

- **Sulfatos:**

El contenido de sulfatos dentro de la cuenca muestra valores diferentes en los puntos de muestreo, mientras que entre meses los valores son similares como lo señala el análisis de varianza (Kruskal-Wallis ANOVA: $H= 9.81$, $p= 0.0431$; $H= 0.46$, $p= 0.7919$). Los valores promedios más altos se presentaron en los puntos 1 y 2 (24,31 mg/l), sitios con contaminación muy baja y baja; en (P3) se encontró

el contenido de sulfatos más bajo de la cuenca (16,79 mg/l), que corresponde al sitio con contaminación media.

- **Aceites y Grasas:**

El contenido promedio de aceites y grasas en la cuenca fue de 0,022 mg/l. Los mismos que no muestran diferencias significativas ni entre sitios de muestreo ni entre meses, como lo señala el análisis de varianza (Kruskal-Wallis ANOVA: $H= 8.11$, $p= 0.0872$; $H= 0.38$, $p= 0.826$).

- **Alcalinidad:**

La alcalinidad media de la cuenca fue de 58,16 mg/l, con un máximo de 74.49 mg/l, en el punto con contaminación media; y un mínimo de 27.93 mg/l en el sitio de contaminación baja. Los valores en los distintos sitios de muestreo no son similares, en tanto que entre meses no muestran diferencia, como lo señala el análisis de varianza (Kruskal-Wallis ANOVA: $H= 10.77$, $p= 0.0237$; $H= 1.73$, $p= 0.6807$).

4.2. Respuestas biológicas en semillas de *Lactuca sativa*

4.2.1 Índices de toxicidad

Tabla 7.

Valores mensuales del GRS (Porcentaje de germinación relativa), CRR (crecimiento relativo de la radícula), IG (índice de germinación); IGN (Índice de germinación normalizado) e IER (Índice de elongación radicular normalizado)

<u>MESES</u>	<u>TRATAMIENTOS</u>	<u>GRS</u>	<u>CRR</u>	<u>IG</u>	<u>IGN</u>	<u>IER</u>
1	2	112.8	95.7	107.9	0.13	0.0
1	3	110.6	83.3	92.2	0.11	-0.2
1	4	102.1	77.1	78.8	0.02	-0.2
1	5	93.6	71.9	67.3 *	-0.06*	-0.3*
2	2	95.2	104.6	99.6	-0.05	0.05
2	3	95.2	95.9	91.3	-0.05	-0.04
2	4	83.3	92.8	77.4	-0.17	-0.07
2	5	78.6	83.6	65.7*	-0.21*	-0.16*
3	2	102.6	88.1	90.4	0.03	-0.12
3	3	102.6	83.6	85.7	0.03	-0.16
3	4	105.1	90.0	94.6	0.05	-0.10
3	5	82.1	97.3	79.8*	-0.18*	-0.03

La GRS no fue igual en los meses de estudio, presentó una variación de 88,8 en abril y de 104,7 en mayo; el CRR fue igual en los tres meses de investigación, de la misma manera que el IG índice de germinación. Respecto a la toxicidad, se encontró diferencias entre meses para el índice de germinación normalizado (IGN), en abril y mayo se mostró una baja toxicidad, y para marzo no se vieron efectos tóxicos. En tanto que el (IER) índice de elongación radicular normalizado, fue igual en los tres meses, mostrando baja toxicidad en relación al crecimiento radicular.

En los tratamientos 5 existen valores bajos de parámetros como la conductividad (435,8 mg/l), impidiendo el crecimiento radicular por la ausencia de sales como calcio, amonio también la alcalinidad que tiene un valor (74,49 mg/CaCO₃), donde se produce un pH alto, por lo que no hay disponibilidad de nutrientes, especialmente de hierro.

Tabla 8.

Valores promedio para los meses de estudio del GRS (Porcentaje de germinación relativa), CRR (crecimiento relativo de la radícula), IG (índice de germinación); IGN (Índice de germinación normalizado) e IER (Índice de elongación radicular normalizado)

<u>TRATAMIENTO</u>	<u>GRS</u>	<u>CRR</u>	<u>IG</u>	<u>IGN</u>	<u>IER</u>
5	84.8	84.3	70.9	-0.15	-0.16
4	96.8	86.6	83.6	-0.03	-0.12
3	102.8	87.6	89.7	0.03	-0.13
2	103.5	96.1	99.3	0.04	-0.02

El IG representa el producto de la germinación relativa de semillas (GRS) por el crecimiento de la radícula (CRR). Los resultados muestran que los sitios 2, 3 y 4 tienen IG mayores a 83; en tanto que para el sitio 5 fue de 70,9.

El GRS indica el porcentaje de semillas germinadas con el agua problema (T2, T3, T4 y T5) con respecto a las germinadas en el testigo (T1). Los tratamientos 2, 3 presentaron valores promedio de GRS mayores a 100, para T4 (agua contaminada) fue 96,8 y para T5 (agua muy contaminada) fue de 84,8.

CRR presenta el porcentaje de crecimiento radicular de las semillas expuestas al agua problema (T2, T3, T4 y T5) respecto a las del lote testigo (T1). Los sitios 3, 4 y 5 tuvieron valores similares, 87,6; 86,6 y 84,3. Para el sitio 2 (agua buena) fue apenas superior, 96,1.

Los valores de IGN señalan una toxicidad baja para los sitios 4 y 5 (-0,03 y -0,15); y no muestran toxicidad para los sitios 2 y 3 (0,03 y 0,04).

Los resultados del índice de elongación radical (IER) para los cuatro tratamientos (sitios de muestreo) indican baja toxicidad, con valores de -0.02 hasta -0,16.

4.2.2 Respuesta germinativa de *Lactuca sativa*

- **GRS (Porcentaje de germinación relativa)**

Tabla 9.

Anova del porcentaje de germinación

Variable	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	Razón f	P-valor
Modelo	1243,28	5	248,66	13,33	0,0034
meses	565,26	2	282,63	15,15	0,0045
tratamiento	678,02	3	226,01	12,11	0,0059
Error	111,96	6	18,66		
Total	1355,24	11			

La germinación relativa de semillas presentó variaciones entre meses y puntos de muestreo (tratamientos) con un p valor de 0,0045 y 0,0059 respectivamente. La mayor germinación relativa acumulada se dio en marzo (104,78), en tanto que para los sitios 2 y 3 la GRS fue mayor que en el testigo y menor para los sitios 4 (96,83) y 5 (84,77).

- **CRR (crecimiento relativo de la radícula)**

Tabla 10.

Anova del crecimiento radicular

Variable	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	Razón f	P-valor
Modelo	547,20	5	109,44	1,65	0,2780
meses	306,05	2	153,03	2,31	0,1802
tratamiento	241,15	3	80,38	1,21	0,3826
Error	397,23	6	66,20		
Total	944,43	11			

El crecimiento relativo de semillas no presentó variaciones entre meses ni puntos de muestreo (tratamientos) con un p valor de 0,1803 y 0,3826 respectivamente. Según (Rodríguez Romero , et al., 2014) las altas concentraciones de nutrientes en el agua promueven el crecimiento de la radícula.

- **IG (Índice de Germinación)**

Tabla 11.

Anova del índice de germinación

Variable	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	Razón f	P-valor
Modelo	1307,27	5	261,45	3,54	0,0777
meses	36,63	2	18,32	0,25	0,7880
tratamiento	1270,64	3	423,55	5,73	0,0339
Error	443,12	6	73,85		
Total	1750,39	11			

Tabla 12.

Análisis Tukey del índice de germinación por tratamiento

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
5	70,93	3	4,96	A	
4	83,60	3	4,96	A	B
3	89,73	3	4,96	A	B
2	99,30	3	4,96		B

El índice de germinación presentó diferencias significativas entre tratamientos, con un p valor de 0,0339; la prueba de Tukey señaló que el mejor IG fue para el sitio 2 (baja contaminación) 99,30 y el peor (70,93) para el sitio 5 (contaminación muy alta). No se presenta variaciones significativas entre meses con un p valor de 0,7880.

- **Tamaño de Epicotílo**

Tabla 13.

Anova del tamaño de epicotílo

Variable	Suma de gl		Media	Razón f	P-valor
	cuadrados		cuadrática		
Modelo	24,93	6	4,16	3,50	0,0039
meses	3,58	2	1,79	1,51	0,2274
tratamiento	21,35	4	5,34	4,49	0,0025
Error	98,65	83	1,19		
Total	123,58	89			

Tabla 14.

Análisis Tukey del tamaño de epicotilo

Tratamiento	Medias	N	E.E.		
5	2,69	18	0,26	A	
3	3,11	18	0,26	A	B
1	3,41	18	0,26	A	B
2	3,94	18	0,26		B
4	3,95	18	0,26		B

Respecto al tamaño del epicotílo no se mostraron diferencias significativas entre meses de muestreo, pero si entre tratamientos (puntos de muestreo), con una significancia de 0.0025, el menor desarrollo (2.69mm) se dio en el tratamiento 5 y el mayor en los tratamientos 2 y 4 con 3.94 mm y 3.95 mm respectivamente.

4.3 Respuesta de *Lactuca sativa* en plántulas

Tabla 15.

Anova del tamaño de plántulas

Variable	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	Razón f	P-valor
Modelo	74,33	4	18,58	6,18	0,0002
Tratamiento	74,33	4	18,58	6,18	0,0002
Error	225,56	75	3,01		
Total	299,89	79			

Tabla 16.

Análisis Tukey del tamaño plántulas

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
5	0,79	16	0,19	A	
3	1,10	16	0,19	A	B
4	1,60	16	0,19	B	
2	1,75	16	0,19	B	C
1	2,39	16	0,19		C

Tabla 17.

Anova del tamaño de raíces

Variable	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	Razón f	P-valor
Modelo	24,40	4	6,10	10,51	<0,0001
Tratamiento	24,40	44	6,10	10,51	<0,0001
Error	43,54	75	0,58		
Total	67,93	79			

Tabla 18.

Análisis Tukey del tamaño de raíces

Tratamiento	Medias	n	E.E.
-------------	--------	---	------

4	9,00	16	0,4	A	
5	9,38	16	0,43	A	B
3	10,94	16	0,43		B C
2	10,94	16	0,43		B C
1	11,44	16	0,43		C

La supervivencia de plántulas de lechuga se vio influenciada por el tipo de agua (tratamiento) con el que fueron regadas. Los tratamientos 1 y 2, (con muy baja y baja contaminación) presentaron una supervivencia del 100%. Los tratamientos 3 y 4 presentaron valores intermedios y finalmente el tratamiento 5 (muy alta contaminación) tuvo una supervivencia del 56.25%.

La respuesta de plántulas de *Lactuca sativa* frente a la contaminación de agua muestra diferencias significativas, menos de 0.0001, respecto al desarrollo aéreo y de 0.0002 en relación al tamaño radicular. El menor crecimiento (0.79 cm) de la parte aérea se presentó en el tratamiento 5, (zona con muy alta contaminación) frente a 2,39cm de crecimiento en el tratamiento 1 (zona con muy baja contaminación). El tamaño radicular fue menor en los tratamientos 4 y 5, con 9 cm y 9.38 cm respectivamente, lo que contrastó con los 11.44 cm del tratamiento 2.

4.4 Correlación de PEARSON de parámetros físico- químico con las semillas de *Lactuca sativa*

Tabla 19.

Correlaciones fisicoquímico y biológicas

	GRS	CRR	IG
pH	0.25	0.96	0.42
CONDUCTIVIDAD (mS/cm)	0.48	0.98	0.55
OD(mg/l)	0.33	0.75	0.65
TURBIDEZ (NTU)	0.95	0.97	0.98
NITRITOS (mg/l)	0.52	0.13	0.1
NITRATOS (mg/l)	0.6	0.53	0.42
AMONIO(mg/l)	0.65	0.15	0.52
FOSFATOS (mg/l)	0.31	0.29	0.1
CLORUROS (mg/l)	0.19	0.11	0.02
SULFATOS (mg/l)	0.72	0.17	0.53
ACEITES Y GRASAS (mg)	0.6	0.8	0.85

En la tabla 15 se puede observar las correlaciones entre parámetros fisicoquímicos del agua con las variables biológicas, el crecimiento relativo de la radícula (CRR) se relaciona positivamente con el pH, debido a que tiene la capacidad de absorción y solubilidad de varios nutrientes tales como (nitrógeno, fósforo, zinc, calcio), con la conductividad por la cantidad de sales presentes, oxígeno disuelto por la presencia de microorganismos, y la turbidez la presencia de sólidos totales suspendidos, cerrando los poros de las raíces de la semilla.

El otro factor de aceites y grasas en el IG no facilitan el desarrollo de la germinación de las semillas por las sustancias presentes en el agua impidiendo que se desarrollen.

Tanto el pH con la conductividad se ven relacionados por la presencia de nutrientes que ayudan al desarrollo de la plántula en el IER que es el grado de toxicidad.

La turbidez en los parámetros biológicos GRS, IG, IGN e IER por la presencia de sólidos totales suspendidos, impidiendo el total desarrollo de las semillas como de las plántulas.

4.5 Correlación de PEARSON de parámetros físico-químico con plántulas de *Lactuca sativa*

Tabla 20.

Correlaciones fisico-químicas con plántulas

	Tamaño plántulas	# hojas final
pH	0.92	0.99
CONDUCTIVIDAD ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	0.93	0.5
TEMPERATURA ($^{\circ}\text{C}$)	0.95	0.44
OD(mg/l)	0.89	0.67
COLOR (UPC)	0.46	0.9
TURBIDEZ (NTU)	0.79	0.49
NITRITOS (mg/l)	0.58	0.13
NITRATOS (mg/l)	0.69	0.71
AMONIO(mg/l)	0.83	0.33
FOSFATOS (mg/l)	0.78	0.62
CLORUROS (mg/l)	0.85	0.32
SULFATOS (mg/l)	0.94	0.5
ACEITES Y GRASAS (mg/l)	0.68	0.91
ALCALINIDAD (mg/ CaCO_3)	0.83	0.49
Tamaño plántulas	1	0.19
Número hojas final	0.7	1

En esta tabla podemos observar las correlaciones realizadas con los parámetros físico-químico, número y tamaño de hojas, si el valor es cercano a 1 (100%) existe mayor relación, en la variable *número de hojas* existe relación con los nitratos, razón por la cual afectan al desarrollo foliar de la hojas, (presencia de nitrógeno produce clorosis y no existe captación de rayos de solares ocasionando problemas en las hojas y los aceites y grasas impiden el crecimiento por el contenido de materia orgánica.

En el caso del tamaño de plántulas existe relación de conductividad con los cloruros, los compuestos de cloruros son considerados bioacumuladores, afectando al desarrollo de la planta, en este caso tenemos valores de criterio por lo que no tienden a bioacumularse y afectar al crecimiento. También el pH se relaciona con el oxígeno disuelto ya que estos permiten la absorción de nutrientes a la planta y el OD por la presencia de microorganismos que afectan al desarrollo de la planta. También la cantidad de sulfatos, fosfatos y amonio se relaciona ya que estos ayudan a la planta a la infiltración del agua y absorción de nutrientes.

5. CAPÍTULO V. DISCUSIONES

En los puntos analizados se encontraron diferencias de carácter físico-químico, se dieron en el incremento de la turbidez, conductividad, nitritos, nitratos, fosfatos, sulfatos. (Anexo 1). Esto ocurre por el exceso de materia orgánica, por la descargas directas a los ríos También existe la disminución de oxígeno presente en el agua, en los ríos. La acumulación de nitritos y nitratos producen la eutrofización y restringen el porcentaje de oxígeno disponible (Ladrena, 2012).

El porcentaje de germinación de las semillas de los diferentes tratamientos y meses varió. En el mes de marzo existió mayor porcentaje de germinación con un 81.33% y en el mes de abril existió un 63.33%. Las semillas del tratamiento 5 presentaron cambios, por la presencia de cloruros, con 35 mg/l, provocando estrés en la germinación como lo menciona (Ibrahim & Kazam, 2008). También el nivel de amonio en el agua 3.12 mg/l, impide el proceso de germinación razón por la cual (Wong, Cheung , & Cheung, 1983) mencionan que altas concentraciones de nitrógeno amoniacal presentan efectos fitotóxicos sobre la germinación de las semillas por lo que no pueden asimilar los nutrientes presentes en el agua.

El CRR representa el porcentaje de crecimiento de la radícula expuestas a las aguas de los diferentes puntos de muestreo. A pesar de que no se detectaron diferencias significativas, entre meses y tratamientos, los valores de CRR de los tratamientos 2, 3 4, y 5 en los distintos meses no mostraron diferencias en el desarrollo de la radícula, según (Rodríguez Romero , et al., 2014) las altas concentraciones de nutrientes en el agua promueven el crecimiento de la radícula.

La longitud del epicotilo no mostro diferencias significativas entre los meses de marzo, abril y mayo, pero si entre tratamientos, con un valor p 0.0025, con menor desarrollo (2.69 mm) en el tratamiento 5 y mayor crecimiento en los tratamientos 2 y 4 con 3.94 y 3.95. Según (Rodríguez Romero, et al., 2014) existe variación de longitud del epicotilo porque en el agua de estudio existe presencia de cloruros, especialmente en el tratamiento 5 con un valor de 36 mg/l, en los tres meses, ocasionado la inhibición de epicotilo, por lo que tanto la radícula como el epicotilo son considerados como indicadores sensibles a efectos fitotóxicos.

Constituye un indicador de la interacción de los factores que promueven o inhiben la germinación, con los que favorecen o impiden el crecimiento de la radícula (Rodríguez Romero, et al., 2014). Los resultados obtenidos muestran que en el mes de marzo tratamiento 5 (agua muy contaminada) presento el IG más bajo 67.3%, a diferencia de los otros tratamientos obtuvieron valores superiores al 70% (T2, T3 T4.) Según (Muñoz, Hernández , Álvarez, Mata, & Pérez, 2015) los bioensayos con lechuga (indicador sensible), clasifican de la siguiente manera el criterio de datos en cuanto a fitotoxicidad: valores menores del 50% la fitotoxicidad es alta, si se encuentra en un rango que va de 50 a 80%, la fitotoxicidad es moderada y finalmente si su valor sobrepasa el 80% no existe toxicidad.

En nuestro caso el porcentaje es del 70% (promedio realizado en los tratamientos 5), por lo que es considerada una toxicidad moderada

De acuerdo con los resultados obtenidos en los diferentes meses y los tratamientos (T2, T3, T4, T5), demostraron tener un efecto en el crecimiento de

la radícula, razón por la cual el efecto de toxicidad es baja. Se deduce de acuerdo a la clasificación de toxicidad establecida por el IGN, se instituye que los valores entre 0 a -0,25 son considerados baja toxicidad, de -0,5 a -0,75 muy toxico, -0,75 a -1 toxicidad muy alta y mayores a 0 crecimiento radicular según (Rodríguez Romero , et al., 2014).

Los valores obtenidos del IER muestran que en el mes de marzo y abril en los tratamientos presentan valores (0.0 a 0.05), valores positivos, indican una respuesta estimulante del crecimiento de la radícula según (Bagur - González, Estepa-Molina , Martín-Peinado, & Morales-Ruano, 2010).

Por otro lado, en el mes de marzo y abril tratamientos (3, 4 y 5), presentan valores (-0.0 a -0.16), donde estos tratamientos presentan toxicidad baja según (Bagur - González, Estepa-Molina , Martín-Peinado, & Morales-Ruano, 2010). En general puede inferirse que los meses donde presentaron valores de IER positivos son por la presencia concentraciones de nutrientes en el agua utilizada.

Los valores de toxicidad de ambos índices (IGN e IER) son muy similares en meses y tratamientos (baja). En los tratamientos 5 de los 3 meses presento valores altos de nitritos (0.538 mg/l) el mismo que produce fitotoxicidad en la germinación y desarrollo de *Lactuca sativa*.

Una vez que las semillas con mayor resistencia (T2 T3 Y T4) de los 3 meses a los efectos tóxicos de amonio con un valor (0.24 mg/l), se llevó a cabo el proceso de germinación, se inició entonces el desarrollo tanto del epicotilo como de la radícula.

Todo esto se determinó por la clasificación de toxicidad establecida por ambos índices (IGN e IER), se implanta que los valores entre 0 a -0,25 son considerados baja toxicidad, de -0,5 a -0,75 muy toxico, -0,75 a -1 toxicidad muy alta y mayores a 0 crecimiento radicular (Rodríguez Romero , et al., 2014).

6. CONCLUSIONES

Se puede concluir que el agua de la Cuenca del río Guayllabamba presenta una toxicidad baja para *Lactuca sativa*.

Existe una relación directa entre contaminación y contenidos de nitratos y nitritos, a mayor contaminación mayor contenido de estos compuestos.

Los sulfatos presentan los valores más altos en los puntos con menor contaminación y el mínimo en el sitio con contaminación media.

El porcentaje de germinación de *Lactuca sativa* sí se ve afectado por la contaminación del agua de la cuenca del Guayllabamba, a mayor grado de contaminación menor porcentaje de germinación.

El crecimiento radicular no se ve afectado por el grado de contaminación.

La supervivencia de plantas de lechuga presenta una relación inversa a la contaminación del agua, a mayor contaminación menor supervivencia.

En el desarrollo de plantas de lechuga si hay una respuesta negativa frente a la contaminación del agua, a mayor contaminación, menor desarrollo de la parte aérea y subterránea.

REFERENCIAS

- Acosta, R., Ríos, B., Rieradevall, M., & Prat, N. (2009). *Propuesta de un protocolo de evaluación de la calidad ecológica de ríos andinos (CERA) y su aplicación a dos cuencas en Ecuador y Perú*. Recuperado el 30 de mayo de 2018, de <http://www.limnetica.com/documentos/limnetica/limnetica-28-1-p-35.pdf>
- Bagur - González, M., Estepa-Molina, C., Martín-Peinado, F., & Morales-Ruano, S. (2010). Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal(loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site. *Springer-Verlag 2010*.
- Banco Mundial*. (2016). Recuperado el 30 de mayo de 2018, de <https://datos.bancomundial.org>
- BAUDO, R. (1987). *Ecotoxicological testing with Daphnia*. Recuperado de <https://www.mendoza-conicet.gob.ar/portal/enciclopedia/terminos/Ensayosde.htm>
- Bennet, E., Carpenter, S., & Caraco, N. (2001). Human Impact on Erodeable Phosphorus and Eutrophication: A Global Perspective: Increasing accumulation of phosphorus in soil threatens rivers, lakes, and coastal oceans with eutrophication. doi:[https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0227:HIOEPA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0227:HIOEPA]2.0.CO;2)
- Bohórquez Echeverry, P., & Campos Pinilla, C. (2007). *ASSESSMENT OF Lactuca sativa AND Selenastrum capricornutum LIKE INDICATORS OF WATER TOXICITY*. Recuperado de <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/4868/3748>
- Castillo Morales, G. (2004). *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas*. México.
- CEDEX. (2014). *Introducción a la vegetación de ribera*. Recuperado el 30 de mayo de 2018, de: <http://vegetacionderibera.cedex.es/intro.php>
- Chisaguano, I. C. (2015). *Evaluación Ambiental del Río Machangara*.

- DE BIEVRE Bert, C. X. (2008). Caracterización de la Oferta Hídrica, Proyecto Manejo Integrado de los Recursos Hídricos en la Hoya de Quito. Quito.
- Elliott, M. (2003). Biological pollutants and biological pollution--an increasing cause for concern.
- Escobar, J. (2002). *La contaminación de los ríos y sus efectos en las áreas costeras y mar*. Recuperado el 30 de mayo de 2018, de: https://www.pseau.org/outils/ouvrages/cepal_la_contaminacion_de_los_rios_y_sus_efectos_en_las_areas_costeras_y_el_mar_2002.pdf
- FAO. (2001). *Bioensayos para la seleccion de microorganismos*.
- Faraway J. (2002). *Practical regression and ANOVA using R*. Chapter 6. Pág 168.
- FICHTNER. (2009). Estudios de factibilidad de diseños definitivos del Plan de Descontaminación de los ríos de Quito.
- FONAG. (2009). *PLAN DE MANEJO INTEGRADO DE LOS RECURSOS HÍDRICOS EN LA CUENCA ALTA DEL RÍO GUAYLLABAMBA*. Recuperado el 17 de 06 de 2018, de file:///C:/Users/alex_/Downloads/files_Plan%20Integral%20de%20RH%20FONAG.pdf
- Friberg, N. (2014). Impacts and indicators of change in lotic ecosystems. *Wires Water*. doi:<https://doi.org/10.1002/wat2.1040>.
- Gómez, A., Espínola, J., Escarcena, J., & Tagliani, J. (2001). *Evaluación participativa de la calidad de agua en Montevideo Rural*. Recuperado el 30 de mayo de 2018, de http://www.montevideo.gub.uy/sites/default/files/rural_agua_01.pdf
- González , M., & García, D. (2007). Restauración de los ríos. Guía metodológica para la elaboración de proyectos. Recuperado el 30 de mayo de 2018, de http://www.mapama.gob.es/es/agua/formacion/26_Guia_Metodologica_tcm7-29019.pdf
- González , M., & García, D. (2007). *Restauración de ríos. Guía metodológica para la elaboración de proyectos*.

- Health Association, A. (1992). *APHA Method 2120: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*.
- Hernández Pulido, S., Carvajal Pérez, J., & Lanza Espino, G. (2000). *Organismos Indicadores de la Calidad del Agua y de la Contaminación*.
- Jinhyun J., Banfelder J., Skrabanek L. (2017). *Quantitative Understanding in Biology Principal Component Analysis*. The Rockefeller University. Pág 2-3.
- Ibáñez, G. (2012). Elaboración de un plan de manejo ambiental para la conservación de la sub cuenca del río San Pablo en el Cantón La Maná, Provincia de Cotopaxi. Latacunga, Ecuador.
- Ibrahim, D., & Kazam, M. (2008). Effect of Salt and Osmotic Stresses on the Germination of Pepper Seeds of Different Maturation Stages.
- Jacobsen, D., & Encalada, A. (1998). *The macroinvertebrate fauna of Ecuadorian highland streams in the wet and dry season*. Recuperado el 05 de mayo de 2018, de https://www.researchgate.net/publication/261855852_The_macroinvertebrate_fauna_of_Ecuadorian_h
- Kiely, G. (2000). Ingeniería Ambiental: Fundamentos, entornos, tecnologías y sistemas de gestión. España, Madrid.
- Ladrena, R. (2012). Los macroinvertebrados acuáticos como indicadores del estado ecológico de los ríos.
- Leppäkoski, E. (1977). Monitoring the Benthic Environment of Organically Polluted River Mouths. *Turku*.
- Loné Pérez, P. (2016). *Indicadores Ambientales*. Recuperado de <http://www.comunidadism.es/blogs/%C2%BFque-es-un-indicador-ambiental>
- Mackenzie, D., & Cornwell, D. (2012). *Introduction to Environmental Engineering (The McGraw-hill Series in Civil and Environmental Engineering) 5th Edition*.
- MAE. (2012). *Estudio de vulnerabilidad y adaptación al cambio climático del sistema de agua potable Pita-Puengasi y sus cuencas abastecedoras*. Recuperado el 06 de mayo de 2018, de

<http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/07/Plan-de-Manejo-Adaptativo-SAP-Pita.pdf>

Martinez , V., Dibut , B., & Ríos , Y. (2010). *Effect of integration of agricultural applications of bio-fertilizers and mineral fertilizers on soil-plant relationships*. Recuperado el 05 de mayo de 2018 de, http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000300009&lng=es&tlng=es.v

Montane de la Vega, R. (2012). *ECOLOGIA Y CONSERVACION AMBIENTAL*. México.

Moreno, A., & Renner , I. (2007). *Gestión Integral de Cuencas. La experiencia del Proyecto Regional Cuencas Andinas* . Recuperado el 05 de mayo de 2018, de <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/08/003654.pdf>

Muñoz, E., Hernández , J., Álvarez, L., Mata, R., & Pérez, L. (2015). TOXICIDAD DE FERTILIZANTES ORGÁNICOS ESTIMADA CON BIOENSAYO DE GERMINACIÓN DE LECHUGA.

Oleas , N., Ríos-Touma, B., Peña Altamirano , P., & Bustamante , M. (2016). *Guía práctica de identificación de plantas de rivera*.

Reinbold, J. (13 de Marzo de 2018). *Lentic & Lotic Ecosystems*. Recuperado el 30 de mayo de 2018, de <https://sciencing.com/lentic-lotic-ecosystems-7355077.html>

Reish, D. a. (1987). *Manual of methods in aquatic environment research*. Recuperado el 05 de mayo de 2018, de <http://www.sciepub.com/reference/59160>

Rodríguez Romero , A. J., Robles Salazar, C. A., Ruíz Picos, R. A., López López, E., Sedeño Díaz, J., & Rodríguez Dorantes, A. (2014). *Indíces de Germinacion y Elongación Radical de Lactuca sativa en el biomonitoreo de la calidad del agua del río Chalma*.

Rodríguez Romero, A. J., Robles Salazar , C. A., Ruíz Picos, R. A., López López, E., Sedeño Díaz, J. E., & Rodríguez Dorantes, A. (2014). *Seed*

germination and root elongation test of Lactuca sativa for biomonitoring water quality of the Chalma river. (R. i. ambiental, Ed.) Recuperado el 30 de mayo de 2018, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992014000300007

- SÁNCHEZ VORRALLES, F. (2005). *Estudio en plántulas de lechuga desarrolladas en microtúneles con cubiertas plásticas fotoselectivas.* Recuperado el 30 de mayo de 2018, de <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1340/ESTUDIO%20DE%20PLANTULAS%20DE%20LECHUGA%20DESARROLLADAS%20EN%20MICROTUNELES%20CON%20CUBIERTAS%20PLASTICAS%20FOTOSELECTIVAS.pdf?sequence=1>
- UNESCO. (2017). *Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos (WWAP).* Recuperado el 30 de mayo de 2018, de <http://www.unesco.org/new/es/natural-sciences/environment/water/wwap/facts-and-figures/all-facts-wwdr3/fact-36-industrial-wastewater/>
- Varea, A., Suárez , L., Chávez , G., Cordero , M., Alvarez , N., & Espinosa, F. (1997). Biodiversidad, bioprospección y bioseguridad. Quito, Ecuador.
- Vicéns Otero, J., Herrarte Sánchez, A., & Medina Moral, E. (2005). *ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA).* Recuperado de https://www.uam.es/personal_pdi/economicas/eva/pdf/anova.pdf
- Villamarín, C., Prat, N., & Rieradevall, M. (2014). Caracterización física, química e hidromorfológica de los ríos altoandinos tropicales de Ecuador y Perú. doi:DOI: 10.3856/vol42-issue5-fulltext-12
- Villmarin, C., Prat, N., & Rieradeval, M. (2014). *Caracterización física, química e hidromorfológica de los ríos altoandinos tropicales de Ecuador y Peru.* doi:<https://doi.org/10.3856/vol42-issue5-fulltext-12>
- Wong, M., Cheung , Y., & Cheung, C. (1983). The effects of ammonia and ethylene oxide in animal manure and sewage sludge on the seed germination and root elongation of Brassica parachinensis. *ScienceDirect.*

ANEXOS

Anexo 1. Datos crudos de parámetros físico-químicos en los diferentes meses (marzo, abril, mayo)

Fechas	Puntos	PH	CONDUCTIVIDAD (mS/cm)	OD(mg/l)	TURBIDEZ (NTU)	NITRITOS (mg/l)	NITRATOS (mg/l)	AMONIO(mg/l)	FOSFATOS (mg/l)	CLORUROS (mg/l)	SULFATOS (mg/l)	ACEITES Y GRASAS (mg/l)	ALCALINIDAD (mg/CaCO3)	COLOR (NTU)	OD (%)
1	2	7.86	278.4	7.91	5	0.007	2.847	0.254	1.324	7.835	21.236	0.007	51.213	94	92.6
1	3	7.58	411.5	0.71	14	0.084	2.206	2.977	5.525	32.262	19.203	0.08	74.492	99	41.4
1	4	8.18	428.3	6.45	13	0.321	2.503	3.134	15.989	44.245	21.724	0.01	74.492	3	105.8
1	5	8.14	350.9	7.36	26	0.538	2.909	2.84	7.552	35.027	19.285	0.008	60.525	67	96.2
2	2	8.31	377.5	7.88	15	0.022	2.508	0.246	2.071	7.374	27.659	0.006	55.869	126	90.5
2	3	7.34	400.2	2.92	13	0.097	1.556	4.995	12.295	33.184	15.22	0.045	65.181	99	41.4
2	4	8.12	590	6.14	10	0.332	2.635	0.45	15.808	44.706	25.057	0.009	65.181	38	101.5
2	5	8.17	416.9	7.58	53	0.376	2.923	1.123	7.26	35.488	19.285	0.027	62.387	115	95.5
3	2	7.37	315.9	7.8	220	0.022	2.866	0.246	1.023	7.835	24.976	0.002	65.181	169	91.6
3	3	6.95	500	6.72	9	1.038	2.47	2.684	7.209	33.644	15.951	0.026	74.492	96	10.05
3	4	7.98	632	6.02	76	0.395	2.814	0.576	4.064	35.949	22.537	0.013	65.181	177	101.5
3	5	7.82	493.8	7.64	76	0.395	2.814	0.576	4.064	35.949	22.537	0.013	65.181	169	97.6

Anexo 2. Puntos de muestreo



a)



b)



c)



d)



e)

a) Punto 1 (Testigo)

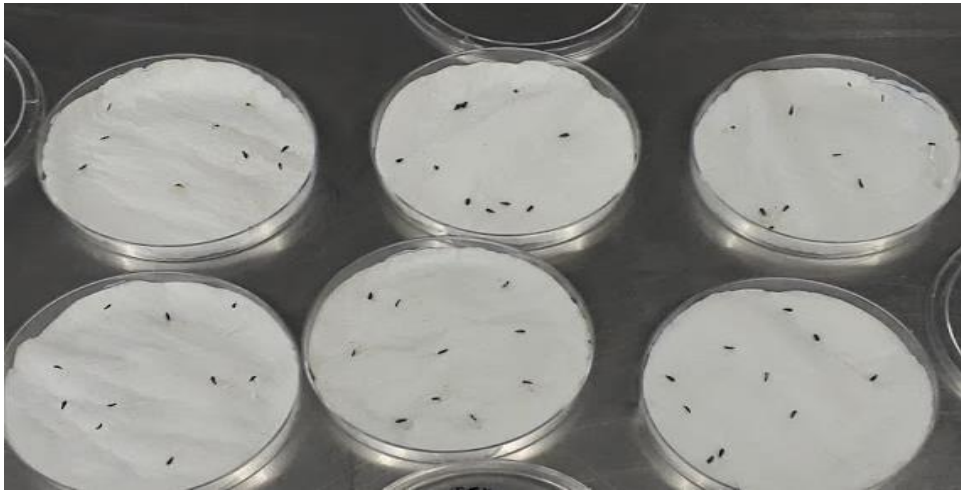
b) Punto 2

c) Punto 3

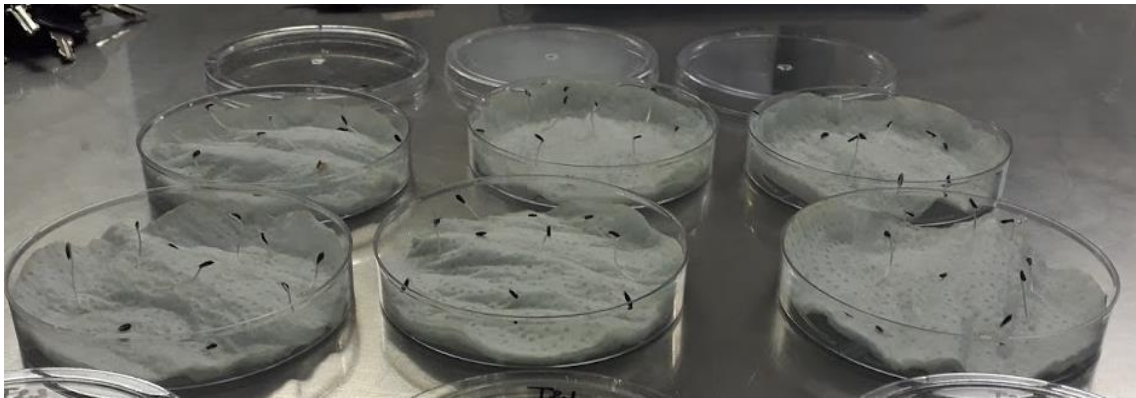
d) Punto 4

e) Punto 5

Anexo 3. Diseño experimental en laboratorio



a)



b)

- a)** Semillas regadas con agua de los diferentes puntos
- b)** Semillas listas para medición (120 horas)

Anexo 4. Desarrollo de plantas de *Lactuca sativa*



a)



b)



c)



d)

- a)** Semana 1
- b)** Semana 2
- c)** Semana 3
- d)** Semana 4

Anexo 5. Diferencias entre tamaño de raíz de *Lactuca sativa*



a)



b)



c)



d)



e)

- a) Tratamiento 1
- b) Tratamiento 2
- c) Tratamiento 3
- d) Tratamiento 4
- e) Tratamiento 5

