



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

EFFECTO DEL INCREMENTO DE NUTRIENTES SOBRE LA COMUNIDAD  
BIOLÓGICA DE RÍOS ALTOANDINOS: RESPUESTA A NIVEL  
DE MICROCOSMOS

Autora

Karol Cecibel Verdesoto Cabal

Año  
2018



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

EFFECTO DEL INCREMENTO DE NUTRIENTES SOBRE LA COMUNIDAD  
BIOLÓGICA DE RÍOS ALTOANDINOS: RESPUESTA A NIVEL DE  
MICROCOSMOS

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

Profesor Guía  
PhD ,Christian Patricio Villamarín Flores

Autora  
Karol Cecibel Verdesoto Cabal

Año  
2018

## **DECLARACIÓN DEL DOCENTE GUÍA**

"Declaro haber dirigido el trabajo, efecto del incremento de nutrientes sobre la comunidad biológica de ríos altoandinos: respuesta a nivel de microcosmos a través de reuniones periódicas con la estudiante Karol Cecibel Verdesoto Cabal, 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".

-----  
**Christian Patricio Villamarín Flores**

**Doctor en Ecología**

**C.I.: 1002339404**

## **DECLARACIÓN DEL DOCENTE CORRECTOR**

"Declaro haber revisado este trabajo, efecto del incremento de nutrientes sobre la comunidad Biológica de ríos altoandinos: respuesta a nivel de Microcosmos a través de reuniones periódicas con el estudiante Karol Cecibel Verdesoto Cabal, en el semestre 2018-2, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

---

**Blanca Ríos Toulma**

**Doctora en Estudios Avanzados en Ecología**

**CI: 1707113765**

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA 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.”

-----  
**Karol Cecibel Verdesoto Cabal**

**C.I.: 1720582418**

## **DEDICATORIA**

A mis padres, porque son una bendición en mi vida y ejemplo de esfuerzo y sacrificio para sus hijas.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Villamarín y la Dra. Ríos por su paciencia , entrega y profesionalismo que demuestran a diario.

A mis amigos del laboratorio de Ingeniería Ambiental: Mishell, Nicol, Juan , Gaby, Conti, Geno y Sori .

A Nathalie y el resto de la familia Verdesoto Cabal por el apoyo.

A Maní, Saskya y Nalú por alegrar mi vida con su ternura.

## RESUMEN

Desde un punto de vista general, la eutrofización es la respuesta del ecosistema al incremento de un factor que limita el crecimiento organismos fotosintéticos (algas, plantas) en el agua, este factor normalmente es un nutriente. En Ecuador son pocos los estudios que se enfocan en los efectos del incremento de los nutrientes en los ríos alto andinos. Por esta razón, nuestro objetivo es analizar la respuesta de la productores primarios (perifiton) y macroinvertebrados (*Nectopsyche* sp) al incremento de nitratos a diferentes concentraciones. Este experimento fue diseñado a escala de microcosmos, utilizando como tratamientos los valores presentes en la cuenca del Río Guayllabamba, Ecuador. Adicionalmente, se incluyó el valor límite de la Normativa ecuatoriana (TULSMA). Los microcosmos incluyen un proceso de colonización del perifiton de aproximadamente 5 días antes de la adición de *Nectopsyche*. Los resultados en general, demostraron una mejor proliferación de perifiton en la concentración de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ . A nivel de las variables letales (tasa de mortalidad) y subletales (peso del individuo, ancho de la cabeza) medidas en los macroinvertebrados se encontró que los tratamientos de más concentración de nitratos ( $2.7$  y  $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) tendrían efectos positivos en el desarrollo de la población de *Nectopsyche*.

## ABSTRACT

From a general point of view, eutrophication is the response of the ecosystem to the increase of a factor that limits the growth of photosynthetic organisms (algae, plants) in water, this factor is normally a nutrient. In Ecuador there are few studies that focus on the effects of increased nutrients in high Andean rivers. For this reason, our objective is to analyze the response of the primary producers (periphyton) and macroinvertebrates (*Nectopsyche* sp) to the increase of nitrates at different concentrations. This experiment was designed on a microcosm scale, using as treatments the values present in the basin of the Guayllabamba River, Ecuador. Additionally, the limit value of the Ecuadorian Regulation (TULSMA) was included. The microcosms include a process of colonization of algae of approximately 5 days in each concentration before the addition of *Nectopsyche*. The results, in general, showed a better proliferation of periphyton in the concentration of 10 mg L<sup>-1</sup>. At the level of the lethal variables (mortality rate) and sublethal variables (weight of the individual, width of the head) measured in the macroinvertebrates, it was found that the treatments with the highest concentration of nitrates (2.7 and 10 mg L<sup>-1</sup>) would have positive effects on the population development of *Nectopsyche*.

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 Justificación .....	3
1.3 Alcance .....	4
1.4 Objetivos:.....	4
1.5 Hipótesis .....	4
1.5.1 Hipótesis alternativa .....	4
1.5.2 Hipótesis Nula .....	5
2. MARCO TEÓRICO .....	5
2.1 Nitrógeno .....	5
2.2 Nitratos.....	6
2.3 Crecimiento de la biomasa de perifiton.....	7
2.4 Eutrofización .....	9
2.5 Métodos de experimentación con comunidades acuáticas .....	10
3. METODOLOGÍA .....	12
3.1 Diseño de la experimentación.....	13
3.2 Infraestructura para la experimentación .....	13
3.3 Área de muestreo .....	15
3.4 Adaptación y colonización del perifiton .....	16
3.5 Recolección de Nectopsyche sp .....	16
3.6 Análisis fisico-químicos y de biomasa.....	18
3.6.2 Medición de nitratos .....	18
3.6.2 Medición de turbidez y color .....	18
3.6.3 Obtención clorofila $\alpha$ .....	18
3.7 Variables de medición subletal .....	20
3.7.1 Peso de los individuos .....	21
3.7.2 Tamaño de la cabeza .....	21
3.7.3 Tasa de mortalidad.....	21
3.7.4 Análisis de datos .....	22
4. RESULTADOS .....	22
4.1 Variables fisico-químicas y de biomasa.....	22
4.1.1 Nitratos .....	23
4.1.2 Turbidez .....	23
4.1.3 Color .....	24
4.1.4 Análisis de la clorofila $\alpha$ .....	25

4.2 Variables de medición subletal .....	28
4.2.1 Mortalidad.....	28
4.2.2 Peso . .....	28
4.2.3 Ancho de la cabeza .....	29
4.2.4 Individuos que empupan .....	30
5.DISCUSIÓN .....	30
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	33
6.1 Conclusiones .....	33
6.1 Recomendaciones.....	33
REFERENCIAS .....	35
ANEXOS.....	44

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Antecedentes:

La calidad del agua en ríos o lagos tiende a cambiar cuando las cuencas hidrográficas se modifican por alteraciones en la vegetación, balance de los sedimentos y nutrientes producidos por actividades como la industrialización o la transformación de bosques primarios y pastizales a granjas y ciudades (Aber et al. 1989, Borman y Likens 1979, White et al.1981). La cuantificación de relación entre la entrada de nutrientes y la calidad del agua es clave para entender las consecuencias que generan los cambios de uso de suelo a lo largo de la cuenca sobre el ecosistema acuático, así como las posibilidades de prevención o toma de acciones correctivas (Turner y Rabalais, 1991).

Estudios realizados en la cuenca del río Suwannee,, ubicado en la costa este de los Estados Unidos, señalan a la agricultura como causante directo del incremento de nutrientes en el agua (Katz, Hornsby et al. 1999). Se registró que la entrada de nitrato de fuentes no puntuales alcanzó su punto máximo a fines de la década de 1970, lo que corresponde al uso máximo en fertilizantes durante ese tiempo (Hornsby, Bohlke, y Mokray, 1999). El estudio determinó que en desde 1955 a 1997 la concentración de nitratos en el agua del río Suwannee aumentó significativamente de 0.1 (mg / L) a > 5 (mg / L) (Hornsby y Ceryak, 1999; Katz, 1992; Maddox et al. 1992).

El primer estudio que relaciona el consumo de N-nitratos en el agua con una enfermedad que afecta a infantes data de 1945 (Winton, E., Tardiff, R., y McCabe, L. 1971). Una alta concentración de nitrato disuelto en el agua de consumo conduce a la producción de nitrosamina, que está relacionado con el cáncer y aumenta los riesgos de enfermedades como la metahemoglobinemia en recién nacidos (Bouwer, 1989). La hemoglobina que contiene hierro en forma férrica se denomina metahemoglobina, y se caracteriza porque impide el

transporte de oxígeno a los tejidos. Por tanto, concentraciones altas de metahemoglobina pueden producir hipoxia tisular (Alcaraz et al. 1999, Ward et al. 2005). La OMS (2006) ha determinado que a partir de los 50 mg/L de  $\text{NO}_3$  disueltos en agua de consumo representa un riesgo para la salud. Otro efecto ocurre a nivel ecosistémico referente a las altas concentración de nutrientes, especialmente fosfatos y nitratos, promueven el crecimiento excesivo de algas (Hecky y Kilham, 1988, Smith et al.1999). A medida que las algas mueren y se descomponen lo que genera altos niveles de materia orgánica lo que provoca la reducción del oxígeno disponible, causando alteraciones en el ecosistemas que van desde la reducción de biodiversidad a pérdidas de los servicios ecosistémicos (Bronmark y Weisner, 1992, Feuchtmayr et al. 2009).

Estudios fisicoquímicos independientes realizados en ríos andinos en los últimos años nos dan una perspectiva del estado actual de nuestro ríos. Durante la caracterización fisicoquímica e hidromorfológica de los ríos altoandinos de Ecuador y Perú realizado por Villamarín (2014) se determinó que en los 123 puntos de muestreo, distribuidos entre ambos países, la concentración de nitratos osciló entre 0 mg/l a 3.30 mg/l, generalmente relacionado al aporte de efluentes de origen urbano. No obstante, existen estudios realizados en el río Pita y río Machángara (Checa 2017, Guilcatoma 2017), los cuales presentan un alto grado de degradación debido a la presencia de residuos sólidos urbanos donde se registraron valores mucho más altos que los descritos por Villamarín (2014). En el caso del río Pita Guilcatoma (2017) indica el nivel de nitratos en el río dependiendo del uso de suelo del punto de muestreo. Es así que, para un uso urbano, los nitratos detectados fueron 1.8 mg/L y para el uso ganadero fueron 2.7 mg/L. Por otro lado, Checa (2017) reporta un total de 7.36 mg/ L de nitratos presentes en el río Machángara esto se debe principalmente a los vertidos orgánicos provenientes de la ciudad de Quito y a las aguas residuales de procesos ganaderos e industriales (Acosta et al. 2009). Si bien ninguno de esto valores sobrepasa el límite máximo permitido por el TULAS, se ha determinado que la calidad ecológica, y en especial, la

biodiversidad acuática se ve seriamente afectada por el cambio de uso de suelo en ambos ríos, que forman parte de la cuenca del Guayllabamba (Checa 2017, Guilcatoma 2017).

## 1.2. Justificación

Como se expuso anteriormente, el uso que se le da al suelo a lo largo de la cuenca del río va a determinar los cambios fisicoquímicos presentes en el agua. En el caso específico de la contaminación por nitratos provenientes de fertilizantes usados en la agricultura, el ingreso del contaminante puede ser puntual o difuso, cuando se da el lixiviado de nitratos en zonas de regadío, distribuyéndose por escorrentía (Almodovar,2015), y como resultado, las reservas de nitratos han aumentado en nuestros recursos hídricos (Mary et al, 2005). Sin embargo, el aumento en las concentraciones de nitratos de las actividades humanas estarían causando efectos ecológicos adversos, y un indicador clave es el aumento en la biomasa de perifiton (Hornsby y Mattson, 1996). Se conoce como los productores primarios (fiton) que viven sobre (peri) sustratos sumergido de diferente naturaleza (Farfán, 2016) y del cual se alimentan algunas poblaciones de macroinvertebrados acuáticos, entre ellos, el *Nectopsyche* sp. No obstante, no se ha considerado el efecto que distintas concentraciones pueden tener sobre una población acuática si hay un aumento de la biomasa del perifiton, ¿Esto resulta beneficioso o perjudicial para la población de *Nectopsyche* ?

Además, cabe recalcar que la legislación nacional adoptó el límite de 10 mg/L de normativas internacionales, la Environmental Protection Agency de los Estados Unidos (EPA), por ejemplo, trabaja con el mismo valor. Sin embargo, factores físicos como la topografía y la geología de la zona influyen en la calidad de aguas superficiales (Moldan y Cerny, 1994; Sliva y Williams, 2001; Álvarez, 2015). ¿Es el TULAS efectivo para la realidad del Ecuador ? Para esclarecer esta interrogante se va a analizar ,a nivel de laboratorio, la toxicidad letal del nitrato sobre población de perifiton y *Nectopsyche* sp. y los efectos

subletales cuando se alcanza el límite máximo establecido en la normativa.

### **1.3. Alcance**

El trabajo de esta tesis consiste en la evaluación del efecto del aumento de nitratos ( $\text{NO}_3$ ) sobre la población acuática del río Alambí, Pichincha. Para ello, se estableció una simulación del hábitat a nivel de laboratorio, en donde se analizó el comportamiento de la biomasa del perifiton y el *Nectopsyche* sp. Para el efecto, se realizó una prueba experimental con 16 microcosmos en el Laboratorio de la Dirección de Investigación de la Universidad de las Américas, donde se sometió a los organismos distintas concentraciones de nitratos y se midió el efecto sobre la biomasa de perifiton y los efectos subletales sobre un género del orden Trichoptera.

### **1.4 Objetivos:**

#### **1.4.1 Objetivo General:**

Analizar el efecto del incremento de nutrientes en la biomasa del perifiton y la población de *Nectopsyche* a nivel de microcosmos.

#### **1.4.2 Objetivos Especificos**

- Medir la respuesta de la biomasa del perifiton al incremento de nutrientes a diferentes concentraciones.
- Determinar los efectos a nivel poblacional de *Nectopsyche* sp . por el incremento de nutrientes.

### **1.5 Hipótesis**

#### **1.5.1 Hipótesis alternativa**

El aumento de nutrientes va a producir un incremento de la biomasa del

perifiton lo que mejorará las posibilidades de supervivencia de *Nectopsyche* sp.

### 1.5.2 Hipótesis Nula

El aumento de nutrientes no va a producir un incremento de la biomasa del perifiton por lo que la supervivencia de *Nectopsyche* sp. no será afectada por cambios en los nitratos.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Nitrógeno

El ciclo de nitrógeno, uno de los más complejos en la naturaleza, consiste en el movimiento del nitrógeno entre los compartimentos agua, suelo y aire. Durante este ciclo N es reciclado en sus diferentes formas y eventualmente, por desnitrificación, vuelve a la atmosfera como  $\text{NO}_2$ , un gas de efecto invernadero reconocida por la OCDE (OCDE 1991; Oonk y Kroeze, 1998; Mosier et al.1998). En los ecosistemas acuáticos, se da una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que convierten el nitrógeno gaseoso ( $\text{N}_2$ ) a orgánico (Muhanova, 2009). Existen tres mecanismos en que el nitrógeno atmosférico puede ser transformado en componentes útiles para los seres vivos (Smil, 2000; Coronel,2011), estos son: procesos biológicos, descargas eléctricas y por actividades industriales como la quema de carburante fósil o la fijación fotoquímica, que proveen suficiente energía para formar nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) (Galloway et al. 2008; Coronel, 2011;Sci, 2013). Este último procedimiento es reproducido en las fábricas productoras de fertilizantes.

La producción global de fertilizantes agrícolas aumentó en un 800% en la últimas décadas, estamos hablando de <10 millones toneladas de N en 1950 a 80 millones de toneladas en 1990, y su producción está prevista por algunos autores a superar 135 millones de toneladas métricas de N para 2030 (Vitousek

et al., 1997; Galloway et al.,1995; Canfield et al.2010). Por otro lado, existen varias actividades de origen antrópico que aportan nitrógeno en el medio en menor medida (Tabla 1).

Tabla 1.

*Fuente global de nitrógeno antropogénico*

<b>Fuente</b>	<b>Cantidad de nitrógeno fijado (Tg/a)</b>
<b>Fertilizantes</b>	81
<b>Leguminosas y forrajes</b>	40
<b>Quema de combustible fósil</b>	>20
<b>Limpieza y conversión de tierras</b>	20
	10
<b>Drenaje de humedales y consecuente oxidación de sus suelos orgánicos</b>	
<b>Total</b>	≈140 Tg

Adaptado de: Galloway et al., 1995; Vitousek et al., 1997; Coronel, 2011.

Dada la aceleración de la fijación de N causada por el ser humano y otros cambios en el ciclo del nitrógeno, no sorprende que las concentraciones de N hayan aumentado con el tiempo en las aguas superficiales (Vitousek et al, 1997).

## 2.2 Nitratos

El nitrato es un compuesto natural con mayor presencia en los acuíferos del mundo (Spalding,1993). Los países del primer mundo, tienen recopilada información de concentraciones de nitratos en algunos de sus ríos y otros suministros de agua potable durante décadas. El análisis de estos datos muestra, por ejemplo, que las concentraciones de nitrato en el río Mississippi se ha incrementado considerablemente desde mediados de los años 60 (Turner y Rabalais 1991, Gómez et al. 2015 ). La entrada de nitratos en los ríos se correlacionan con la densidad de población humana (Cole et al. 1993; Howarth et al 1996 y Vitousek et al, 1997) como se puede observar en la Figura 1.

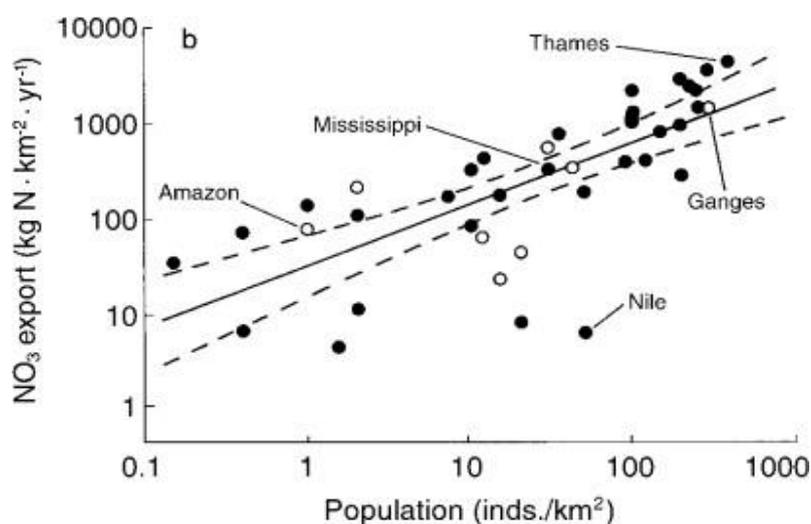


Figura 1. Exportación de nitrato de los sistemas fluviales.

Tomado de Vitousek et al (1997).

La respuesta del medio a esta excesiva entrada de nutrientes, es la proliferación de plantas nitrófilas en el agua (Tamm, 1991). A fin de cuentas, es el ión nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) quien limita el crecimiento de la biomasa del perifiton en los ecosistemas acuáticos, la fijación de nutrientes es realizada principalmente por cianobacterias, también conocidas como algas verdes (Howarth et al. 1988 ; Muhanova, 2009; Canfield et al. 2010; Coronel,2011).

### 2.3 Crecimiento de la biomasa de perifiton

La contaminación por exceso nutrientes ha aumentado la biomasa global de algas en lagos arroyos y ríos. Dentro regiones pobladas o agrícolamente productivas la biomasa del perifiton y la biomasa presente en el agua es mayor debido a la descarga de fuentes puntuales y difusas (Lewis et al. 2011; Li et al. 2016).

Aunque los ríos y las corrientes que fluyen lentamente pueden producir poblaciones de fitoplancton comparables a las de los lagos, el perifiton (algas adheridas) también es importante y puede ser dominante, especialmente en las corrientes de tamaño pequeño a mediano, como es el caso de los ríos de páramo (Lewis et al. 2011). Estos organismos realizan fotosíntesis mediante pigmentos como la clorofila  $\alpha$  que les permite transformar nutrientes de origen inorgánico en materia orgánica rica en energía (Pulido, 2015). El contenido de clorofila por unidad de área es usado como indicador de la biomasa de algas presentes en el perifiton. Este indicador es imprescindible para evaluar los servicios ecosistémicos del río (Paulsson et al, 1999; Ríos-Touma y Encalada, 2015) (Tabla 2).

Tabla 2.

*Valores límite para un sistema trófico según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE)*

<b>Categoría trófica</b>	<b>Clorofila-a</b>	<b>Clorofila-a máx</b>
Ultraoligotrófico	< 1,0	< 2,5
Oligotrófico	< 2,5	< 8,0
Mesotrófico	2,5-8	8-25
Eutrófico	8-25	25-75
Hipertrófico	> 25	> 75

Adaptado de Álvarez (2015)

Nota: Clorofila-a y Clorofila-a máx = media y pico anual de la concentración de clorofila a en aguas superficiales.

## 2.4 Eutrofización

La eutrofización es la acumulación de los nutrientes, como los fosfatos, nitratos y silicatos en cuerpos de agua. El primer síntoma de eutrofización es la producción excesiva de biomasa acuática, que incluye algas suspendidas (fitoplancton), algas en los sedimentos (perifiton), y plantas acuáticas vasculares (macrófitas). Como consecuencia se genera una transferencia de materia orgánica a aguas profundas que pueden ser oxidadas por el oxígeno molecular, desarrollando hipoxia y anoxia, originando el repentino florecimiento de algas tóxicas, el deterioro de la calidad del agua (sabor y olor, problemas de filtración) y cambios en la composición de las comunidades acuáticas (Goldberg, 1995; Muhanova, 2009; Lewis et al. 2011, Abdelaziz, Leite, Belhaj, y Hallenbeck, 2014). En dicha situación, el ecosistema acuático cuyo estado de equilibrio se ve alterado, reacciona modificando su funcionamiento y acelerando estos procesos indeseables (Rapal, 2010).

Existen factores físicos relacionados con la cuenca del río que influyen en el proceso de eutrofización de los ecosistemas, entre otros están: la temperatura del agua, clima, velocidad y dirección del viento, precipitación media y la radiación solar. La producción natural de fitoplancton depende de dichos factores (Álvarez, 2015). Sin embargo, este proceso se ve fuertemente acelerado cuando a lo largo de la cuenca hay actividad antropogénica que ejerce presión sobre la productividad biológica y la composición del agua (Lewis et al. 2011; Khan et al., 2014; Álvarez, 2015; Li et al. 2016; Checa, 2017).

Para evitar que el daño ecosistémico avance, la FAO (1997) estableció medidas de gestión de tierras de uso agrícola cercanas a una cuenca hídrica, entre los puntos más relevantes están:

- **Establecimiento de planes de fertilización:** para evitar el uso excesivo de fertilizantes, la tasa de fertilizante nitrógeno por ejemplo,

deberá calcularse en función del “balance de nitrógeno de los cultivos”. Se deben tener en cuenta las necesidades de las plantas y la cantidad de nitrógeno en el suelo.

- **Mantener cubierta vegetal:** en la medida de lo posible, el suelo debe estar cubierto de vegetación. Con ello se impide la acumulación de nitrógeno mineralizado y se evita la lixiviación durante los periodos de lluvia.
- **Planificación territorial en medios agrícolas:** deben adoptarse técnicas de control de la erosión (que estén en consonancia con las condiciones topográficas y edáficas).

## 2.5 Métodos de experimentación con comunidades acuáticas

Los microcosmos y mesocosmos son sistemas de prueba artificiales constituidos con muestras provenientes de ecosistemas naturales. Son una valiosa herramienta en estudios ecotoxicológicos debido a su precisión, replicabilidad, reproducibilidad y simplicidad (Boisson y Perrodin, 2006; Sourisseau et al. 2008, López et al. 2015 ). En estos ecosistemas artificiales se ponen a prueba, por ejemplo, hipótesis relacionadas con interacciones en la red alimentaria, o sobre los efectos que tiene un químico en el ambiente (Caquet et al., 2000).

Durante años, los microcosmos/mesocosmos han servido de herramienta para evaluar posibles riesgos ambientales, el resultado de estos estudios señala las ventajas y limitaciones relacionadas con este método experimental (Tabla 3).

Tabla 3.

*Ventajas y limitaciones que presentan los microcosmos/mesocosmos durante el análisis de variables ecológicas a nivel de laboratorio*

<b>Ventajas</b>	<b>Limitaciones</b>
<b>Los microcosmos son prácticos y relativamente económicos</b>	No todos los procesos de un ecosistema pueden ser replicados en

<b>dependiendo de la escala.</b>	el microcosmos.
<b>Permiten predecir el comportamiento de contaminantes en sistemas complejos</b>	La diferencia de escala es un obstáculo para reflejar con precisión los efectos biológicos
<b>Mejora el entendimiento de las relaciones sistémicas a través del análisis de la interacción del contaminante sobre los componentes y procesos.</b>	Un microcosmos es considerado efectivo si las funciones de forzado entre el modelo y el equivalente natural coinciden.

Adaptado de Sánchez y Varela,1987; Kangas, 2005.

Pese a la ventajas que presenta esta herramienta, no todos están de acuerdo en la fiabilidad de los resultados, debido a un factor clave : las réplicas. A nivel experimental, las réplicas son necesarias para probar la hipótesis, como establece el método científico (Kangas,2005). Sin embargo, en el caso de los microcosmos, la disparidad entre réplicas es inevitable, lo que causa conflicto a varios autores; incluso algunos concluyen que cuanto mejor es el microcosmos, peor se replica y, por lo tanto, se complica el uso de esta herramienta experimental (Pilson y Nixon ,1980; Abbott ,1966).

## 2.6 *Nectopsyche* sp.

Las adaptaciones evolutivas a diferentes condiciones ambientales y límites de tolerancia a una determinada alteración dan las características a ciertos grupos que podrán ser considerados como organismos sensibles (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera) por no soportar variaciones en la calidad del agua (Manhan,2013). El género *Nectopsyche* (Leptoceridae: Trichoptera) es rico en especies, restringidas al nuevo mundo (Huamantico y Ortiz,2010). Las larvas habitan ambientes tanto lóticos como lénticos, construyen capullos cónicos con

materiales diversos y se les clasifica según su modo de alimentación, como trituradoras y colectoras de depósito (Huamantico & Ortiz, 2010). En la fase adulta, los organismos trituran principalmente grandes piezas de descomposición vascular, tejido vegetal (> 1 mm de diámetro) junto con la microflora y la fauna asociadas, se alimentan directamente de macrófitas vasculares vivientes y también promueven la descomposición de la madera por raspado (Figura 2.) o ranurado y tunelado de madera (Glover y Floyd, 2004). Estas actividades exponen la madera para promover la colonización y descomposición microbiana (Wallace y Webster, 1996). A este macroinvertebrado acuático se lo ha clasificado con una sensibilidad de 8 en una escala de 1 a 10 (Ríos-Touma et al., 2014).

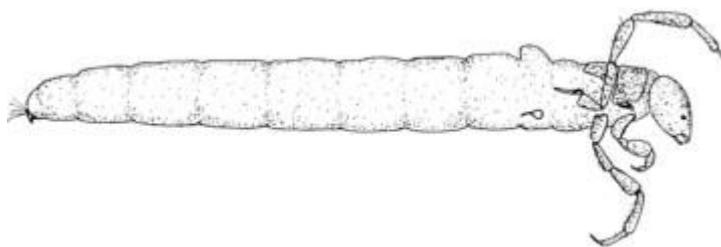


Figura 2. *Nectopsyche* sp.  
Tomada de Huamantico y Ortiz, 2010

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1 Diseño de la experimentación

Se estableció un diseño de tres tratamientos y un blanco, con cuatro réplicas por cada uno (Figura 3). Los tratamientos usados fueron: 1.2 (concentración basal del río), 1.8, 2.7 y 10 mg L<sup>-1</sup> de nitratos. Se seleccionaron los valores de 1.8 mg L<sup>-1</sup> de nitratos disueltos en el agua para concentraciones relacionadas con zonas urbanas y 2.7 mg L<sup>-1</sup> de nitratos disueltos en agua relacionados a zonas agrícolas en base al estudio realizado sobre identificación del grado de eutrofización en la microcuenca del río Pita

(Guilcatoma, 2017). El valor de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de nitratos disueltos en el agua corresponde al valor máximo permisible en aguas dulces la legislación nacional en el Texto Unificado Legislación Secundaria del Medio Ambiente (TULSMA) (Ministerio del Ambiente - Ecuador, 2012). El estudio estuvo compuesto por 16 microcosmos las cuales fueron acondicionadas en el Laboratorio de Investigación de la Universidad de Las Américas. La experimentación se mantenía en una temperatura ambiente de 8 grados centígrados para simular la condiciones naturales del río donde se extrajeron los individuos de *Nectopsyche* sp. La colonización de algas en el microcosmos se midió a través del método de determinación de la clorofila  $\alpha$ , tanto en agua como en baldosas.

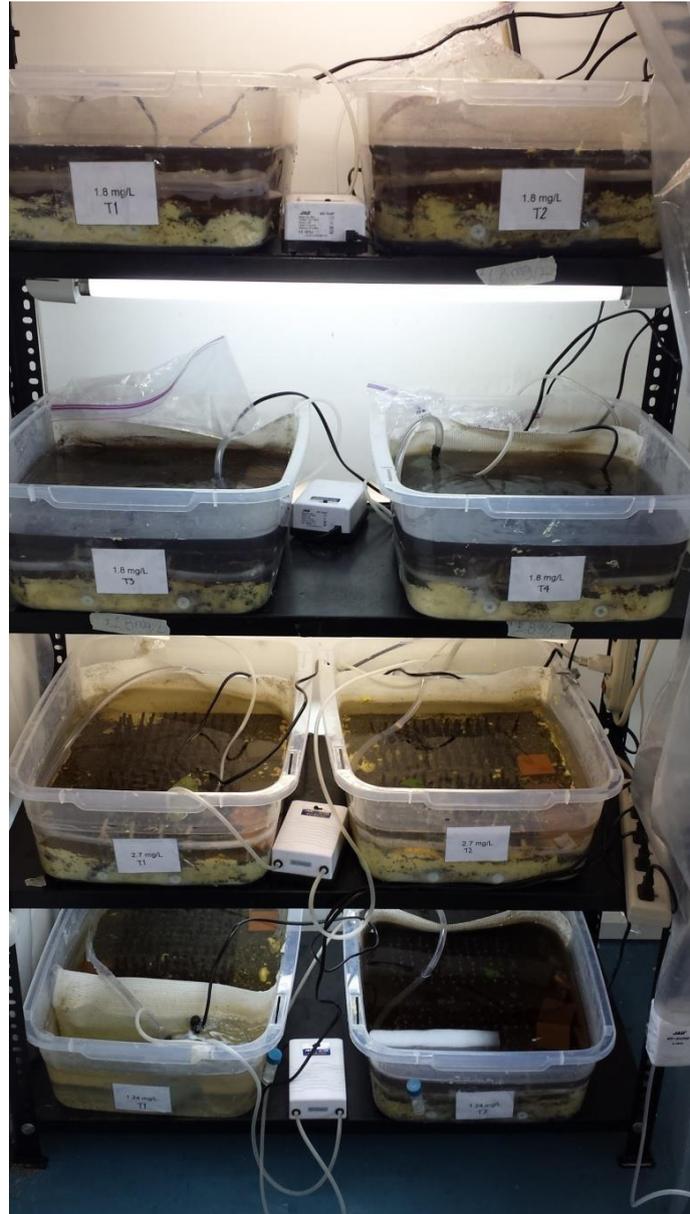
	1.24 10 Nectopsyche	1.8 10 Nectopsyche	2.7 10 Nectopsyche	10 10 Nectopsyche
Réplicas	1.24 10 Nectopsyche	1.8 10 Nectopsyche	2.7 10 Nectopsyche	10 10 Nectopsyche
	1.24 10 Nectopsyche	1.8 10 Nectopsyche	2.7 10 Nectopsyche	10 10 Nectopsyche
	1.24 10 Nectopsyche	1.8 10 Nectopsyche	2.7 10 Nectopsyche	10 10 Nectopsyche
	1.24 10 Nectopsyche	1.8 10 Nectopsyche	2.7 10 Nectopsyche	10 10 Nectopsyche
	Blanco	C1	C2	C3
	Tratamiento			

*Figura 3.* Diseño experimental. La unidad de las concentraciones en mg de nitrato por litro de agua de río ( $\text{mg L}^{-1}$ )

### 3.2 Infraestructura para la experimentación

Durante los 10 días que duró la experimentación se reguló la entrada de luz a través de un temporizador, dividiendo el día en 12 horas de luz directa y 12 horas sin luz con el fin de simular el ambiente natural en los microcosmos.

En cada microcosmos se dispuso 10 litros de agua del río, sin embargo, debido a los análisis diarios realizados en cada unidad experimental fue necesario aumentar el nivel del agua nuevamente cuando se introdujeron los organismos. In situ, se midió en el río Alambi la conductividad, pH, temperatura y turbidez para determinar las condiciones naturales del río. Las condiciones naturales del río Alambi, y por ende, las condiciones óptimas para que se desarrolle la vida de estos organismos con éxito a nivel de laboratorio fueron determinadas a través de las sondas YSI PRO. En cada unidad experimental, con el fin de simular la corriente del río, se introdujo una bomba de acuario sumergible JAD SP-602. La aireación en los microcosmos fue proporcionada por bombas de aire JAD SC-7500, una bomba fue necesaria para abastecer a dos microcosmos, por lo que se requirieron ocho de estas bombas en total (Figura 4). El uso de todos los elementos descritos con anterioridad, permitió generar, un ambiente óptimo para el desarrollo de los organismos (Sánchez,2017).



*Figura 4.* Unidades experimentales adecuadas y listas para brindar un ambiente óptimo en el desarrollo de algas

### 3.3 Área de muestreo

Este estudio se realizó con las muestras del río Alambi (Figura 5), que forma parte de la cuenca del río Guayllabamba y que está ubicado en la parroquia de Nono al noroccidente de Quito. El tramo del río Alambi ubicado en Nono se ubica entre el bosque húmedo Montano Bajo (2600-2800 m.s.n.m) y el bosque muy húmedo Montano Bajo (2300-2600 m.s.n.m) (Giacometti,2006). Este río ubicado en la zona alta de los andes , cuya calidad de agua está por encima

del promedio, debido a que se halla alejado de las zonas urbanas, se encuentra dentro del corredor de conectividad biológica Trópico- Andino. En este sector se busca tener un manejo sostenible y sustentable de la flora y fauna nativa y endémica que atraviesan las provincias de Esmeraldas y Napo (Ecofondo, 2016).



*Figura 5 . Área de muestreo. Río Alambi en la parroquia de Nono, Pichincha.*

### **3.4 Adaptación y colonización del perifiton**

Se recogieron piedras de río que presentaban una capa de algas en su estructura. Una vez adecuados los microcosmos , y siguiendo la metodología de Lamberti, Gregory, Ashkenas, y Steinman (2013) se extrajo el perifiton de las rocas a través de un raspado, posteriormente la solución de algas fue homogeneizada durante 1 minuto y se añadió 200 ml de esta solución en cada tratamiento para dar paso a la colonización de las algas .

### 3.5 Recolección de *Nectopsyche* sp.

Para recolectar los 160 organismos se empleó la D-net en las paredes del río, a través de la técnica de la patada. Se escogieron los organismos más grandes para que el peso inicial de cada individuo sea cercano a la media y no haya sesgos en los datos. Los individuos seleccionados en las bandejas (Figura 6) fueron almacenados en baldes con vegetación y bloques de hielo para mantener el frío durante el transporte hacia el laboratorio de Ingeniería Ambiental la Universidad de las Américas.



Figura 6. Recolección de *Nectopsyche* sp. in situ.

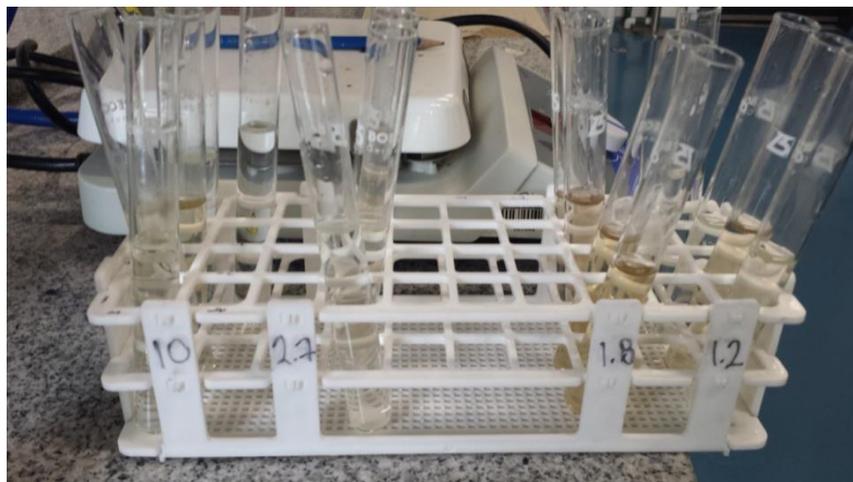
### 3.6 Análisis físico-químicos y de biomasa

#### 3.6.1 Medición de nitratos

Los nitratos se midieron siguiendo el protocolo Standard methods 4500 -  $\text{NO}_3^-$  (APHA, 2005). En un Erlenmeyer de 125 ml se añadió una alícuota de 25 ml de la unidad experimental y se adiciona 0.5 ml de ácido clorhídrico 1 N por muestra. Se leyó el blanco (agua destilada) y las muestras a una longitud de onda de 220 nm en el espectrofotómetro ubicado en el laboratorio ambiental.

#### 3.6.2 Medición de turbidez y color

Para determinar ambos parámetros se recolectó, desde el inicio del estudio, 15 ml de agua por cada unidad experimental y las muestras se dispusieron en tubos de ensayo (Figura 7). Cada muestra fue analizada individualmente en el espectrofotómetro NANOCOLOR UV/VIS II del laboratorio de Aguas de Ingeniería Ambiental. La turbidez fue medida en la unidad nefelométrica de turbidez (NTU) por sus siglas en inglés, mientras que el color está definido por la medición estándar Pt-Co/APHA/Hazen.



*Figura 7.* Muestras de cada microcosmos listas para la medición de turbidez y color.

#### 3.6.3 Obtención clorofila $\alpha$

La clorofila  $\alpha$  del perifiton de los microcosmos fue medida en dos diferentes etapas (Figura 8). El primero consistió en la medición de clorofila disuelta en el agua del microcosmos desde el primer día de iniciada la experimentación, para ello, se recogieron 150 ml de agua de cada unidad experimental, se filtró el agua, y el material removido se colocó en 20 ml de alcohol al 96%. Las muestras se conservaron en tubos Falcon de 50 ml cubiertos de papel aluminio, los cuales se almacenaron a 4°C por 24 horas para romper la pared celular. Después de las 24 horas en refrigeración, se procedió a centrifugar cada una de las muestras durante 5 minutos en la centrífuga Eppendorf 5804 R y se procedió a medir en el espectrofotómetro a longitudes de onda de 664 y 750 nm. Después de esta primera medición, como método de corrección, se acidifica con 0.1 mL de 0.1N HCL por 3 minutos y nuevamente se midió a 665 y 750 nm. La cantidad de clorofila  $\alpha$  fue estimada usando la siguiente fórmula:

$$\text{Clorofila } \alpha \text{ } (\mu\text{g}/\text{cm}^2) = 28 (E_{664b} - E_{665a}) \times V_{\text{ext}} / A \text{ (cm}^2) \times L$$

(Ecuación 1)

*En donde*

**28=** coeficiente de absorción para clorofila en 96% de etanol.

**E664b =** (absorbancia a 664 – absorbancia a 750) antes de la acidificación.

**E664a=** (absorbancia a 665 – absorbancia a 750) con la muestra acidificada.

**Vext=** volumen de extracto (20ml).

**A=** área de las cerámicas (13 cm<sup>2</sup>).

**L=** longitud de la celda de cuarzo usada en el espectrofotómetro (1 cm) (Ríos-Touma y Encalada, 2015).

Un proceso similar se dió al medir la clorofila en la baldosa, sin embargo, debido a que el raspado genera turbidez durante la lectura de datos (Sánchez,2017) se optó dejar reposar las baldosas en vasos de precipitación cubiertos de papel aluminio, con 100 ml de etanol al 96% a 4°C grados por 24 horas. Una vez terminado este periodo de extrajo 20 ml de muestra que se

colocaron en tubos falcon para centrifugación. En adelante, el proceso fue el mismo que el descrito con anteriorirmente.

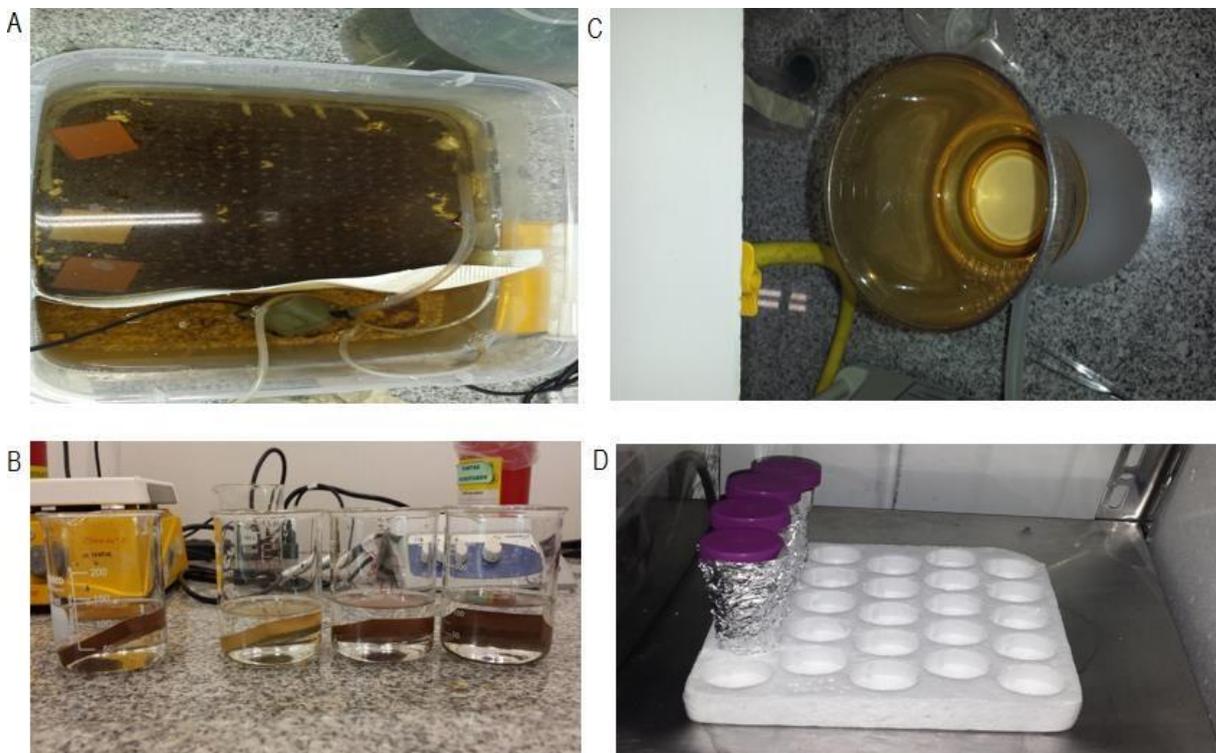


Figura 8. Obtención de clorofila  $\alpha$

A) y B) : medición de clorofila en baldosas.

C) y D) : medición de la clorofila directamente del agua.

### 3.7 Variables de medición subletal

#### 3.7.1 Peso del individuo (gr)

Se determinó el peso individual de los organismos recolectados tanto al inicio como al final del diseño experimental, para ello se usó con la balanza analítica OHAUS Adventurer con sensibilidad de 0.0001 gramos (Sánchez, 2018). Los individuos fueron colocados sobre un recipiente plástico encerado para facilitar la acción. Una vez terminada ambas mediciones se determinó el peso neto de la población de *Nectopsyche* sp. por cada tratamiento.

### 3.7.2 Tamaño de la cabeza

Se sabe que el tamaño de la cabeza está relacionado con el desarrollo de los individuos Trichoptera (Steinman, 2007). Es por ello que se midió esta variable al inicio y al final de la experimentación mediante el Estereoscopio trinocular OLYMPUS ZX6, que incluye cámara y el software OLYMPUS viewer 3 (Sánchez, 2018). Para una correcta medición de la cabeza fue necesario estimular a los organismos más débiles con alimento (Figura 9) .



*Figura 9.* Captura de la medición de la cabeza en la fase inicial. Tratamiento  $1.8 \text{ mg L}^{-1}$

### 3.7.3 Tasa de mortalidad

Este parámetro se midió cada 12 horas durante las 96 horas de experimentación, y el criterio de medición fue mediante conteo y observación del estado del individuo en la cajas petri.

### 3.7.4 Análisis de datos

Se determinó mediante la prueba de Levene la normalidad de los datos. A los datos con  $p < 0.5$  se aplicó el análisis de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos con el programa STATISTICA 10 de Dell Software. Para medir la supervivencia se utilizó el análisis de Kaplan-Meier en el programa IBM SPSS Statistics 2018. En cuanto a la clorofila se realizó un ANCOVA en donde se usó el tiempo y nitratos como covariables, además de una correlación entre dichas variables para determinar su influencia.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Variables físico-químicas y de biomasa

#### 4.1.1 Nitratos

En el análisis de nitratos se observa que en el caso de los tratamientos  $2.7 \text{ mg L}^{-1}$  y  $10 \text{ mg L}^{-1}$  existió una tendencia a una disminución de la concentración a lo largo de la experimentación. Existe diferencias significativas en los tratamientos 2.7: (KW-H = 16.6455,  $p = 0.0340$ ) y 10: (KW-H = 23.9259,  $p = 0.0024$ ) (Fig. 10). Por otro lado, en los tratamientos  $1.2 \text{ mg L}^{-1}$  y  $1.8 \text{ mg L}^{-1}$  se evidenció un aumento gradual de la concentración de nitratos a lo largo de la experimentación (Fig. 10).

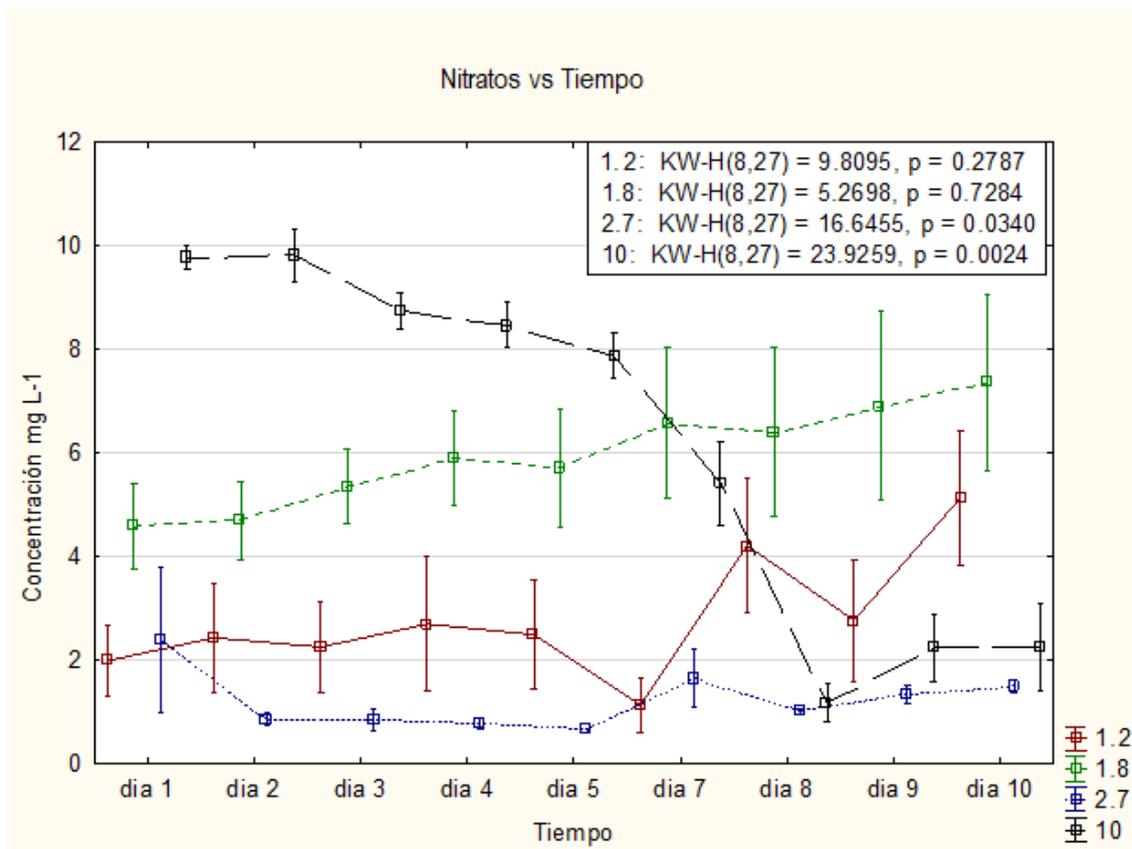


Figura 10. Concentración de nitratos en diferentes tratamientos 1.2, 1.8, 2.7 y 10 mg L<sup>-1</sup> durante el tiempo estudio.

#### 4.1.2 Turbidez

Los niveles de turbidez presentan valores de entre 20 a 40 NTU en el primer día, estos valores van descendiendo progresivamente con el paso del tiempo en todos los tratamientos como se aprecia en la Figura 11. Además la relación tiempo-turbidez es estadísticamente significativa en todas las muestras.

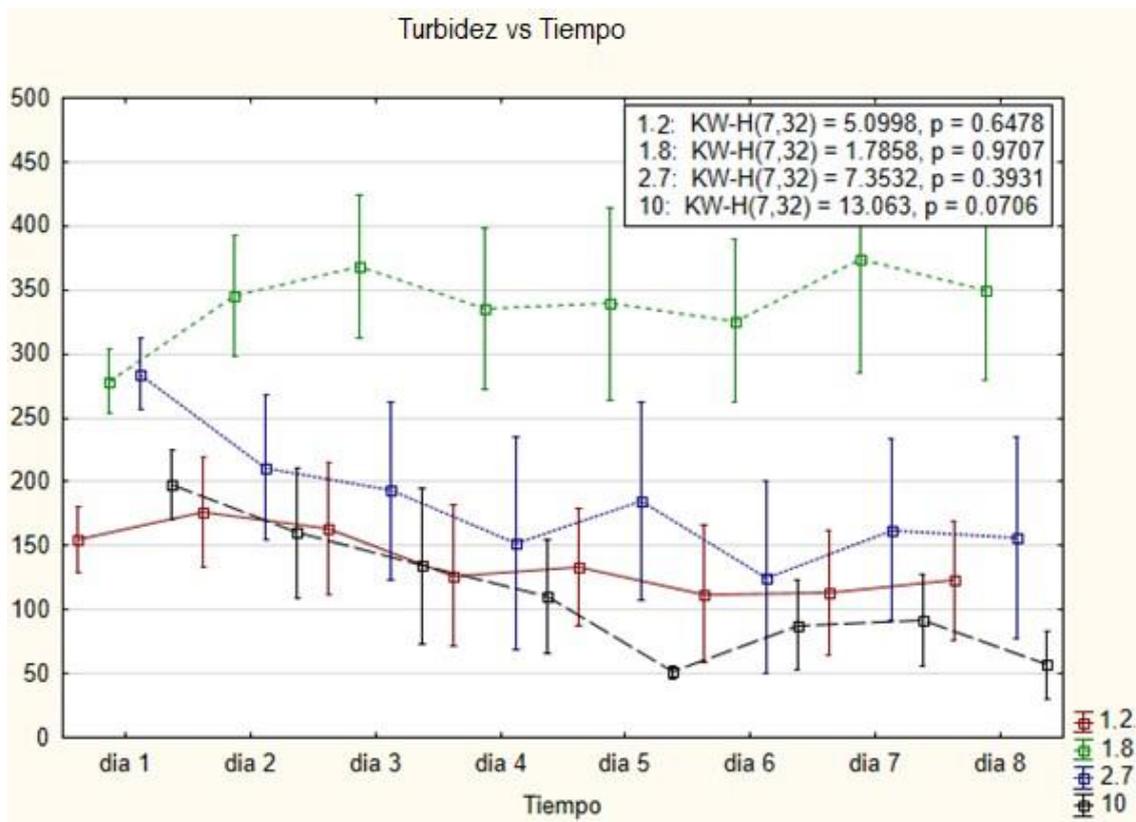


Figura 11. Análisis de turbidez en diferentes tratamientos durante el periodo de estudio.

#### 4.1.3 Color

En el caso de la variable color, los tratamientos 1.2, 2.7 y 10 mg L<sup>-1</sup> tienen una tendencia a disminuir el color durante el tiempo de análisis (Fig.12). Además, el tratamiento 10 mg L<sup>-1</sup>. Sin embargo, en ningún tratamiento las diferencias son significativas .

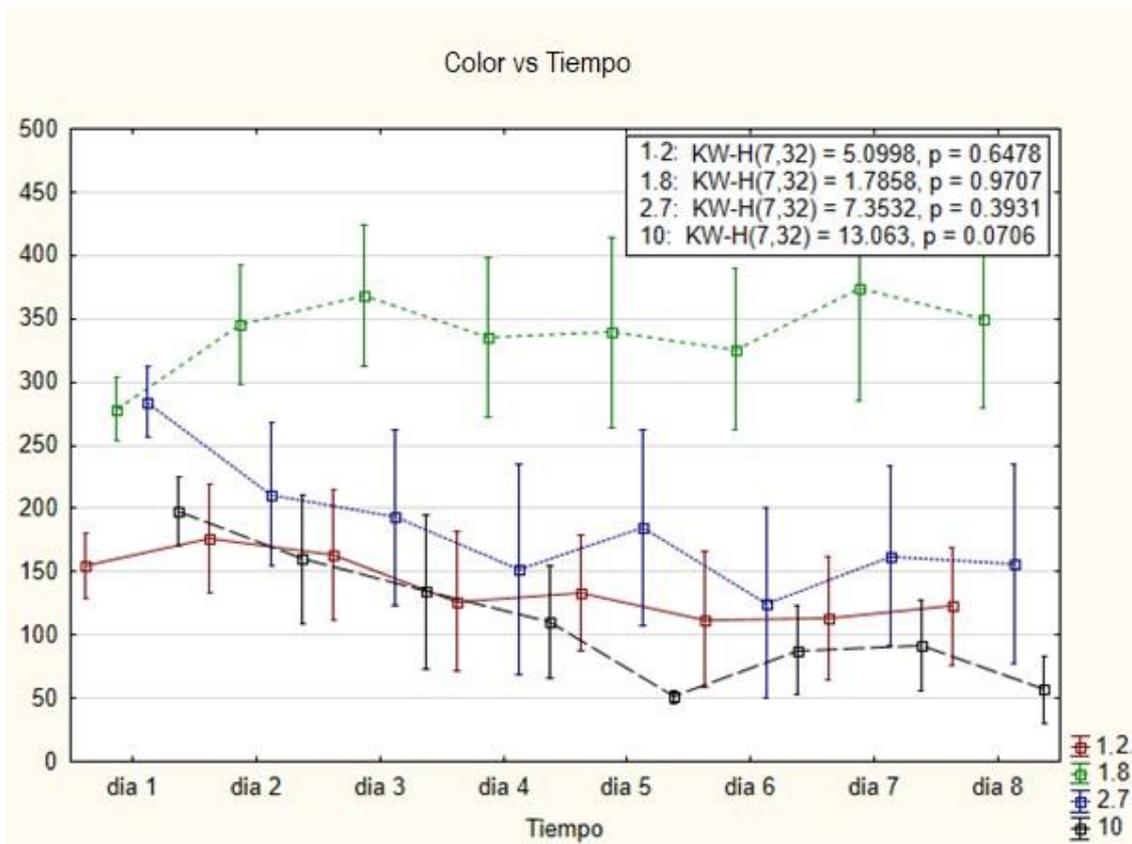


Figura 12. Análisis de color en diferentes tratamientos durante el periodo de estudio.

#### 4.1.4 Análisis de la clorofila $\alpha$

Se calculó la clorofila obtenida por tratamiento con la fórmula descrita por Rios-Touma y Encalada (2014). Los valores fueron analizados de manera individual y en caso de obtener un valor negativo en E664b inmediatamente se descartaba la medición ya que la turbidez afecto el proceso. Por otro lado, si se obtenida un valor de E665a mayor a E664b significaba la presencia de feofitina o clorofila muerta, en tal caso el valor de la clorofila era de 0  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

#### Clorofila $\alpha$ en agua

Para el análisis de clorofila se realizó una correlación de matriz entre la densidad de la clorofila calculada con la variables físico-químicas medidas (nitratos, turbidez y color), y las variables letales y subletales descritas anteriormente. Como se observa en la Tabla 4. ninguna interacción de la

clorofila con las variables analizadas es significativa ( $p < 0.05$ ).

Tabla 4.

*Matriz de correlación de clorofila  $\alpha$  en el agua*

Variables	Tiempo	Nitratos	Turbidez	Color	Mortalidad
<b>Clorofila</b>	-.1018	.0113	-.0706	-.0816	-.0086
	$p=.423$	$p=.929$	$p=.579$	$p=.521$	$p=.946$

Se representó gráficamente el comportamiento de la densidad de la clorofila durante el periodo de estudio (Figura 13) , a través de un Mean Plot . Los resultados no presentaron una diferencia significativa Estos resultados se encuentran más detallados en el Anexo 1.

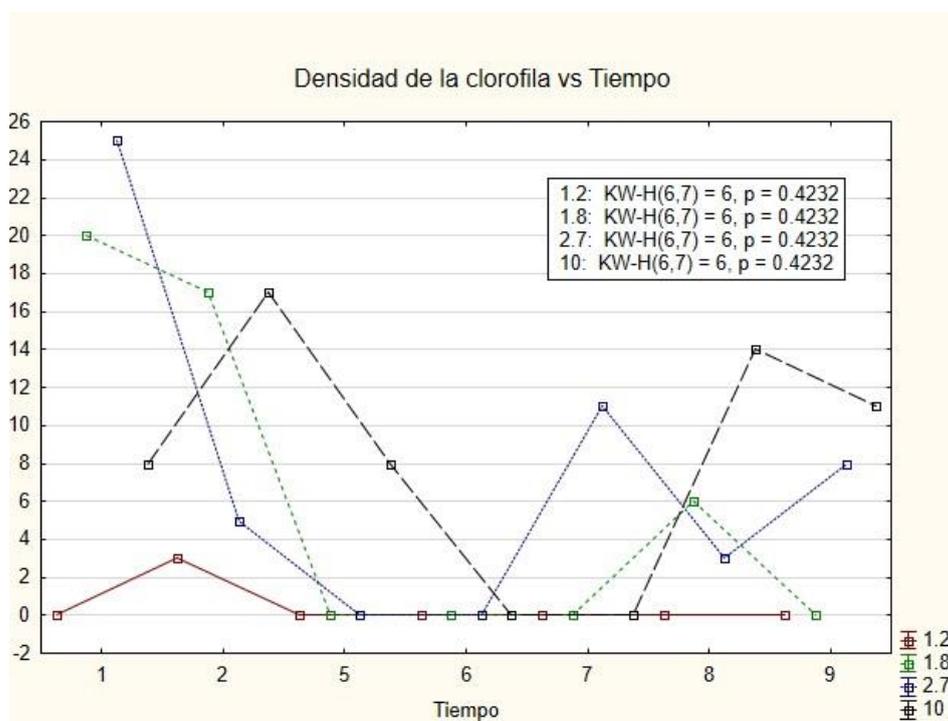


Figura 13. Cuadro de densidad de clorofila en relación al tiempo\

### Clorofila $\alpha$ en baldosas

Para el análisis de clorofila en baldosas se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente Como se observa en la Tabla 5. ninguna interacción de la clorofila con las variables analizadas es significativa ( $p < 0.05$ ).

Tabla 5.

Matriz de correlación de clorofila  $\alpha$  en las baldosas

Variabes	Tiempo	Nitratos	Turbidez	Color	Mortalidad
Clorofila	-.1187	.605	-,1380	-.0247	-.0995
	p=.350	p=.635	p=.277	p=.847	p=.434

Se analizó a la vez, el comportamiento de la densidad clorofila en los tratamientos durante los días de estudio (Figura 14) , a través de un Mean Plot . Los resultados no presentaron una diferencia significativa a excepción de 1.8 (mg/L) donde  $p=0.0052$ . Esto se debe a que hubo una alta presencia de feofitina en los análisis y es por eso que los resultado son 1.2 ug/cm<sup>2</sup> desde el tercer día. Estos resultados se encuentran más detallados en el Anexo 2.

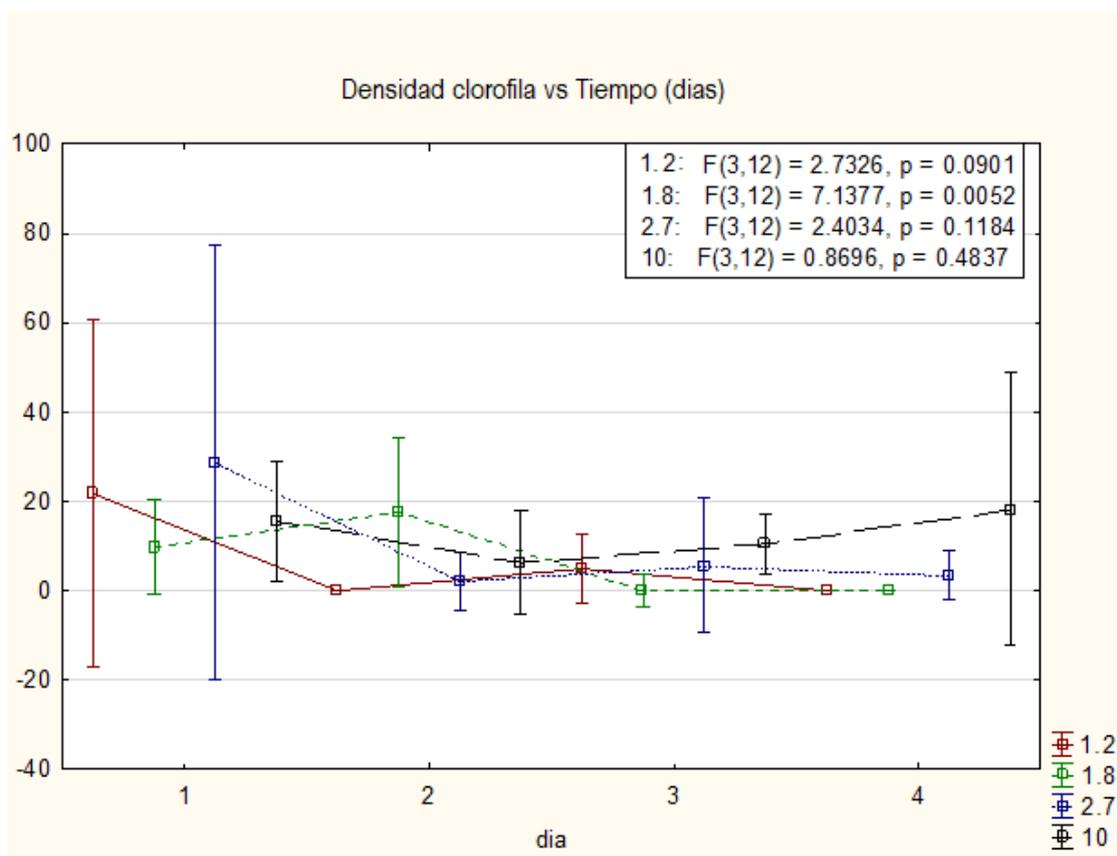


Figura 14. Comportamiento de la clorofila en baldosa durante los días de análisis.

## 4.2 Variables de medición subletal

### 4.2.1 Mortalidad

La mortalidad se registró a partir de las 12 horas en todos los tratamientos, durante el periodo de adaptación (Figura 15). A diario se realizaron 2 fases de conteo, a las 6am y 6pm y en cada conteo se registraban decesos en los tratamientos. Al final del estudio, el tratamiento que registró más individuos muertos fue el 1.8 mg L<sup>-1</sup>, este resultado concuerda con el incremento de la feofilina en el agua. En total de los 160 organismos que ingresaron, sobrevivieron 71, es decir hubo una tasa del 60.7% de mortalidad.

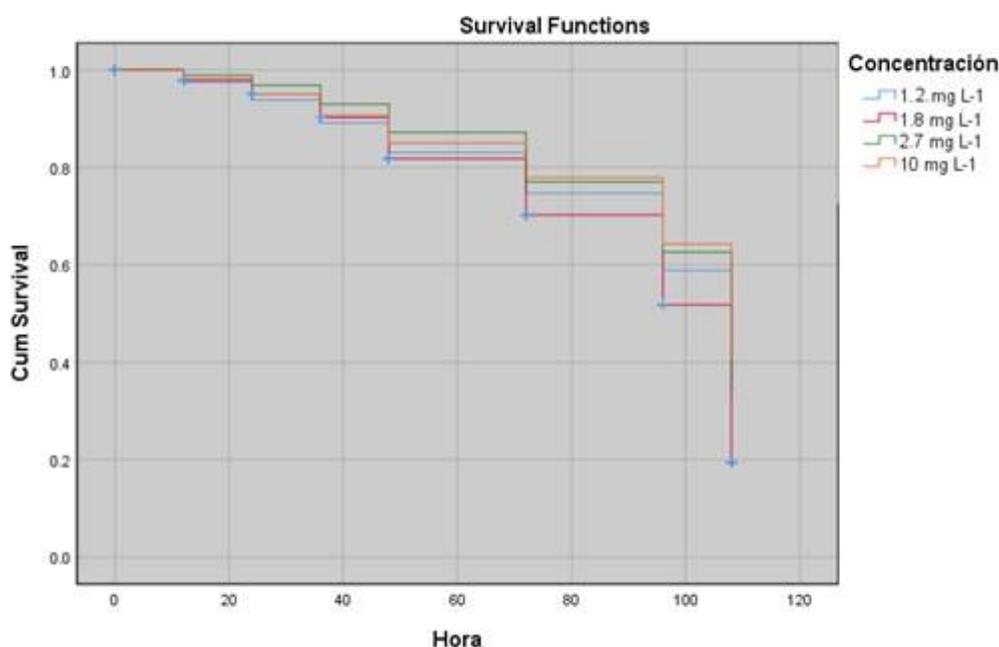


Figura 15. Gráfica de mortalidad

### 4.2.2 Peso

La variable peso se midió al inicio y final de la experimentación y el tratamiento de 10 mg L<sup>-1</sup> fue el único que registró un aumento de peso en comparación con los demás tratamientos (Figura 16). Por otro lado, el tratamiento 1.8 mg L<sup>-1</sup> registro un peso neto de -0.1001 g, producto de la muerte de la biomasa. A pesar de esta variabilidad de datos ninguno presenta una diferencia significativa.

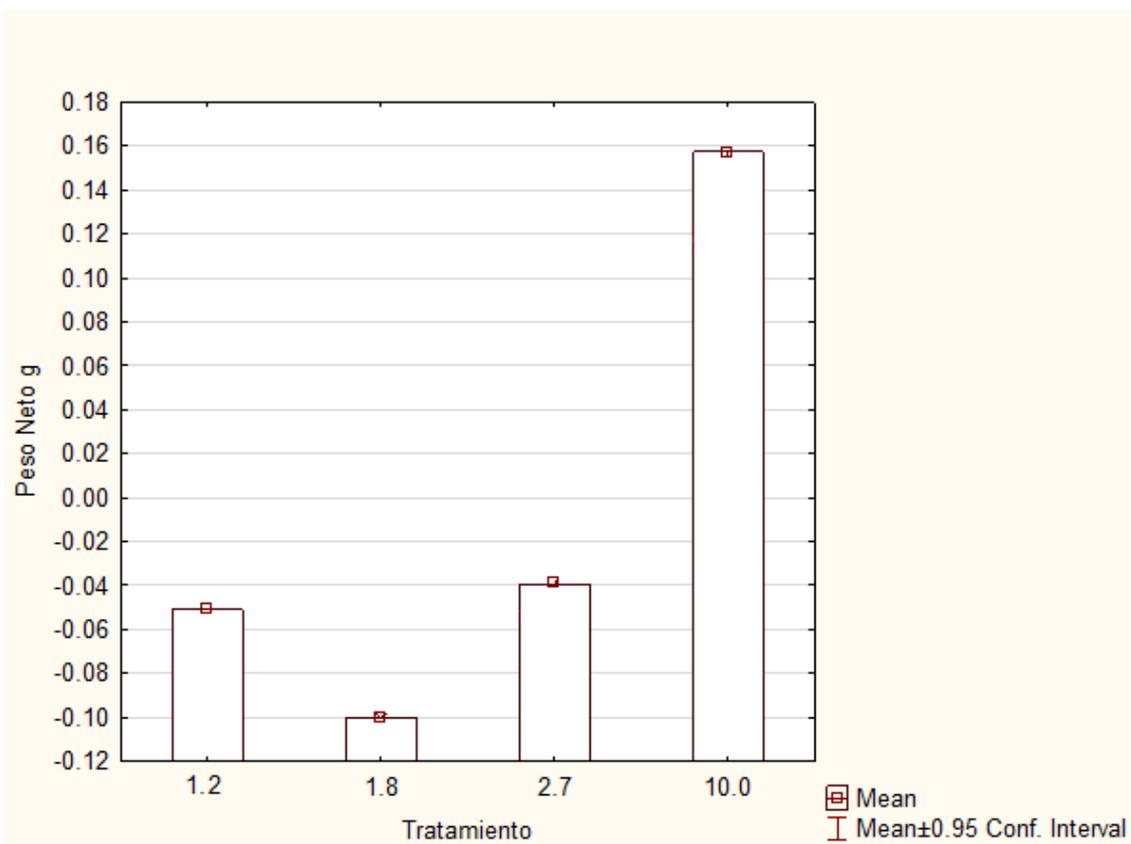


Figura 16. Peso neto de los individuos al final del estudio.

#### 4.2.3 Ancho de la cabeza

Los valores del ancho de la cabeza ( Fig 17) presenta diferencias significativas únicamente en el tratamiento 2.7 mg L<sup>-1</sup> , esto se debe principalmente a que hubo mortalidad (Fig 15) en todos los tratamientos.

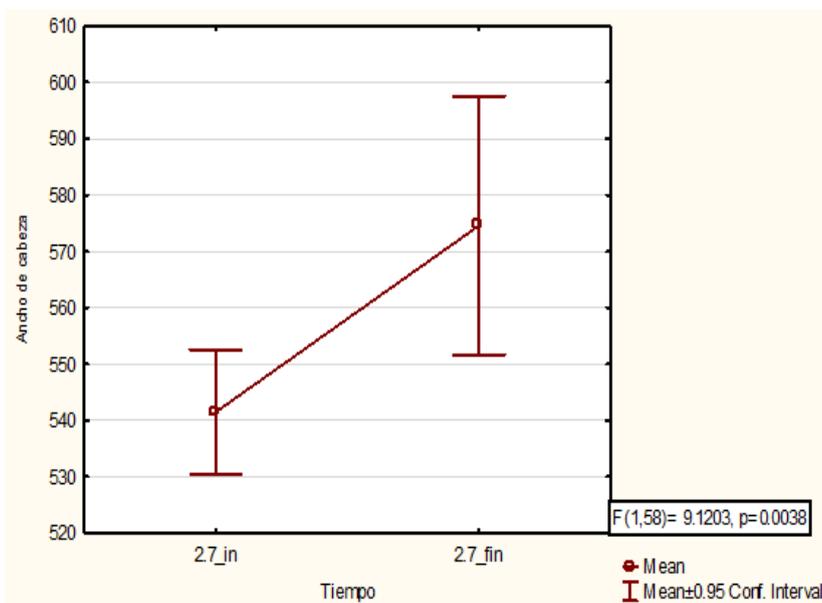


Figura 17. Comportamiento del ancho de la cabeza de los individuos al inicio y final de la experimentación en el tratamiento 2.7 mg L<sup>-1</sup>

#### 4.2.4 Individuos que empupan

En el diseño experimental se contempló esta variable, ya que debido al estrés al cual se sometió a los *Nectopsyche* sp. se analizó la posibilidad que los organismos formaran pupas. Sin embargo, al final del estudio se obtuvo 0 pupas en todos los tratamientos.

## 5.DISCUSIÓN

En este estudio analizamos al nitrato como el responsable de generar cambios en la biomasa del perifiton y población de macroinvertebrados. Sin embargo, también se midió el comportamiento de este contaminante en el agua durante el tiempo experimental y como resultado obtuvimos una alta variación de este factor. Li et al. (2016) en su estudio determinaron que el nitrato en una concentración de 6 mg L<sup>-1</sup> tiende a disminuir a partir del quinto día (Anexo 3) . el mismo comportamiento obtenido en este estudio con la concentración más alta 10 mg L<sup>-1</sup> (Fig. 12).

La reducción significativa de la concentración está ligada con la influencia del perifiton en el ciclo del nitrógeno, se ha demostrado que la biomasa del perifiton estimula la desnitrificación cuando las concentraciones de nitrato son altas. Este proceso se da si el nitrógeno se suministra más allá de las necesidades del productor, el exceso de nitrato tiende a ser inmovilizado en forma de nitrógeno orgánico, o desnitrificado (Sedlak y Pehlivanoglu, 2003, Arango et al. 2007). Por otro lado, si el nitrato escasea y no supe las necesidades alimenticias de los organismos, se produce eventualmente la descomposición de la materia orgánica y esto estimula el incremento la concentración de nitratos (Aguiar et al. 2011, Li et al. 2016) fenómeno que se observa en el tratamiento con concentración basal y  $1.8 \text{ mg L}^{-1}$ . Por ende, estos cambios en la concentración estarían ligados al sustrato usado en esta experimentación.

Los resultados de clorofila  $\alpha$  presentan altos niveles de turbidez, este factor fue determinante para el análisis de los resultados obtenidos. Debido a los vacíos en los valores que nos generó la turbidez se decidió hacer una correlación entre la densidad de la clorofila con los demás parámetros físicos químicos y orgánicos medidos. El resultado de esta correlación nos demostró que no existe ninguna asociación significativo entre los factores analizados, es decir, ni el nitratos, ni el color, ni el peso de los individuos se ven influenciados por el comportamiento del perifiton. Estos resultados son distintos a los obtenidos por Keppeler, Valenti y Pereira, 2012 o Filstrup y Downing, 2017. Un factor que pudo haber sido el causante de estos resultados es la temperatura en las unidades experimentales, si bien se describió en metodología que el agua debía estar en un rango de 12 a 14 grados. Sin embargo, la intensidad de las luminarias usadas, o defectos en el aire acondicionado generaron fluctuaciones en la temperatura. Este fenómenos es conocido como estrés hídrico, esto genera es una fotosíntesis muy reducida y por ende muerte de la producción primaria (Tozzi, Easlson y Richards, 2013).

En nuestra hipótesis plateábamos que, a mayor concentración de nitrato la biomasa de perifiton aumentaría y se esperaba que por consecuencia, la población de *Nectosyche* sp. se viera beneficiada por la proliferación de

alimento. Además, se esperaba que se generen alteraciones en las variables físicas de los individuos como el peso y ancho de la cabeza. Sin embargo, este fenómeno solo se dio en el tratamiento de mayor concentración ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ). En el control y los primeros dos tratamientos ( $1.2 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $1.8 \text{ mg L}^{-1}$  y  $2.7 \text{ mg L}^{-1}$ ), hubo una notable disminución en el peso neto de los individuos, pero no es significativa. Esta variación en los pesos podría deberse a la cantidad de materia orgánica disponible (Hove-Jensen, Zechel, y Jochimsen, 2014, Sánchez, 2017), ya que en el tratamiento de  $1.8 \text{ mg L}^{-1}$  hubo una disminución significativa del perifiton, a diferencia del tratamiento de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ .

En los tratamientos  $1.8$ ,  $2.7$  y  $10 \text{ mg L}^{-1}$  existió un aumento del ancho de la cabeza, la cual fue significativa solo para  $2.7 \text{ mg L}^{-1}$ . Este parámetro no se pudo determinar en  $1.2 \text{ mg L}^{-1}$  debido a la muerte del 55% de los individuos que fueron sometidos a esta concentración basal.

Durante el desarrollo del estudio no se formaron pupas en ningún tratamiento. Esto se pudo deber a que los individuos no se les indujo el suficiente nivel de estrés para provocar la formación de pupas (Jimenez, 2010; Koscinczuk, 2014).

## 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1 Conclusiones

Tomando en conjunto todos estos resultados obtenidos se concluye que la presencia de nitratos crea un desequilibrio en el medio acuático. El tratamiento con concentración basal se comportó de forma normal, hubo tanto muerte de del perifiton y de los individuos de *Nectopsyche* sp. debido a que no se incrementaron los nutrientes. Sin embargo, una vez que se añadió nitrato en el agua los tratamientos comenzaron a presentar la respuesta esperada del estudio. La clorofila a disminuyó en el tratamiento de 1.8 mg L<sup>-1</sup> de nitratos y aumentó en los tratamientos de 2.7 y 10 mg L<sup>-1</sup>, este resultado se vio ligado a la supervivencia de los individuos debido a que la presencia o ausencia de clorofila implica la existencia de una fuente de alimento para los organismos. Se pensó que las variables subletales se verían afectadas progresivamente de forma positiva dependiendo de la concentración, es decir, en 1.2 mg L<sup>-1</sup> se vería una disminución peso de individuos, y lo opuesto se esperaba para 10 mg L<sup>-1</sup>. No obstante, el tratamiento intermedio de 1.8 mg L<sup>-1</sup> llamó la atención al ser el más bajo de todos en cuanto a la variable peso, lo que podría deberse a la biodisponibilidad del nitrato en esta concentración.

### 6.2 Recomendaciones

Se debe prever accidentes o influencia de terceros en el área de trabajo con el fin de tener equipos de repuesto disponibles para continuar con el análisis de datos y de esta forma evitar los vacíos en los resultados.

Se debe revisar de manera constante la temperatura del ambiente y del agua, especialmente cuando se trabaja con los macroinvertebrados, para evitar un shock térmico que reduzca la supervivencia de los individuos. El uso de ice pack durante el día, evita que el agua se caliente demasiado debido a las luminarias.

La información obtenida en este estudio demuestra que el enriquecimiento de un cuerpo de agua con nitratos, provenientes de actividades antropogénicas tiende a desequilibrar el medio. Los cambios poblacionales, por ejemplo, fueron observados a partir de  $1.8 \text{ mg L}^{-1}$  por lo que se recomienda considerar estos resultados para futuros cambios en la legislación ambiental ecuatoriana.

## REFERENCIAS

- Acosta, R., Ríos, B., Rieradevall, M., y 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 20 de Mayo de 2018 de: <https://doi.org/10.1042/BJ20130013>
- Aber, J., Nadelhoffer, K., Steudler, P., and Melillo, M. (1989) . Nitrogen saturation in northern forest ecosystems. *BioScience* 39: 378-386. Recuperado el 13 de Junio de: <https://doi.org/10.2307/1311067>
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF). (1992). APHA Method 4500-NO<sub>3</sub> : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Recuperado el 21 de Marzo de 2018 de: <https://archive.org/details/gov.law.apha.method.4500-no3.1992>
- Alcaraz, A., Rey, C., Concha, A., Villanueva, A. (1999). Metahemoglobinemia Transitoria En Una Niña De 13 Años. *Boletín De La Sociedad De Pediatría De Asturias, Cantabria, Castilla Y León* Pp 46. Recuperado el 9 de Febrero de 2018 de: [https://www.sccalp.org/boletin/167/BolPediatr1999\\_39\\_046-047.pdf](https://www.sccalp.org/boletin/167/BolPediatr1999_39_046-047.pdf)
- Bronmark, C. & Weisner, S.E.B. (1992). Indirect effects of fish community structure on submerged vegetation in shallow, eutrophic lakes – an alternative mechanism. *Hydrobiologia*, 243, 293–301. Recuperado el 12 de Abril de 2018 de: <https://doi.org/10.1007/BF00007045>
- Brock, T.C.M., Hammers-Wirtz, M.,& Hommen, U. (2015). *Environ Sci Pollut Res* 22: 1160. Recuperado el 15 de Marzo de 2018 de:

<https://doi.org/10.1007/s11356-014-3398-2>

Canfield, D., Glazer, A., Falkowski, P. (2010). The Evolution and Future of Earth's Nitrogen Cycle. Recuperado el 20 de Mayo de 2018 de: <https://doi.org/10.1126/science.1186120>

Caquet, T. , Lagadic, L. , & Sheffield, S. (2000) . Mesocosms in ecotoxicology. Outdoor aquatic systems. Rev Environ Contam Toxicol 165:1–38. Recuperado el 29 de Marzo de 2018 de: [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1172-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1172-3_1)

Coronel, J. (2011). Estudio de las especies químicas amonio, nitrito y nitrato en el proceso de fijación biológica del nitrógeno del sistema *azolla-anabaena*, mediante técnicas colorimétricas y su aprovechamiento. Universidad de Guayaquil. pp 10-14. Recuperado el 30 de Abril de 2018 de: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/2137>

Cole J.J., Peierls B.L., Caraco N.F., Pace M.L. (1993). Nitrogen Loading of Rivers as a Human-Driven Process. In: McDonnell M.J., Pickett S.T.A. (eds) Humans as Components of Ecosystems. Springer, New York, NY. Recuperado el 17 de Abril de 2018 de: [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-0905-8\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-0905-8_12)

EcoFondo. (2016). Proyecto: "Consolidación de la Conectividad entre las Reservas Cayambe Coca y Antisana al Nor- Oriente ecuatoriano" mediante el Corredor de Conectividad Biológica Tropi-Andino., 1-10. Recuperado el 19 de noviembre de 2017 de [http://www.ecofondoecuador.com/index.php?option=com\\_joomdoc&task=document.download&path=Proyectos/Corredor%20de%20conectividad%20Biologica%20Tropia-Andino%20Napo/Informe%20Sensibilizaci%C3%B3n%20Proyecto%20Napo/Informe%20Final%20Educaci%C3%B3n%20Ambienta%20I.pdf&Itemid=111](http://www.ecofondoecuador.com/index.php?option=com_joomdoc&task=document.download&path=Proyectos/Corredor%20de%20conectividad%20Biologica%20Tropia-Andino%20Napo/Informe%20Sensibilizaci%C3%B3n%20Proyecto%20Napo/Informe%20Final%20Educaci%C3%B3n%20Ambienta%20I.pdf&Itemid=111)

Feuchtmayr, H. , Moran, R. , Hatton, K. , Connor, L. , Heyes, T. , Moss, B. , Harvey, I. & Atkinson, D. (2009). Global warming and eutrophication: effects on water chemistry and autotrophic communities in experimental hypertrophic shallow lake mesocosms. *Journal of Applied Ecology*, 46: 713-723. Recuperado del 11 de Abril de 2018 de: <https://doi.org/10.1111/1365-2664.2009.01644>

Fewtrell, L. (2004). Drinking-Water Nitrate, Methemoglobinemia, and Global Burden of Disease: A Discussion. *Environmental Health Perspectives*, 112(14), 1371–1374. Recuperado el 15 de Marzo de 2018: <http://doi.org/10.1289/ehp.7216>

Galloway, J. Townsend, D. Erismann, J. Bekunda, M. Cai, Z. Freney, J. Martinelli, L. Seitzinger, S. Sutton, M. (2008). Transformation of the Nitrogen Cycle: Recent Trends, Questions, and Potential Solutions. Recuperado el 20 de Mayo de 2018 de: <https://doi.org/10.1126/science.1136674>

Galloway, J. N. , Schlesinger , W., Levy, H., , Michaels, A., and Schnoor, J. (1995). Nitrogen fixation: atmospheric enhancement—environmental response. *Global Biogeochemical Cycles* 9: 235–252. Recuperado el 2 de Febrero de 2018 de: <https://doi.org/10.1029/95GB00158>

Glandon, R., Payne, F., McNabb, M., & Batterson. T. (1980). A comparison of and nitrogen wetland, and rain-related phosphorus loading from urban, agricultural sources . Recuperado el 13 de Mayo de 2018 de: [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(81\)90144-5](https://doi.org/10.1016/0043-1354(81)90144-5)

Gomez, J. , Judson, D. , Harvey, W. , Bayani, M. , & Kiel. B. (2015). Denitrification in the Mississippi River Network Controlled by Flow through River Bedforms. *Nature Geoscience* 8 : 941. Recuperado el 23 de Abril de 2018 de: <https://doi.org/10.1038/NGEO2567>

- Guilcatoma, M. (2018). Identificación el grado de eutrofización en la microcuenca del río Pita. (pp.40-41). Universidad de las Américas. Quito-Ecuador. Recuperado el 12 de Junio de 2018 de: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/9169>
- Hedin, L. O., Armesto, J., & Johnson, H. (1995). Patterns of nutrient loss from unpolluted, old-growth temperate forests: evaluation of biogeochemical theory. *Ecology* 76: 493–509. Recuperado el 9 de Mayo de 2018 de: <https://doi.org/10.2307/1941208>
- Hornsby, H.D., Bohlke, J.K. & Mokrý, M.F. (1999). “Sources and Chronology of Nitrate Contamination in Spring Waters, Suwannee River Basin, Florida.” Report. Water-Resources Investigations Report, USGS Publications Warehouse. Recuperado el 8 de Junio de 2018 de : <https://doi.org/10.3133/wri994252>
- Hornsby, D., & Ceryak, R. (1999). Springs of the Suwannee River Basin in Florida: Suwannee River Water Management District Report WR99-02, 178 p. Recuperado el 4 de Marzo de 2018 de: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Howarth, R. Marino, R . (1988). Nitrogen fixation in freshwater, estuarine, and marine ecosystems. pp 1-3. Recuperado el 18 de Enero de 2018 de: <https://doi.org/10.4319/lo.1988.33.4part2.0669>
- Howarth, R. W. , Billen , G., Swaney, D., Townsend , A., Jaworski , N., Lajtha , K., Downing , A., Elmgren , R., Caraco , N., Jordan , T., Berendse , F., Freney , J., Kudeyarov, H. , & Zhu Zhao-liang. (1996). Regional nitrogen budgets and riverine N & P fluxes for the drainages to the North Atlantic Ocean: Natural and human influences. *Biogeochemistry* 35: 181–226. Recuperado el 21 de Enero de 2018 de:

<https://doi.org/10.1007/BF02179825>

Huamantico, A., & Ortiz, W. (2010) Recuperado el 29 de Marzo de 2018 de: Clave de géneros de larvas de Trichoptera (Insecta) de la Vertiente Occidental de los Andes, Lima, Perú <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v17i1.54>

Katz, B.G. (1992) . Hydrochemistry of the Upper Floridan aquifer in Florida. U.S. Geological Survey Water Resources Investigations Report 91-4196, 37 p. Recuperado el 11 de Mayo de 2018 de: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Khan, F. A., Naushin, F., Rehman, F., Masoodi, A., Irfan, M., Hashmi, F., & Ansari, A. A. (2014). Eutrophication: Global Scenario and Local Threat to Dynamics of Aquatic Ecosystems. In Eutrophication: Causes, Consequences and Control (pp. 17-27). Recuperado el 16 de Abril de 2018 de: [https://doi.org/10.1007/978-94-007-7814-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-007-7814-6_2)

Lamberti, G. A., Gregory, S. V, Ashkenas, L. R., & Steinman, A. D. (2013). Productive Capacity of Periphyton as a Determinant of Plant-Herbivore Interactions in Streams, 70(6), 1840–1856. Recuperado el 3 de Mayo de 2018 de: <https://doi:10.2307/1938117>

Lewis, W.M., Wurtsbaugh, W.A., Paerl, H.W. (2011). Rationale for control of anthropogenic nitrogen and phosphorus to reduce eutrophication of inland waters. Environ. Sci. Technol. 45, 10300–10305. Recuperado el 15 de Mayo de 2018 de: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Li J.H., Zhang J.B., Huang W., Kong F.L., Li Y., Xi M. & Zheng Z. (2016) Comparative bioavailability of ammonium, nitrate, nitrite and urea to typically harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Marine

Pollution Bulletin, 110, 93-99. Recuperado el 13 de Junio de 2018 de: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.077>

Maddox, G.L., J.M. Lloyd, T.M. Scott, S.B. Upchurch, and R. Copeland, eds., 1992, Florida's Ground-Water Quality Monitoring Network Program: Background Hydrogeochemistry, Florida Geological Survey Special Publication no. 34, 364 p. Recuperado el 14 de Enero de 2018 de: <http://aquaticcommons.org/id/eprint/1307>

Ministerio del Ambiente - Ecuador. (2012). Texto Unificado Legislación Secundaria, Medio Ambiente (TULSMA), 1–319. Recuperado el 11 de Mayo de 2018 de: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu112180.pdf>

Moldan B. & Cerny K. (1994). Biogeochemistry of Small Catchments: A Tool For Environmental Research, pp. 1–419. Wiley, Chichester, England.

Muhanova, K. (2009). Modeling of the Nitrogen Cycle in the Sediments of the Western Gotland Basin, Baltic Sea . Royal Institute of Technology. pp 2-10. Recuperado el 25 de Abril de 2018 de: <http://kth.diva-portal.org/smash/get/diva2:413105/fulltext02>

Oonk , H. ,& Kroeze, C. (1998) . Nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) emissions and control. In: RA Meyers (ed) Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation. John Wiley & Sons Inc (In Press). Recuperado el 2 de Febrero de 2018 de: <https://doi.org/10.1029/95GB00158>

OECD/OCDE . (1991) . Estimation of Greenhouse Gas Emissions and Sinks. Final report from the OECD Experts Meeting, 18-21 Feb., 1991. Prepared for Intergovernmental Panel on Climate Change. Recuperado el 8 de Abril de 2018 de: <https://catalogue.nla.gov.au/Record/4136570>

Ríos-Touma, B., & Encalada, A. (2015). Biomasa de algas bentónicas en ríos

de páramo. In C. Larrea, F. Cuesta, A. López, N. Greene, P. Iturralde, G. Maldonado, & D. Suárez-Duque (Eds.), *Propuesta de Indicadores Nacionales de Biodiversidad: una contribución para el sistema nacional de monitoreo del patrimonio natural y para la evaluación del impacto de la implementación de la Estrategia Nacional de Biodiversidad y su Plan de Acción 2015-2* (1st ed., pp. 131–133). Quito - Ecuador: MAE, CONDESAN, GIZ, PNUD-FMAM, USAB.

Sánchez, C. (2018). Determinación de cambios fisiológicos en *Nectopsyche* sp (Género Leptoceridae Thricopethera) en presencia de aguas a distintas concentraciones. Universidad de las Américas. Quito- Ecuador. Recuperado el 15 de Enero de 2018 de: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/8685>

Schindler, D. W. , Newbury , R., Beaty , K., Prokopowich , J., Ruszczynski , T. , & Dalton, J. (1980). Effects of a windstorm and forest fire on chemical losses from forested watersheds and on the quality of receiving streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37: 328–334. Recuperado el 2 de Febrero de 2018 de: <https://doi.org/10.1029/95GB00158>

Sliv, D. & Williams, D. (2001). Buffer Zone versus Whole Catchment Approaches to Studying Land Use Impact on River Water Quality. Elsevier Science, pp 3462. Recuperado el 8 de Abril de 2018 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11547869>

Smith V.H , Tilman G.D & Nekola J.C. (1999) . Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. Pp 180-181. Recuperado el 19 de Junio de 2018 de: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Steinman, A. D., Lamberti, G. A., & Leavitt, P. R. (2007). Biomass and Pigment

of Benthic Algae. In R. F. Hauer & G. A. Lamberti (Eds.), *Methods in Stream Ecology*. (Second Edi, pp. 357–379). Elsevier. Recuperado el 3 de Marzo de 2018 de: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416558-8.00012-3>

Tamm C.O. (1991) Introduction: Geochemical Occurrence of Nitrogen. Natural Nitrogen Cycling and Anthropogenic Nitrogen Emissions. In: *Nitrogen in Terrestrial Ecosystems. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*, vol 81. Springer, Berlin, Heidelberg. Recuperado el 9 de Abril de: <https://doi.org/10.1118/CTM9781107415324.123>

Turner, R., & Rabalais, N. (1991). Changes in Mississippi River Water Quality This Century. *BioScience*, 41(3), 140-147. Recuperado el 1 de Abril de 2018 de: <https://doi.org/10.1017/BBA9781106516525.0023>

Vollenweider R. A. (1968) Scientific fundamentals of the eutrophication of lakes and flowing waters, with particular reference to nitrogen and phosphorus as factors in eutrophication, 192 pp.; Annex, 21 pp.; Bibliography, 61 pp. Rep. Organization for Economic Cooperation and Development, DAS/CSI/68.27, Paris. Recuperado el 15 de Abril de 2018 de: <https://doi.org/10.1017/CAO9781107415324.025>

Vitousek, P. M., Aber, J. D., Howarth, R. W., Likens, G. E., Matson, P. A., Schindler, D. W., Schlesinger, W. H. & Tilman, D. G. (1997). Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and Consequences. *Ecological Applications*, 7: 737-750. Recuperado el 23 de Mayo de 2018 de: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.000555>.

Ward, M. , Levallois, P. , Brender, J. , Gulis, G. , Bernard, T. & VanDerslice, J. (2005). Workgroup Report: Drinking-Water Nitrate and Health—Recent Findings and Research Needs. *Environ Health Perspect* 113:1607–1614 Recuperado el 7 de Mayo de 2018 de: <https://doi:10.1289/ehp.8043>

White, F. C., J. R. Hairston, W. N. Musser, H. F. Perkins, and J. F. Reed. 1981. Relationship between increased crop acreage and nonpoint-source pollution: a Georgia case study. *J. Soil Water Conserv.* 36: 172-177. Recuperado el 1 de Abril de 2018 de: <https://doi.org/10.2489/jswc.73.3.284>

## **ANEXOS**

**ANEXO 1.** Resultados del análisis de clorofila  $\alpha$  de los diferentes tratamientos (1.2, 1.8, 2.7 y 10 mg L<sup>-1</sup>) durante los días de experimentación en el agua.

	Día 1		Día 2		Día 5		Día 6					
Concentración mg L <sup>-1</sup>	e664b	e665a	Clorofila $\mu\text{g cm}^{-2}$	e664b	e665a	Clorofila $\mu\text{g cm}^{-2}$	e664b	e665a	Clorofila $\mu\text{g cm}^{-2}$			
1.2	0.001	0.001	0	0.003	0.002	3	0.002	0.002	0	0.002	0.003*	0
1.8	0.010	0.003	20	0.006	0.000	17	0.001	0.004*	0	0.006*	0.009	0
2.7	0.009	0.000	25	0.002	0.000	5	-0.006*	-0.005*	0	-0.002	0.007*	0
10	0.003	0.000	8	0.009	0.003	17	0.006	0.003	8	0.002*	-0.002	0

Nota1: El resultado negativo en e664b, \* indica turbidez en la muestra durante la medición.

Nota 2: En la columna e665a, \* indica que la presencia feofitina



**Anexo 2.** Resultados del análisis de clorofila  $\alpha$  de los diferentes tratamientos (1.2, 1.8, 2.7 y 10 mg L<sup>-1</sup>) durante los días de experimentación en baldosas.

Concentración mg L <sup>-1</sup>	Dia 7			Dia 8			Dia 9			Dia 10		
	e664b	e665a	Clorofila $\mu\text{g cm}^{-2}$	e664b	e665a	Clorofila $\mu\text{g cm}^{-2}$	e664b	e665a	Clorofila $\mu\text{g cm}^{-2}$	e664b	e665a	Clorofila $\mu\text{g cm}^{-2}$
<b>1.2</b>	0.001	0.000	3	0.000	0.000	0	0.000	0.000	0	0.000	0.000	0
<b>1.8</b>	0.002	- 0.003*	14	0.004	- 0.003*	20	0.001	0.000	3	0.000	0.000	0
<b>2.7</b>	0.003	0.002	3	0.000	0.000	0	0.001	0.003	0	0.003	0.000	8
<b>10</b>	0.011	0.003	22	0.007	0.002	14	0.000	- 0.005*	0	0.015	0.000	42

Nota1: El resultado negativo en e664b, \* indica turbidez en la muestra durante la medición.

Nota 2: En la columna e665a, \* indica que la presencia feofitina (Clorofila degradada) en el agua fue mayor que clorofila  $\alpha$ .

**Anexo 3.** Variación de nitrógeno en medio de cultivo bajo diferentes fuentes de N. Tomado de Li et al. 2016

