



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

EFFECTOS DEL INCREMENTO DE FOSFATOS EN UN SISTEMA  
EXPERIMENTAL, USANDO BIOMASA DEL PERIFITON Y  
MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS COMO INDICADORES.

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

Profesor Guía

PhD, Christian Patricio Villamarín Flores.

Autor

Olger Jair Mariño Castro

Año

2019

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, Efectos del incremento de fosfatos en un sistema experimental, usando biomasa del perifiton y macroinvertebrados acuáticos como indicadores, a través de reuniones periódicas con el estudiante Olger Jair Mariño Castro, en el semestre 201920, 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

CI: 1002339404

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, Efectos del incremento de fosfatos en un sistema experimental, usando biomasa del perifiton y macroinvertebrados acuáticos como indicadores, de Olger Jair Mariño Castro, en el semestre 201920, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

---

José Vicente Montoya Ceballos

Doctor en Vida Silvestre y Pesquerías

CI: 1759185737

## 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.”

---

Olger Jair Mariño Castro

CI: 1600603375

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecer a Dios por la salud. A los Dres. Christian Villamarín, José Montoya y técnicos encargados del centro de investigación de la UDLA, por el apoyo, ayuda y confianza brindada en el desarrollo de esta investigación.

## DEDICATORIA

A mis padres Olger Mariño y Cecilia Castro por el apoyo incondicional, los valores de perseverancia, para lograr este objetivo muy importante, para desarrollarme profesionalmente, también a mi novia Marjorie Sarmiento por su apoyo durante mi carrera.

## RESUMEN

El proceso de eutrofización está ligado a la carga de nutrientes que a menudo se asocia a actividades antropogénicas. El fósforo limita el crecimiento de algas, lo que resulta en una baja productividad. En Ecuador, no se han desarrollado estudios experimentales sobre los efectos de la contaminación por fósforo en ecosistemas andinos acuáticos a diferentes concentraciones. El objetivo de esta investigación fue evaluar la relación entre el cambio en la biomasa del perifiton y el impacto en el ciclo de vida de los macroinvertebrados acuáticos (*Nectopsyche* sp.), utilizando diferentes concentraciones de fosfato. Para este estudio fue diseñado un experimento de microcosmos empleando cuatro tratamientos basados en las concentraciones de fósforo relacionadas con el uso agrícola-ganadero y el uso del suelo urbano de la cuenca del río Guayllabamba. También se consideró el valor máximo permisible según la Normativa Ecuatoriana. El proceso de colonización de algas en biopelícula comenzó 14 días antes del experimento, para garantizar la presencia de perifiton en cada tratamiento. Los resultados indicaron un aumento de biomasa debido al enriquecimiento con fosfatos. Existió mayor acumulación de productores primarios, y fuerte disminución de componentes de materia orgánica, debido a que el sistema cambió a ser ligeramente autotrófico. La conductividad se incrementó tanto en el tiempo como en los distintos tratamientos por evaporación de agua en microcosmos. Con respecto a las variables subletales como el ancho de cabeza o el peso de los individuos, hubo un aumento en todos los tratamientos. Siendo estadísticamente significativos el ancho en los tratamientos de 1 y 10 mg/L. Las tasas de mortalidad de los individuos fueron más altas en el tratamiento de 20 mg/L donde registró un 35% de organismos muertos de la población total. En conclusión, a medida que aumentan las concentraciones de fosfatos en los ríos contaminados, la tasa de supervivencia de *Nectopsyche* se ve afectada negativamente. Esto podría deberse a los cambios registrados en la conductividad que afectan a los procesos de osmoregulación y atrofia de los órganos respiratorios.

## ABSTRACT

The process of eutrophication is linked to nutrient loading that often is associated to anthropogenic activities. Phosphorus constraints algae growth, resulting in a low productivity. In Ecuador, no experimental studies have been carried out on the effects of phosphorus pollution on aquatic Andean ecosystems at different concentrations. The objective of this research was to evaluate the relationship between in periphyton biomass concentrations change and aquatic macroinvertebrate (*Nectopsyche* sp.) life history impact under different phosphate concentrations. Microcosm experiment was designed using four treatments based on phosphorus concentrations related to agricultural-livestock and urban land use of the Guayllabamba river basin. The maximum permissible value according to Ecuadorian regulations was also considered. The algal biofilm colonization process started 14 days before the experiment, to guarantee the presence of periphyton on all treatments. The results indicated an increase in biomass due to phosphate enrichment. There was a higher accumulation of primary producers and a strong decrease in organic matter components, because system changed to be slightly autotrophic. Conductivity increased in both time and in the different treatments by water evaporation in microcosms. With respect to sublethal variables such as head width or weight of the individuals, there was an increase in all treatments. Being statistically significant the width in 1 and 10 mg/L treatments. The mortality rates were higher in 20 mg/L treatment with a 35% dead organisms of the total population. In conclusion, as concentrations in phosphate polluted rivers increase, the *Nectopsyche* survival rate is negatively affected. This could be due to conductivity changes that affects osmoregulation processes and atrophy of respiratory organs.



# INDICE

<b>1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. Antecedentes .....	1
1.2. Justificación .....	2
1.3. Alcance .....	3
1.4. Objetivos.....	4
1.4.1. Objetivo General .....	4
1.4.2. Objetivos específicos .....	4
1.5. Hipótesis .....	4
1.5.1. Hipótesis Alternativa .....	4
1.5.2. Hipótesis Nula.....	4
<b>2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO</b> .....	5
2.1. Eutrofización .....	5
2.2. Crecimiento de la biomasa de Perifiton .....	5
2.3. Fosfatos .....	6
2.4. Métodos de experimentación con comunidades acuáticas .....	7
2.5. El género <i>Nectopsyche</i> s.p (Leptoceridae-Trichoptera).....	8
<b>3. CAPÍTULO III. METODOLOGÍA</b> .....	10
3.1. Condiciones experimentales.....	10
3.1.1. Colonización del Perifiton .....	11
3.2. Diseño de la experimentación con diferentes concentraciones de Fosfatos.....	11
3.3. Área de muestreo .....	12
3.4. Recolección de muestras de agua .....	13
3.5. Recolección de los individuos de <i>Nectopsyche</i> .....	13
3.6. Análisis Físico-químicos .....	14
3.6.1. Medición de Fosfatos.....	14
3.7. Variables de medición biológicas (Biopelículas) .....	14
3.7.1. Cuantificación de clorofila <i>a</i> del perifiton.....	14

3.7.2 Materia Orgánica .....	16
3.7.3 Índice Autotrófico .....	16
3.8 Variables de medición biológicas ( <i>Nectopsyche</i> ) .....	16
3.8.1 Peso del individuo.....	16
3.8.2 Ancho de la cabeza del individuo.....	16
3.8.3 Mortalidad .....	17
3.9 Análisis de Datos.....	17
<b>4. CAPÍTULO IV. RESULTADOS .....</b>	<b>18</b>
4.1 Variables Físico-químicas .....	18
4.1.1 Fosfatos.....	18
4.1.2 Temperatura .....	19
4.1.4 Conductividad .....	20
4.1.5 Oxígeno (mg/L).....	21
4.2 Variables Respuesta de Biopelículas .....	22
4.2.1 Clorofila.....	22
4.2.2 Materia Orgánica .....	23
4.2.3 Índice Autotrófico .....	25
4.3 Variables Respuesta de <i>Nectopsyche</i> .....	26
4.3.1 Variables de Medición Subletal .....	26
4.3.1.1 Peso de macroinvertebrados .....	26
4.3.1.2 Ancho de las cabezas.....	28
4.3.2 Variable de Medición Letal .....	30
4.3.2.1 Mortalidad .....	30
<b>5. CAPÍTULO V. DISCUSIÓN .....</b>	<b>31</b>
<b>6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>36</b>
6.1 Conclusiones .....	36
6.2 Recomendaciones.....	37
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>38</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>50</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Unidades experimentales adecuadas con tratamientos de fosfatos para ofrecer un ambiente óptimo para el desarrollo de algas.....	10
Figura 2. Proceso de colonización dentro de microcosmos usando baldosas de cerámica.....	11
Figura 3. Tratamientos a distintas concentraciones de fosfatos: 1, 10 y 20 mg/L más el control, con 5 réplicas por tratamiento y 3 repeticiones por unidad experimental. ....	12
Figura 4. Río Alambi, lugar de recolección de organismos del género Nectopsyche y muestras de agua. ....	13
Figura 5. Imagen de la medición de cabeza de Nectopsyche sp., en la fase final.....	17
<i>Figura 6.</i> Concentración de fosfatos en los diferentes tratamientos propuestos en el experimento: Control línea color azul, 1 mg/L línea color rojo, 10 mg/L línea color verde y 20 mg/L línea color amarillo. Las agrupaciones homogéneas en Tratamientos están representadas con letras de color rojo en la parte izquierda del gráfico. ....	19
<i>Figura 7.</i> Temperatura en los diferentes tratamientos propuestos en el experimento: Control línea color azul, 1 mg/L línea color rojo, 10 mg/L línea color verde y 20 mg/L línea color amarillo. Las agrupaciones homogéneas con respecto a Días están representadas con letras de color azul en la parte superior del gráfico.....	19
<i>Figura 8.</i> pH en los diferentes tratamientos propuestos en el experimento: Control línea color azul, 1 mg/L línea color rojo, 10 mg/L línea color verde y 20 mg/L línea color amarillo. Las agrupaciones homogéneas en Días están representadas con letras de color azul en la parte superior del gráfico. ....	20
<i>Figura 9.</i> Conductividad en los diferentes tratamientos propuestos en el experimento: Control línea color azul, 1 mg/L línea color rojo, 10 mg/L línea color verde y 20 mg/L línea color amarillo. Las agrupaciones homogéneas en Días están representadas con letras de color azul en la parte superior, mientras que en la parte izquierda del gráfico las letras de color rojo se	

refieren a Tratamientos. ....	21
<i>Figura 10.</i> Oxígeno (mg/L) en los diferentes tratamientos propuestos en el experimento: Control línea color azul, 1 mg/L línea color rojo, 10 mg/L línea color verde y 20 mg/L línea color amarillo. Las agrupaciones homogéneas en Días están representadas con letras de color azul en la parte superior del gráfico.....	22
<i>Figura 11.</i> Densidad de clorofila en los diferentes tratamientos propuestos en el experimento: Control línea color azul, 1 mg/L línea color rojo, 10 mg/L línea color verde y 20 mg/L línea color amarillo. ....	23
<i>Figura 12.</i> Cantidad de M.O con respecto al tiempo (días) en la experimentación. Las agrupaciones homogéneas en Días están representadas con letras de color azul en la parte superior. ....	24
<i>Figura 13.</i> Pérdida de masa de M.O con respecto a la concentración (Control, 1, 10 y 20 mg/L) en la experimentación.....	25
<i>Figura 14.</i> Índice autotrófico durante el tiempo (días) en la experimentación. .	25
<i>Figura 15.</i> Peso neto de macroinvertebrados en la experimentación con tratamientos de fosfatos. Las agrupaciones homogéneas en Días están representadas con letras de color azul en la parte superior, mientras que en la parte inferior las letras de color rojo se refieren a Concentración.....	27
<i>Figura 16.</i> Tasa de crecimiento (gr/día) del peso neto de macroinvertebrados en la experimentación con tratamientos de fosfatos.....	28
<i>Figura 17.</i> Ancho de la cabeza de macroinvertebrados en la experimentación con tratamientos de fosfatos. Las agrupaciones homogéneas en Días están representadas con letras de color azul en la parte superior. ....	29
<i>Figura 18.</i> Tasa de crecimiento (gr/día) del ancho de la cabeza de macroinvertebrados en la experimentación con tratamientos de fosfatos.....	30
<i>Figura 19.</i> Supervivencia de macroinvertebrados del género <i>Nectopsyche</i> en la experimentación a concentraciones de Control, 1, 10 y 20 mg/L. ....	30

## 1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Antecedentes

El agua es una fuente indispensable en la vida de los seres vivos y un recurso valioso para su desarrollo en cualquier ambiente. Pero, actualmente estamos inmersos en una crisis que provocan presiones sobre los recursos hídricos. Esto se debe al crecimiento acelerado de la población y los ecosistemas urbano-industriales que afectan a la biodiversidad (Ghersa, 2007), la cual crece para el desarrollo económico y con poco control en las prácticas de gestión ambiental (Senante, Sancho & Garrido, 2012). Los ríos terminan siendo los ecosistemas más afectados debido al incremento de contaminantes, por las descargas que provienen de la infraestructura urbana y que han dado como resultado la degradación de la calidad del agua en ríos altoandinos (Carpenter, et al., 1998). El aporte de aguas residuales, contienen altas concentraciones de fosfatos, que ocasionan un decrecimiento en la calidad ecológica de los ríos (Feuchtmayr et al., 2009).

Cuando un medio acuático está ligado con fuentes antropogénicas de nutrientes como fósforo y nitrógeno, son capaces de producir un proceso de eutrofización (Camargo, 2007), causando que el agua cambie sus características fisicoquímicas (Paredes & Ramos, 2014). El enriquecimiento de las aguas por altos niveles de nutrientes ayuda a que las algas crezcan, y estas a su vez disminuyen la disposición de oxígeno en el agua, provocando un cambio de estado en los ecosistemas acuáticos, y con ello eliminando la escasa flora y fauna que existe (Navalpotro et al., 2009).

Las actividades humanas que aportan fosfatos provienen de los desechos urbanos, ya sea por el uso doméstico, industrial, residuos agrícolas, o como detergente de uso industrial y doméstico (Putz, 2008). La mayor parte de tiempo estos desechos son llevados a los ríos, arroyos y lagos, provocando un daño al ambiente a nivel mundial (Lavie et al., 2010). En el Ecuador se realizaron estudios en los ríos de la cuenca alta del Guayllabamba, los cuales tienen

una alta cantidad de residuos urbanos (Guilcatoma, 2018). Por ejemplo, los fosfatos en zonas urbanas oscilan entre 0,52 a 36,70 mg/L, mientras que en las zonas rurales varían de 0,17 a 0,94 mg/L, lo que hace suponer que el primer uso del suelo aporta más fosfatos por uso de detergentes, aportes de materia orgánica, fertilizantes y minerales del suelo (Checa, 2018). Los ecosistemas acuáticos son contaminados y los procesos de alteración del medio acuático como la eutrofización, son más frecuentes.

Los procesos de contaminación en ríos andinos son más frecuentes en el transcurso de los años, debido a la falta de control ambiental y exceso de actividades antropogénicas, las mismas que han dado origen a procesos de contaminación como la eutrofización (Yuan y Pollard, 2015), causando que los organismos presentes en ríos altoandinos puedan morir y de esta manera provocan que la estructura de las comunidades acuáticas sufra alteraciones significativas (Wetzel, 2001).

En Ecuador los estudios realizados por: Carrera (2013), Checa (2018) y Guilcatoma (2018), entre otros muestran que solo pocos ríos sobrepasan el máximo permisible de fosfatos, es decir, 10 mg/L que es la concentración máxima de fosfatos permitida por la normativa del Tulsma Libro VI Anexo I, verificado por el Ministerio del Ambiente con respecto a las descargas líquidas a un cuerpo de agua dulce (Ministerio del Ambiente - Ecuador, 2017).

## 1.2. Justificación

La contaminación a causa del aumento de nutrientes en ríos ha generado el proceso de eutrofización, que altera los ambientes acuáticos en lugares con altos contenidos de nutrientes, afectando la relación que existe entre la carga de nutrientes, la biomasa de algas, oxígeno disuelto y turbidez de los cuerpos de agua. Por ende, se produce un desequilibrio en la productividad y las funciones ecosistémicas acuáticas (Pradesh, 2005, pp. 459- 462).

En la actualidad han incrementado la cantidad de ecosistemas acuáticos alto andinos que muestran disminución en la calidad de agua, cambiando su composición biológica (Kiersch et al., 2004, p. 829). Siendo estos los que aportan diversidad de flora, fauna y un rol ecológico fundamental para el desarrollo y sustento de la vida acuática.

Así como en Perú, ciertos ecosistemas acuáticos que se encuentran a más de 3800 m de altitud, registraron crecimiento de algas, alterando a las funciones del agua (Samanez & Lopez, 2014, p.224). De igual manera, en Tucumán (Argentina) la relación entre el estado trófico y las alteraciones fisicoquímicas de embalses han producido un aumento de 66 taxones de algas en cuerpos hídricos, puesto que evidencia altas concentraciones de biomasa de fitoplancton (Seeligmann & Tracanna, 2009, p.109). Otro ejemplo existente se encuentra en Ecuador, siendo los ecosistemas más afectados los ríos alto andinos, como consecuencia de las actividades antropogénicas, como la deforestación, agricultura, expansión agrícola, la minería, actividades domésticas etc. (Ordoñez, 2011, pp.3-4).

La presencia de fosfatos en los ecosistemas acuáticos ha sido un problema recurrente de la contaminación por aportes de materia orgánica. La presencia de este compuesto, es producto del uso de detergentes o fertilizantes y agroquímicos fosforados de zonas aledañas a los cuerpos hídricos (Institute for Water Quality, Resources & Waste Management, 2012, pag. 27). Una actividad que frecuentemente realiza la población mundial es la agricultura, para lo cual se necesita abonos minerales que contienen alto contenido de fosfatos, y de esta forma mejorar las condiciones de los cultivos, que a su vez conlleva a tener un incremento de nutrientes que son vertidos en aguas superficiales por escorrentía (Putz, 2011, pág. 2).

### 1.3. Alcance

El presente trabajo de investigación se realiza de forma experimental, en las instalaciones de la UDLA en los laboratorios de la Dirección General de Investigación. Para este estudio se usaron microcosmos, como unidades

experimentales que simulan las condiciones del río. En la experimentación se demostró los efectos de distintas concentraciones de fosfatos sobre la biomasa del perifiton, así como los efectos letales y subletales sobre un tipo de tricóptero del género *Nectopsyche*.

## 1.4 Objetivos

### 1.4.1 Objetivo General

- Determinar los efectos del incremento de fosfatos sobre la biomasa del perifiton y macroinvertebrados acuáticos en un sistema experimental.

### 1.4.2 Objetivos específicos

- Analizar los cambios en la biomasa del perifiton a diferentes concentraciones de fosfatos, mediante la medición de clorofila.
- Definir los efectos subletales de *Nectopsyche* a nivel morfológico en distintas concentraciones de fosfatos.

## 1.5 Hipótesis

### 1.5.1. Hipótesis Alternativa

El aumento de fosfatos incrementa la acumulación de biomasa del perifiton, mejorando las posibilidades de supervivencia de *Nectopsyche sp.*

### 1.5.2. Hipótesis Nula

El aumento de fosfatos no influye en la acumulación de biomasa del perifiton, por lo que la supervivencia de *Nectopsyche sp.*, no sufrirá cambios.



## 2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Eutrofización

La eutrofización es el incremento de nutrientes presentes en el agua, siendo los compuestos de fósforo y nitrógeno los más importantes (Rivas, 2009). Este proceso genera un elevado crecimiento de algas, dando paso al incremento de ciertas especies en floraciones algales, para luego seguir con la propagación, senescencia y descomposición (Pozo, 2011). El enriquecimiento de las aguas por nutrientes disminuye la concentración de oxígeno disuelto (Hoback y Stanley, 2001), además, genera perturbaciones en el equilibrio de los organismos presentes en el agua, y por ende afectando a la calidad física y química de la misma (European Commission Directive, 1998). De esta manera, la eutrofización se considera un problema importante que en la actualidad la gestión de aguas superficiales tiene que enfrentar (Smith & Schindler, 2009), además de representar una amenaza en el futuro de la salud humana y los cuerpos hídricos (Kennish & De Jonge, 2012).

En nuestro país al igual que en el resto del mundo se evidencia problemas de contaminación en los ecosistemas acuáticos, debido a las actividades humanas que originan descargas de aguas residuales, tales como: fertilizantes, productos de limpieza, detergentes, es decir, descargas industriales y domésticas que han originado procesos de eutrofización (Checa, 2018).

### 2.2 Crecimiento de la biomasa de Perifiton

El perifiton es una comunidad compleja de microbiota (algas, bacterias, hongos, animales, detritos orgánicos e inorgánicos) que se encuentra adherida a un sustrato que puede ser orgánico o inorgánico (Wetzel, 1983). El perifiton desempeña un papel fundamental en los ecosistemas acuáticos al ser responsables de la fijación de carbono inorgánico, así mismo, ayudan en el reciclaje de nutrientes y por sus características ecológicas, son útiles como bioindicadores de la calidad del agua (Roldán y Ramírez, 2008).

El rol fundamental del perifiton radica en los procesos de transferencia de energía, por lo que es importante estudiar desde la perspectiva ecológica, así como también el punto de vista ambiental, debido a que la estructura y composición sirven como indicadores de calidad de agua y contaminación en ríos (Montoya & Aguirre, 2013). Es importante mencionar que tiene un periodo de vida corto y su funcionamiento es alto, por lo que actúa aceleradamente a las modificaciones ambientales y trabajan como sensores confiables y sensibles de estas (Rodríguez, Zanon, Carapurnala, & Biolo, 2008).

En los ecosistemas acuáticos el perifiton cumple un rol muy importante debido a que entrega metabolitos orgánicos a distintos individuos, contribuyendo al incremento de la biomasa, que será utilizada por macroinvertebrados, lo que mejora el funcionamiento de ciertos ecosistemas, los cuales pueden ser de origen natural o antropogénico (Azim et al., 2005). El perifiton es un abastecedor de alimento ya que tiene minerales, proteínas y vitaminas, para organismos consumidores, que raspan la parcela de la flora donde se desarrolla el perifiton (Rodríguez et al., 2003; Moschini, 1999).

### 2.3 Fosfatos

Se considera al fósforo como un componente esencial para el crecimiento de organismos acuáticos, este elemento se localiza en pequeñas cantidades en ríos y lagos, mientras que el nitrógeno y carbono se encuentran en cantidades abundantes. De esta manera, el crecimiento excesivo de algas en ríos, en la mayor parte de casos se puede reducir o impedir limitando solo la provisión de fósforo. La limitación de nutrientes explica la dinámica de crecimiento del fitoplancton y escasez de biomasa, además, es un factor denso-dependiente efectivo para que la población regrese a un estado estable después de una perturbación, (Arthur, 1987). Existen tres formas de fósforo: particulado (orgánico), ortofosfatos e inorgánico (polifosfatos), los cuales tarde o temprano se descomponen en el agua en forma de ortofosfatos (Glynn, Heinke & Escalona, 1999, pp. 318).

Por otro lado, actualmente se está explotando a gran escala los depósitos con roca estática, ya que el fósforo se halla en los sedimentos, y así, se lo puede usar para la elaboración de fertilizantes que son utilizados en la agricultura (Raven, Evert & Eichhorn, 1992, pp. 535).

Existen minerales como la fosforita y el apatito que contienen cantidades de fósforo, que llega a representar el 11% de la masa de la litosfera, y como ya se dijo aparece de manera compuesta en la naturaleza (Beyer & Fernández, 2004, pág. 194), constituyendo el 77 por ciento de la producción de todo el mundo de minerales.

El fosfato es un mineral que se encuentra presente en la composición de los detergentes, los mismos que funcionan como blanqueadores, siendo contaminantes que no se descomponen fácilmente por la actividad bacteriana, puesto que poseen una cadena alquílica larga y adicionalmente sales de ácidos sulfónicos. De esta manera impiden el proceso de fotosíntesis en los ecosistemas acuáticos y además provoca que los macroinvertebrados tengan problemas en las branquias, ocasionando la muerte temprana de los mismos (FCEA, 2007).

En nuestro país, es frecuente que cerca de ríos alto andinos, existan asentamientos poblacionales que normalmente se dedican a la agricultura y ganadería, la cual es fuente de contaminación difusa provocada por estas actividades y es la causa principal del deterioro de la calidad de sus ecosistemas acuáticos, ya que aportan grandes cantidades de fosfato que causan procesos de eutrofización (Fernández, 2011).

#### 2.4 Métodos de experimentación con comunidades acuáticas

Los métodos de experimentación son utilizados para imitar la realidad de un hábitat acuático en un laboratorio. Unidades experimentales que normalmente son utilizadas en laboratorio son los mesocosmos y microcosmos, principalmente para realizar estudios ecotoxicológicos y ecológicos, éstos se componen por elementos que se hallan en sistemas naturales (Cañedo-

Arguelles et al, 2013). Posteriormente con estos sistemas se puede determinar los efectos que producen los contaminantes ambientales presentes y con esto analizar su efecto sobre los organismos de estudio, considerando todas las variables presentes (Ramos, 2010). Son sistemas que son puestos a prueba y se implantan de forma artificial, para esto se plantea una hipótesis que relaciona la interacción de los individuos con la alimentación, o sobre los efectos que posee un químico en el ambiente (Caquet et al., 2000).

Un método que se usa con frecuencia son los mesocosmos, puesto que nos permiten separar los efectos que presentan los diferentes contaminantes del medio, y de esta forma mantener un control de las condiciones experimentales, por este método se conoce de una manera más rápida el destino del tóxico, por su efectividad a gran escala (Cañedo-Arguelles et al. 2012). Según Schindler (1987) afirma que esta unidad experimental aparenta ciertas características reales de su ambiente original, sin embargo, debido a su diseño la precisión al momento de extrapolar los resultados siempre conlleva un margen de error.

Otro de los métodos de experimentación son los microcosmos, ya que es un sistema experimental que puede ser usado en laboratorio con alta efectividad. Puesto que trata de representar procesos con muestras que se obtienen del medio acuático, y de esta forma se puede examinar el fin que tendrá el contaminante y como esto afecta a los organismos (Van Leeuwen & Vermeire, 2007). Los microcosmos también se usan para medir ciertos parámetros ecológicos que tienden a afectar la rutina de las poblaciones, la biodiversidad, el ciclo de los nutrientes y la forma de respuesta de la población frente a cambios de ciertas especies que son más perceptivas (Murialdo, 2016).

## 2.5 El género *Nectopsyche* s.p (Leptoceridae-Trichoptera)

Las larvas que pertenecen al orden Trichóptera son componentes indispensables en la fauna de invertebrados bentónicos de ríos y quebradas. Este grupo por su alta capacidad para trabajar con diferentes materiales y por elaborar lugares temporales seguros, son muy reconocidos, y de esta manera

son llamados los arquitectos del agua (Wiggins, 2004). Tienen una función de intermediario en las cadenas tróficas presentes de los ríos y arroyos (Mackay & Wiggins, 1979). Estas especies en su mayor parte son dependientes de fuentes acuáticas para desenvolverse, puesto que originalmente viven en ríos sin presencia de contaminantes, con oxígeno suficiente, sabiendo que también se desarrollan en ecosistemas lénticos, terrestres y marinos (Zamora, Bariáin, & Bonada, 2015).

El género *Nectopsyche* (Leptoceridae-Trichóptera), cuando se encuentran como larvas, tienen antena corta y un color naranja oscuro, viven especialmente en zonas rocosas, y pueden llegar a medir hasta 15 mm (Springer, Serrano, & Zepeda, 2010).

Las pupas habitan y se desarrollan en puparios, los cuales son sus refugios larvales o nuevas construcciones. Los adultos tienen pelos finos, alas membranosas de colores llamativos, se encargan de triturar grandes partes de tejido vegetal, además realizan una función muy importante en la recirculación de nutrientes y energía dentro del ecosistema acuático (González & al, 2012).

Este género es rico en especies, restringidas al nuevo mundo. Las larvas habitan en ambientes tanto lóticos como lénticos y se los puede clasificar, ya sea por cortadoras o recolectoras de depósito (Huamantico & Ortiz, 2010). El género *Nectopsyche sp*, por su parte, tienen también un alto potencial como indicadores de la calidad de agua, ya que es posible obtener información derivada de su presencia o ausencia, lo cual refleja el estado ecológico de su entorno (Everall et al., 2017). Es así, que en los últimos años se toma en cuenta con mayor interés a este género, debido a su alta sensibilidad a las alteraciones ambientales y a la contaminación orgánica que son mencionadas en otros estudios, demostrando su efectividad como buenos indicadores de la calidad del agua. (Rosenberg & Resh, 1993).

### 3. CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

#### 3.1 Condiciones experimentales

Este trabajo fue realizado en el marco del proyecto de investigación “Cambios anatomofisiopatológicos y etológicos de los macroinvertebrados acuáticos como efecto de la exposición a contaminantes.

El sistema experimental estuvo compuesto de peceras de vidrio de forma circular, con capacidad para 1.5Litros, que permitieron realizar el conteo de macroinvertebrados desde todos los ángulos.

Con el fin de mantener la cantidad de oxígeno del agua en la unidad experimental, se utilizaron aireadores que permitieron mejorar los niveles óptimos de oxígeno disuelto (Figura 1).



*Figura 1.* Unidades experimentales adecuadas con tratamientos de fosfatos para ofrecer un ambiente óptimo para el desarrollo de algas.

Debido a que se necesitaba controlar las condiciones óptimas de temperatura y luminosidad en dichos sistemas experimentales, fueron ubicados en un cuarto con climatización para mantener una temperatura ambiente en 16°C las 24 horas en el transcurso de la experimentación para simular las condiciones naturales del río Alambi.

Se suministró luz a los microcosmos por 12 horas y, las otras 12 horas en ausencia de luz, con la ayuda de un temporizador, con el fin de simular condiciones de periodos de luz.

### 3.1.1 Colonización del Perifiton

De acuerdo a la metodología de Aubriot et al., (2009) se procedió a preparar una solución que contenga alta concentración de algas que se recolectaron del río Alambi, las cuales se obtuvieron producto del raspado de rocas por medio de un cepillo de dientes. El agua con concentraciones de algas se homogeneizó durante 30 segundos (1800 ml) y de allí fue dividida en dos alícuotas de 900 ml y agregada en dos microcosmos, en donde se encontraban las baldosas a colonizar.

El proceso de colonización se realizó 14 días previos a la experimentación, con el fin de garantizar un perifiton estable. Se ubicaron 60 baldosas de 2 x 2 cm (figura 2) que fueron colonizadas y posteriormente colocadas en cada unidad experimental. Además, se realizó un seguimiento durante estos días a la comunidad del perifiton, para determinar los cambios en las primeras etapas de éste (Caballero, 2009).

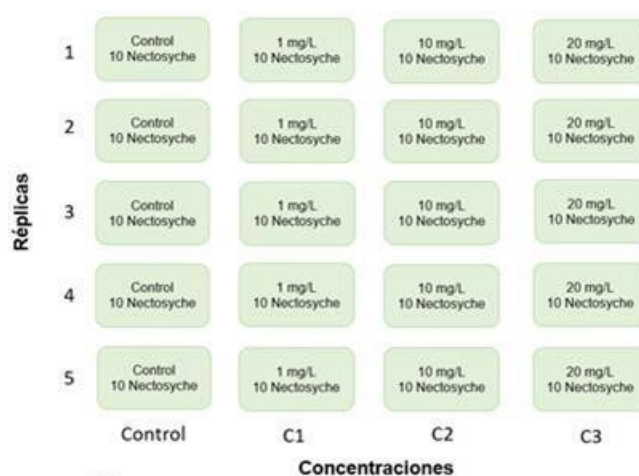


*Figura 2.* Proceso de colonización dentro de microcosmos usando baldosas de cerámica.

### 3.2 Diseño de la experimentación con diferentes concentraciones de Fosfatos

Se diseñó un sistema experimental usando al fosfato como variable independiente. Para esto se planteó tres niveles: 1, 10 y 20 mg/L de concentraciones de fosfato (Figura 3), el cual se obtuvo adicionando fosfato di-ácido de potasio. Los valores bajo y alto de fosfatos fueron seleccionados con

ayuda de revisión bibliográfica en función de concentraciones relacionadas con usos de suelo agrícola/ganadero y urbano de la cuenca del río Guayllabamba (Checa, 2018). Mientras que el valor intermedio se seleccionó en función del Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundario (TULSMA), Libro VI Anexo 1 (Ministerio del Ambiente - Ecuador, 2017). Por otro lado, en cada tratamiento con fosfatos se añadieron 10 larvas de *Nectopsyche*, dando un total de 200 macroinvertebrados que fueron parte del análisis. Las mediciones se tomaron cada 24 horas durante 5 días continuos.



**Figura 3.** Tratamientos a distintas concentraciones de fosfatos: 1, 10 y 20 mg/L más el control, con 5 réplicas por tratamiento y 3 repeticiones por unidad experimental.

### 3.3 Área de muestreo

Para ejecutar la experimentación del presente estudio, se realizó el muestreo en el río Alambi (Figura 4), perteneciente a la subcuenca del Guayllabamba, localizada a 18 Km de la ciudad de Quito, en la parroquia Nono de la provincia de Pichincha. Este río se encuentra en medio de un bosque húmedo montano bajo, que está entre 2600-2800 msnm y, bosque muy húmedo montano bajo, que se encuentra entre 2300-2600 msnm (Giacometti & Bersosa 2015). Este sector posee cerca de un 73% de vegetación natural, por lo que existe muy poca contaminación antrópica y por ende se conserva en buen estado (Secretaría de Ambiente del Municipio del DMQ, 2010).





Figura 4. Río Alambi, lugar de recolección de organismos del género *Nectopsyche* y muestras de agua.

#### 3.4 Recolección de muestras de agua

Se recolectó agua para poder utilizar en las unidades experimentales (1 litro por cada sistema). También, se realizó la medición de parámetros tales como: temperatura, pH y oxígeno disuelto en el punto de muestreo, para tener conocimiento sobre las condiciones naturales del lugar, todo ello con la ayuda de las sondas YSI PRO.

Dicha agua recolectada del río se almacenó en 4 baldes con capacidad de 20 litros. El agua fue trasladada al laboratorio, donde se midió el fosfato basal, con este valor se calculó la cantidad a adicionar en cada uno de los tratamientos.

#### 3.5 Recolección de los individuos de *Nectopsyche*

Se recolectaron larvas de tricópteros del género *Nectopsyche* sp. Usando el método de patada con una red D, en un tramo de río. Se muestreó lugares con vegetación y presencia de hojarasca. Después de culminar el proceso de muestreo, seguidamente se colocó los elementos del río en bandejas de plástico, con el fin de que se puedan identificar y recoger los organismos vivos (Arango, Álvarez & Arango, 2009).

Se seleccionaron en campo las larvas del género *Nectopsyche* de estadio 4 y 5 para evitar grandes variaciones en tamaño y peso (Sánchez, 2018).

Posteriormente los individuos fueron trasladados al laboratorio en envases de plástico llenos de agua, además de adicionar hojarasca del río y fundas de hielo para mantener una temperatura adecuada.

### 3.6 Análisis Físico-químicos

En la zona de muestreo se realizaron mediciones de: pH, temperatura, oxígeno disuelto con sondas multiparámetros YSI PRO, para analizar las condiciones físico-químicas del lugar y poder adaptarlas en los sistemas experimentales. Durante el experimento, se realizaron mediciones diarias de estos parámetros y también de fosfatos.

#### 3.6.1 Medición de Fosfatos

Para el análisis de los fosfatos, se empleó el protocolo de Standard Methods 4500 en ácido ascórbico (APHA, AWWA & WEF, 2017), el cual sugiere recolectar 25 ml de cada muestra filtrada en frascos de vidrio y ser cubiertos con papel aluminio. En cada uno de los frascos se añadió 1 ml de reactivo “de fosfatos”, luego 0,2 ml de ácido ascórbico, seguidamente se mezcló y se dejó reaccionar durante 45 minutos, evitando que las muestras entren en contacto con la luz. Luego, se utilizó el espectrofotómetro Shimadzu UVmini-1240 (Kioto, Japón), para medir a 882 nm de longitud de onda, se leyó el blanco (agua destilada) y después fueron colocadas cada una de las muestras para realizar su respectiva lectura.

### 3.7 Variables de medición biológicas (Biopelículas)

#### 3.7.1 Cuantificación de clorofila *a* del perifiton

Para la medición de la clorofila *a* en el perifiton, se realizó el raspado de la superficie de la baldosa instalada en la etapa de aclimatación del perifiton. El material extraído se dividió por tercios (3/3): un tercio para medir clorofila, otro tercio para materia orgánica y finalmente un tercio se guardó en formol al 4% para futuros análisis de algas. Después, en tubos de centrífuga con 10 ml de

alcohol al 90% y envueltos en papel aluminio, se colocaron filtros Whatmann de 47 cm de diámetro con clorofila, para evitar que se degrade la misma. Los tubos de centrifuga con la tapa semi abierta fueron colocados en baño María, se calentó hasta lograr el punto de ebullición (durante 2 minutos), luego se retiraron los tubos y se enfriaron a temperatura ambiente (Larrea, et al, 2015). Las muestras fueron centrifugadas a 1500 rpm durante 10 minutos en la centrifuga refrigerada Eppendorf 5804 R, y el sobrenadante se analizó en el espectrofotómetro a 665 y 750 nm. Después se acidificó cada muestra utilizando 0.1 mL de 0.1N HCL y se volvió a medir a 665 y 750 nm (Aubriot, et al., 2009).

El cociente ácido se calculó con la siguiente fórmula:

$$[(A_{665} - A_{750}) / (A_{a665} - A_{a750})] < 1,7$$

Los valores deben estar entre un rango de **1,4** a **1,6**, si el valor es menor, se adicionará más ácido hasta esperar la degradación de **Clo a**, sin embargo, si el valor es mayor, es necesario realizar nuevamente la lectura, pero con menor cantidad de ácido.

La concentración de clorofila se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Clorofila a (mg/cm}^{-2}\text{)} = 29,6 [(A_{665} - A_{750}) / (A_{a665} - A_{a750})] \times (V_e / V_m) \times L$$

El factor 29,6 se obtiene del cociente ácido para la clorofila pura y del coeficiente de extinción específico en etanol. En donde  $A_{665}$  es absorbancia a 665 y  $A_{750}$  es absorbancia a 750 antes de realizar la acidificación. Mientras que,  $A_{a665}$  es absorbancia a 665 y  $A_{a750}$  es absorbancia a 750 con la muestra ya acidificada. Por otro lado,  $V_e$  es el volumen de extracto (10 ml),  $V_m$  representa el volumen total de la muestra y  $L$  representa la longitud de la celda de cuarzo que se utiliza en el espectrofotómetro (1 cm) (Aubriot, et al., 2009).

Para estimar la Feofiftina, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Feof (mg/cm}^{-2}\text{)} = 20,8 \times (A_{a665} - A_{a750}) \times (V_e / V_m) \times L - \text{Clo } \alpha$$

En síntesis, las mediciones se realizaron durante 3 días, el día 1, 3 y 5 de experimentación.

### 3.7.2 Materia Orgánica

Para medir la Materia Orgánica se llenó las  $\frac{3}{4}$  partes con extracto de algas en cada crisol, éstos fueron numerados (para realizar un seguimiento a cada muestra), seguidamente se colocaron en la estufa a 105 °C durante 24 h para obtener el peso en seco. Luego, para obtener el peso de las cenizas, se ubicaron los crisoles en la mufla a 500 °C durante 1 h, y finalmente se volvió a pesar. En la mufla se incineró toda la materia orgánica y quedaron los residuos inorgánicos, es decir, el peso del crisol con ceniza. La masa seca (MS) se calculó como la masa del material acumulado en la baldosa, más el crisol, menos el peso del crisol original. Mientras que la masa seca sin cenizas (MSSC) se calculó restando la masa seca de la masa de ceniza residual (Hauer & Lamberti, 2006).

$$\text{MSSC (mg/cm}^{-2}\text{): } E = B - D$$

### 3.7.3 Índice Autotrófico

Para calcular el índice autotrófico (IA) y saber cuál es el cociente entre la biomasa del perifiton y la Clorofila *a* (Hauer & Lamberti, 2006), se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{IA} = \text{MSSC (mg/cm}^{-2}\text{)} / \text{Clorofila } a \text{ (mg/cm}^{-2}\text{)}$$

## 3.8 Variables de medición biológicas (*Nectopsyche*)

### 3.8.1 Peso del individuo

El peso de los individuos se realizó con la balanza analítica OHAUS Adventurer (New Jersey, EE. UU) que tiene una sensibilidad de aproximadamente 0.0001 gramos. Para realizar este proceso, se colocaron los organismos en cajas Petri y fueron pesados de manera individual. Obteniendo al inicio y final de la experimentación los valores de los pesos.

### 3.8.2 Ancho de la cabeza del individuo

La medición también se ejecutó al principio y al final de la experimentación en toda la población (figura 5), utilizando el equipo Estereoscopio trinocular OLYMPUS ZX6, el cual tiene un software y una cámara INFINITY 2. Además, se utilizó papel milimetrado en el fondo del recipiente para tener mayor resolución en la presentación de resultados.



Figura 5. Imagen de la medición de cabeza de *Nectopsyche* sp., en la fase final.

### 3.8.3 Mortalidad

El criterio de medición se realizó mediante el conteo y observación de organismos, en donde se verificó el estado (vivo/muerto) de todos los individuos de cada unidad experimental y se anotó los datos en los registros de mortalidad. Se realizó el registro de estos parámetros diariamente, durante 5 días del experimento.

### 3.9 Análisis de Datos

Para evaluar las diferencias estadísticas de las variables respuesta (F-Q, Biopelículas y *Nectopsyche*), entre cada uno de los tratamientos y sus repeticiones, se utilizó la prueba de Levene para determinar la homogeneidad de varianza y, también se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (W), para conocer si fueron o no estadísticamente significativas. En la mayoría de los casos, no cumplieron con los supuestos de normalidad en la distribución de los datos, por ende, se utilizó la prueba ANOVA, mientras que en el resto de casos se usaron las pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis (KW). Estas

pruebas fueron utilizadas para buscar diferencias significativas entre las variables de respuesta, con la finalidad de identificar si existe un incremento o una disminución.

Para la supervivencia de macroinvertebrados se utilizó el análisis de Kaplan-Meier, usando los intervalos de tiempo, estado del individuo y concentración (fosfatos) (Arribalzaga, 2007).

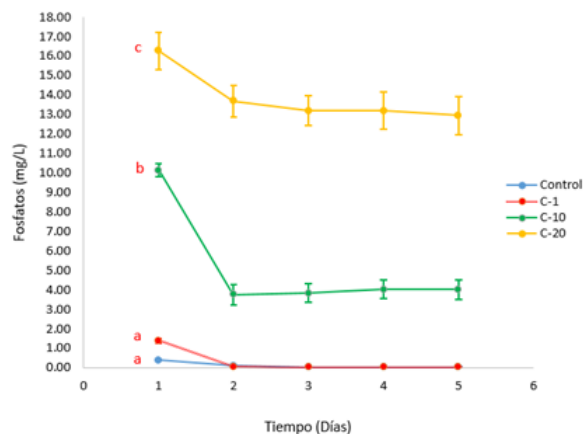
Todos los análisis de las variables se realizaron con el programa estadístico Statistica software versión 13 y el programa IBM SPSS Statistics-versión 25. Posterior al ANOVA, se realizó el control de datos por medio de la prueba de Tukey, mientras que en Kruskal Wallis, se utilizó la prueba Mann Whitney U-Test, para identificar las diferencias dentro de los grupos homogéneos formados, que resultaron significativos en las diferentes pruebas.

## **4. CAPÍTULO IV. RESULTADOS**

### **4.1 Variables Físico-químicas**

#### **4.1.1 Fosfatos**

Los fosfatos se midieron diariamente y se observó un decrecimiento entre el día 1 y 2. En los tratamientos de 20 y 10 mg/L el consumo fue mayor que en el resto de tratamientos en el mismo periodo de tiempo. A partir del segundo día los valores en cada uno de los tratamientos empezaron a estabilizarse (Figura 6). Se evidenció una diferencia significativa entre los tratamientos (KW= 83.70398;  $p < 0.001$ ), pero no a lo largo de la experimentación (KW= 8.156910;  $p > 0.05$ ).

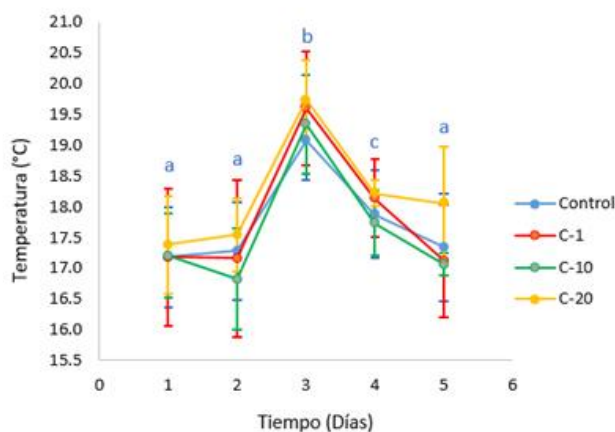


*Figura 6.* Concentración de fosfatos en los diferentes tratamientos propuestos en el experimento: Control línea color azul, 1 mg/L línea color rojo, 10 mg/L línea color verde y 20 mg/L línea color amarillo.

Las agrupaciones homogéneas en Tratamientos están representadas con letras de color rojo en la parte izquierda del gráfico.

#### 4.1.2 Temperatura

Se registraron diferencias en la temperatura, especialmente en el tercer día que los valores incrementaron. No obstante, el aumento de temperatura fue en todos los tratamientos (Figura 7). Los resultados mostraron una diferencia significativa en el tiempo (KW= 51.41553;  $p < 0.001$ ), pero no entre los tratamientos (KW= 3.675607;  $p > 0.05$ ).

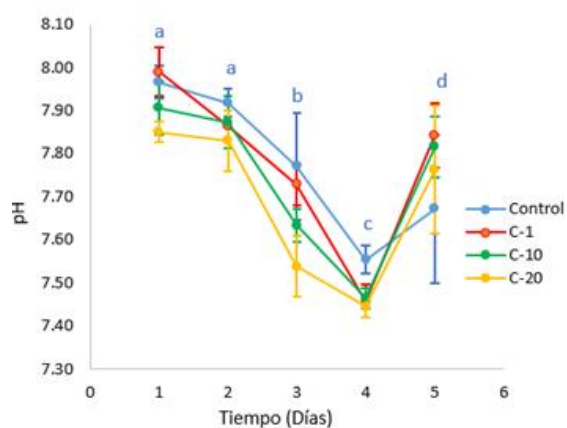


*Figura 7.* Temperatura en los diferentes tratamientos propuestos en el experimento: Control línea color azul, 1 mg/L línea color rojo, 10 mg/L línea color verde y 20 mg/L línea color amarillo.

Las agrupaciones homogéneas con respecto a Días están representadas con letras de color azul en la parte superior del gráfico.

#### 4.1.3 pH

Los resultados de pH mostraron que los valores iniciales fueron mayores a los valores finales. Se observa un decrecimiento en los mismos, especialmente en el día 4 y luego al final del experimento los valores volvieron a incrementar (Figura 8). Los valores mostraron una diferencia significativa en el tiempo (KW= 71.3761;  $p < 0.001$ ), pero no entre los tratamientos (KW= 5.1840;  $p > 0.05$ ).



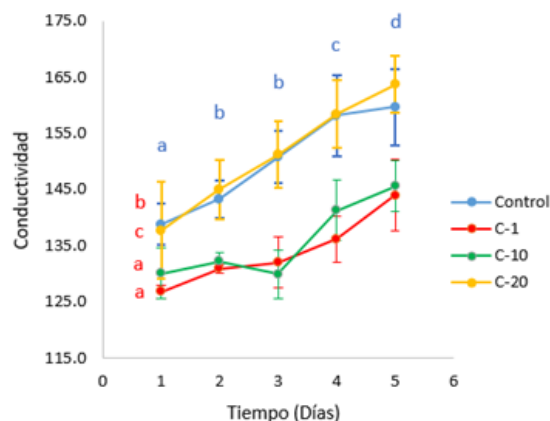
*Figura 8.* pH en los diferentes tratamientos propuestos en el experimento: Control línea color azul, 1 mg/L línea color rojo, 10 mg/L línea color verde y 20 mg/L línea color amarillo.

Las agrupaciones homogéneas en Días están representadas con letras de color azul en la parte superior del gráfico.

#### 4.1.4 CONDUCTIVIDAD

Se evidencia en la Figura 9 un ligero aumento de los valores en el transcurso de la experimentación. Los niveles de conductividad presentan valores entre 126 y 138  $\mu\text{S}/\text{cm}$  en el primer día, luego van ascendiendo progresivamente con el paso del tiempo en todos los tratamientos. Se evidenció una diferencia significativa entre los tratamientos (KW= 49.10407;  $p < 0.001$ ), y en el tiempo de experimentación (KW= 38.12497;  $p < 0.001$ ).



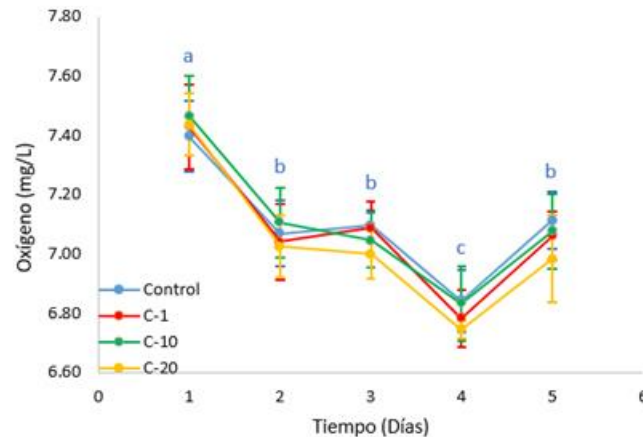


*Figura 9.* Conductividad en los diferentes tratamientos propuestos en el experimento: Control línea color azul, 1 mg/L línea color rojo, 10 mg/L línea color verde y 20 mg/L línea color amarillo.

Las agrupaciones homogéneas en Días están representadas con letras de color azul en la parte superior, mientras que en la parte izquierda del gráfico las letras de color rojo se refieren a Tratamientos.

#### 4.1.5 Oxígeno (mg/L)

Los valores de oxígeno registrados durante la experimentación mostraron variabilidad, se evidenció una tendencia a disminuir durante el tiempo de análisis, sin embargo, en el día 5, hubo un ligero aumento de oxígeno en el agua (Figura 10). En el tratamiento 20 mg/L se observó que el porcentaje de oxígeno fue menor a diferencia del resto de tratamientos, mientras que en el tratamiento 10 mg/L existió una mayor presencia de oxígeno disuelto. Los resultados evidenciaron una diferencia significativa en el tiempo ( $KW= 72.1792$ ;  $p < 0.001$ ), pero no entre los tratamientos ( $KW= 2.1543$ ;  $p > 0.05$ ).



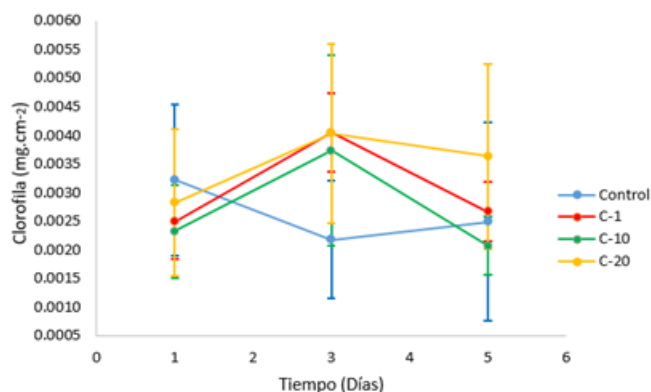
*Figura 10.* Oxígeno (mg/L) en los diferentes tratamientos propuestos en el experimento: Control línea color azul, 1 mg/L línea color rojo, 10 mg/L línea color verde y 20 mg/L línea color amarillo.

Las agrupaciones homogéneas en Días están representadas con letras de color azul en la parte superior del gráfico.

## 4.2 Variables Respuesta de Biopelículas

### 4.2.1 Clorofila

Al realizar la experimentación se pudo analizar los valores de cada tratamiento (Control, 1, 10 y 20 mg/L) con respecto a clorofila. En la Figura 11, se puede visualizar el comportamiento de la clorofila con respecto al tiempo (días). La concentración de clorofila fue cambiando, en los primeros días empieza a aumentar, luego hay una disminución. En el día 1, el tratamiento de 20mg/L, es el que presentaba mayor concentración de clorofila, pero luego presentó una disminución en el transcurso del experimento, al igual que el resto de los tratamientos.



*Figura 11.* Densidad de clorofila en los diferentes tratamientos propuestos en el experimento: Control línea color azul, 1 mg/L línea color rojo, 10 mg/L línea color verde y 20 mg/L línea color amarillo.

Los resultados (Tabla 1), no presentan diferencias estadísticamente significativas en los Tratamientos ( $F_{3, 48}=1.87$ ;  $p > 0.05$ ) ni en los Días ( $F_{2, 48}=2.49$ ;  $p > 0.05$ ).

Tabla 1.

*Resultados de Análisis de la varianza (ANOVA) para determinar los cambios de Clorofila durante el experimento.*

Effect	SS	GDL	MS	F	P
Concentración	0.09109	3	0.03036	1.876	0.146243
Días	0.08089	2	0.04045	2.499	0.092820
Conc*Días	0.15791	6	0.02632	1.626	0.160500
Error	0.77695	48	0.01619	-	-

#### 4.2.2 Materia Orgánica

En la Figura 12, se evidencia el comportamiento de materia orgánica con respecto al tiempo (días). En el día 1, se observa una mayor concentración en el tratamiento 1 mg/L, pero luego presentó una fuerte disminución en el transcurso del experimento, al igual que el resto de tratamientos.

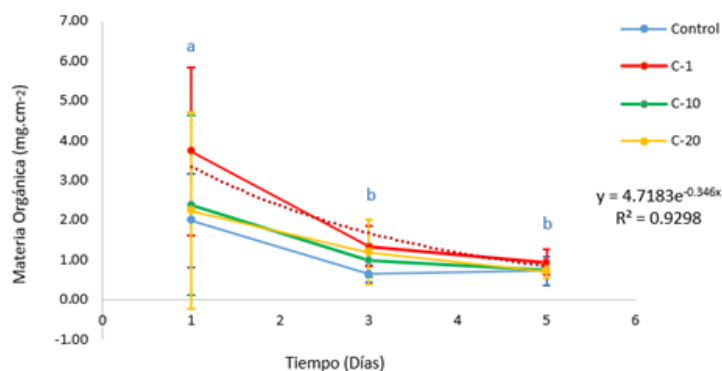


Figura 12. Cantidad de M.O con respecto al tiempo (días) en la experimentación. Las agrupaciones homogéneas en Días están representadas con letras de color azul en la parte superior.

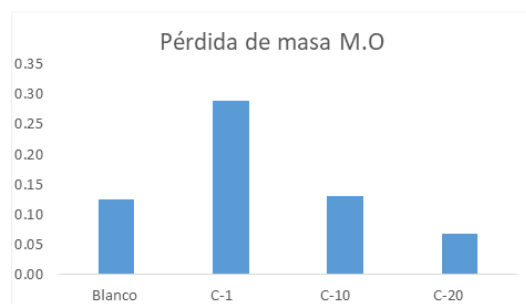
Los resultados (Tabla 2), presentan una diferencia significativa entre los días de experimentación ( $F_{2, 48} = 12.85$ ;  $p < 0.001$ ), por lo que se utilizó la prueba de Tukey para identificar los grupos homogéneos formados en la experimentación.

Tabla 2.

*Resultados de Análisis de la varianza (ANOVA) para determinar los cambios de Materia Orgánica durante el experimento.*

Effect	SS	GDL	MS	F	P
Concentración	1.55672	3	0.51891	2.1130	0.110888
Días	6.31522	2	3.15761	12.8580	0.000034
Conc*Días	0.91997	6	0.15333	0.6244	0.709851
Error	11.78759	48	0.24557	-	-

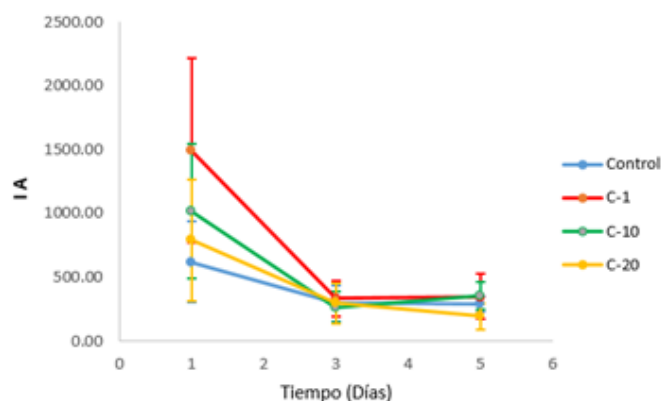
En este análisis hubo una mayor cantidad de pérdida de masa de Materia Orgánica en la concentración de 1 mg/L (Figura 13). También, se calculó la ecuación exponencial ( $y = 4.7183e^{-0.346x}$ ), en donde el valor de  $K = -0.346$  representa la tasa de cuántos  $\text{mg.cm}^{-2}$  se pierden por día.



*Figura 13.* Pérdida de masa de M.O con respecto a la concentración (Control, 1, 10 y 20 mg/L) en la experimentación.

#### 4.2.3 Índice Autotrófico

En este análisis, se evidencia el comportamiento del índice autotrófico de las algas, durante el tiempo de experimentación. En el día 1, se observa una mayor concentración en el tratamiento 1 mg/L, pero luego presentó una fuerte disminución en el transcurso del experimento, igual que en el resto de tratamientos (Figura, 14).



*Figura 14.* Índice autotrófico durante el tiempo (días) en la experimentación.

A continuación, en la Tabla 3 se detallan los valores obtenidos durante la experimentación en el índice autotrófico.

Tabla 3.

*Resultados obtenidos del Índice Autotrófico durante la experimentación.*

Concentración	Días	Índice Autotrófico
Control	1	618.49
	3	296.88
	5	289.61
1 mg/L	1	1496.99
	3	332.11
	5	350.07
10 mg/L	1	1019.83
	3	262.45
	5	354.31
20 mg/L	1	791.64
	3	294.60
	5	193.83

#### 4.3 Variables Respuesta de *Nectopsyche*

##### 4.3.1 Variables de Medición Subletal

###### 4.3.1.1 Peso de macroinvertebrados

El peso fue medido al inicio y al final de la experimentación, habiendo un incremento en todos, sin embargo, las que más presentaron un aumento de peso a diferencia del resto fueron las larvas de los tratamientos 1 y 10 mg/L (Figura 15).

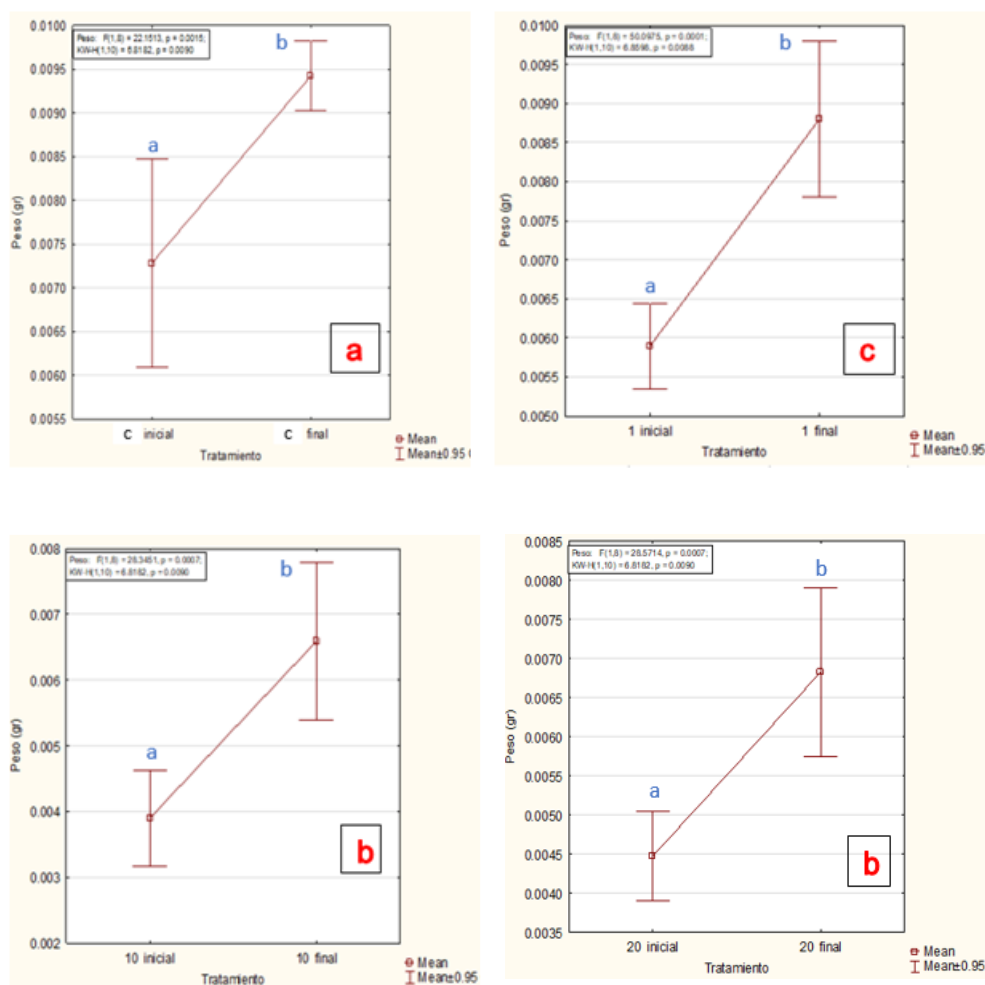


Figura 15. Peso neto de macroinvertebrados en la experimentación con tratamientos de fosfatos.

Las agrupaciones homogéneas en Días están representadas con letras de color azul en la parte superior, mientras que en la parte inferior las letras de color rojo se refieren a Concentración.

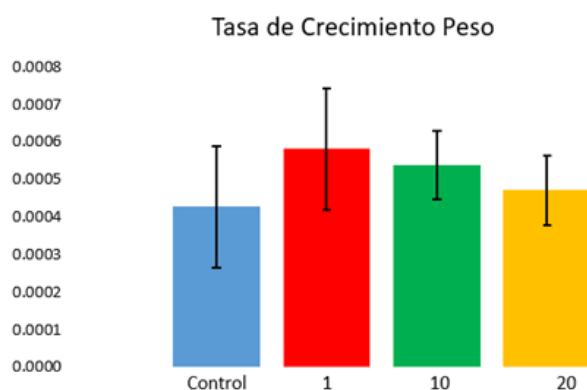
Se realizó una prueba ANOVA (Tabla 3), los datos presentaron una diferencia significativa en Tratamientos ( $F_{3, 32} = 41.15$ ;  $p < 0.001$ ) y Días ( $F_{1, 32} = 123.50$ ;  $p < 0.001$ ), por lo que se utilizó la prueba de Tukey para identificar los grupos homogéneos formados durante la experimentación.

Tabla 4.

*Resultados de Análisis de la varianza (ANOVA) para determinar los cambios de Peso de macroinvertebrados durante el experimento.*

Effect	SS	GDL	MS	F	P
Concentración	0.000064	3	0.000021	41.150	0.000000
Días	0.000064	1	0.000064	123.503	0.000000
Conc*Días	0.000001	3	0.000000	0.572	0.637351
Error	0.000016	32	0.000001	-	-

Se debe añadir que existió una mayor tasa de aumento del peso neto en la concentración de 1 mg/L (Figura 16).



*Figura 16.* Tasa de crecimiento (gr/día) del peso neto de macroinvertebrados en la experimentación con tratamientos de fosfatos.

#### 4.3.1.2 Ancho de las cabezas

En este análisis hubo un considerable crecimiento en el ancho de las cabezas de los macroinvertebrados en todos los tratamientos, ya que la media de los valores finales es superior a la media de los valores iniciales (Figura 17). Los resultados presentaron una diferencia significativa en días (KW= 24.5041;  $p < 0.001$ ), comprobando que las medias muestrales son distintas, pero no, en los tratamientos (KW= 7.4824;  $p > 0.05$ ).



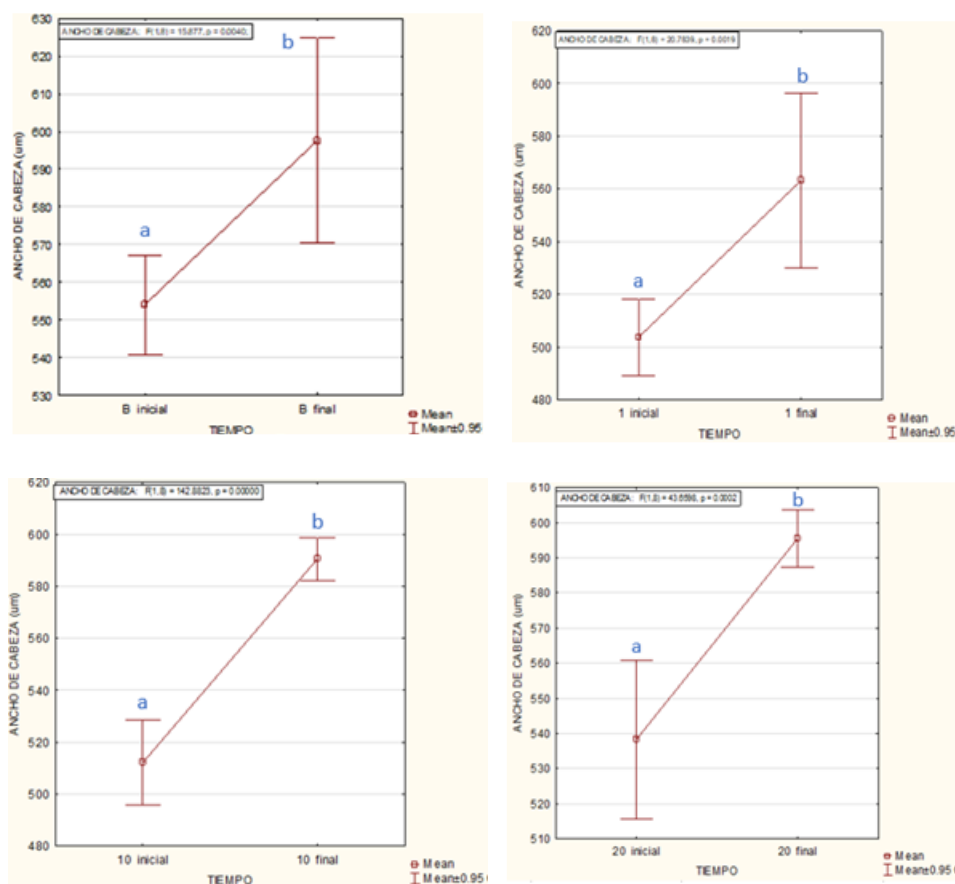


Figura 17. Ancho de la cabeza de macroinvertebrados en la experimentación con tratamientos de fosfatos.

Las agrupaciones homogéneas en Días están representadas con letras de color azul en la parte superior.

En síntesis, existió una mayor tasa de crecimiento en la concentración de 10 mg/L (Figura 18).

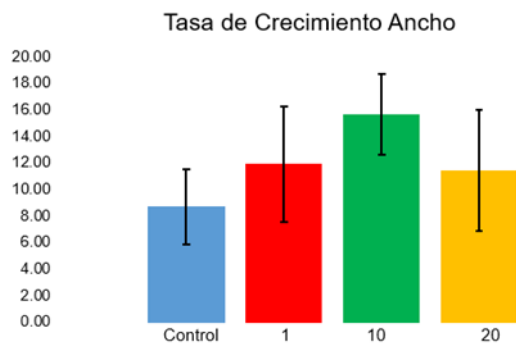


Figura 18. Tasa de crecimiento (um/día) del ancho de la cabeza de macroinvertebrados en la experimentación con tratamientos de fosfatos.

### 4.3.2 Variable de Medición Letal

#### 4.3.2.1 Mortalidad

La mortalidad fue registrada desde las 24 horas en cada uno de los tratamientos, durante el periodo de experimentación (Figura 19). Cada día se realizó un conteo en la mañana y se registraban las muertes en los tratamientos, de modo que al principio del estudio ingresaron 200 individuos en total, 10 por cada microcosmo. Durante la experimentación se obtuvo diferentes porcentajes de mortalidad, en la concentración del Control se alcanzó un 24%, en la concentración 1 mg/L murieron el 13%, en la concentración de 10 mg/L un 28% y en la concentración de 20 mg/L se obtuvo una tasa de mortalidad del 35%.

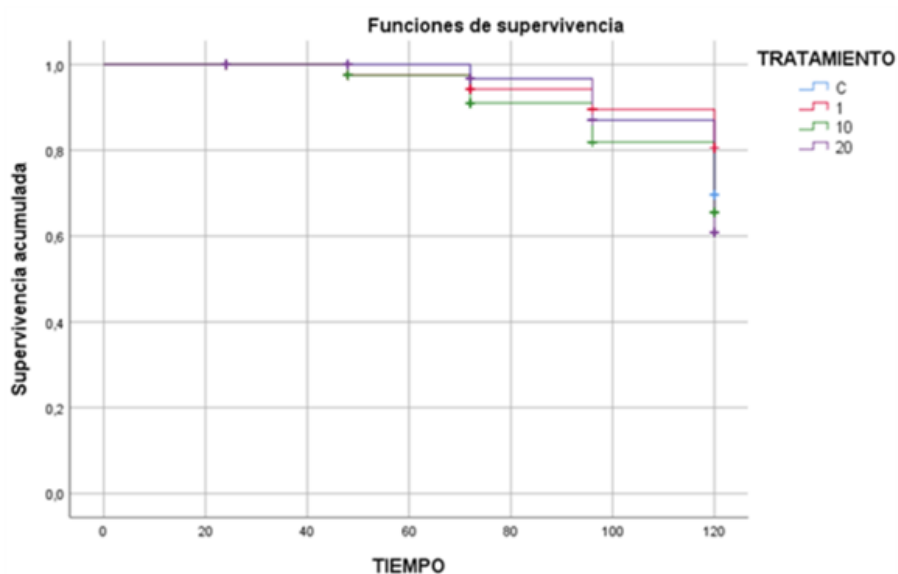


Figura 19. Supervivencia de macroinvertebrados del género *Nectopsyche* en la experimentación a concentraciones de Control, 1, 10 y 20 mg/L.

## 5. CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

En el presente estudio analizamos al fosfato como el factor responsable de los cambios en la biomasa del perifiton, la supervivencia y crecimiento de una especie de tricóptero bajo condiciones experimentales de enriquecimiento. Además, durante el transcurso del experimento, que se realizó en microcosmos usando agua, perifiton y larvas de *Nectopsyche* del río Alambi, se pudo determinar que controlar las concentraciones de nutrientes como el fosfato es una tarea compleja.

La intención del diseño experimental era de controlar los factores externos o ambientales de manera que no se constituyan en variables que pudieran confundir los resultados. La principal idea fue mantener todos los tratamientos por igual en cuanto a sus variables físico-químicas.

En la experimentación se analizaron características físico-químicas (temperatura, pH, conductividad, oxígeno disuelto) que estuvieron presentes en el agua de los microcosmos. De esta forma, se determinó una variación de los valores en los datos fisicoquímicos que se analizaron. Se esperaba que sucedieran cambios debido a la complejidad del caso, sin embargo, se trataron de mantener las constantes de las variables.

En la temperatura, se mantuvieron iguales entre los tratamientos a lo largo de los 5 días del experimento, pero variaron día a día, en especial en el tercer día, ya que fue más caliente que en el primer y quinto día, debido a fallas técnicas relacionadas con el aire acondicionado, pero es importante mencionar que como todos los tratamientos variaron similarmente, este factor no debería afectar al experimento.

En el pH, también se mantuvieron iguales entre tratamientos durante los 5 días de experimentación, aunque hubo una variación diaria, ya que desde el principio se evidenció un decrecimiento en los mismos, especialmente en el día 4 y luego al final del experimento los valores volvieron a incrementar. Esto se

podría deber a la cantidad de nutrientes y actividad bacteriana. Diferentes investigaciones analizan que el pH en el agua, llega a ser determinante en la distribución de macroinvertebrados acuáticos, debido a que los organismos presentan mayor sensibilidad (Morelli y Verdi, 2014), pero las pequeñas variaciones observadas en el ensayo ocurren en todos los tratamientos por igual, pero se pueden considerar insignificantes.

La cantidad de oxígeno disuelto es importante para descomponer la materia orgánica e interferir en la actividad fotosintética de las algas (Ortega et al., 2018). En los resultados, no se observan diferencias significativas entre tratamientos, pero sí hubo entre días, a pesar de que existieron cambios notables, los valores más bajos (6.70-7 mg/L) no limitan ninguna actividad. Además, los valores obtenidos son adecuados para los procesos biológicos en sistemas aeróbicos y no constituyen un factor limitante ni para la actividad fotosintética ni para la supervivencia y crecimiento de macroinvertebrados.

Las unidades experimentales sufrieron continuas modificaciones, como evaporación de agua, las cuales provocaron cambios en la concentración de sales y disolución de diferentes compuestos, como lo que sucedió en el tratamiento de Control (Hunnam et al., 1991). Es por ello, que los procesos de evaporación en microcosmos incrementan la salinidad en el agua, ya que al disponer de un menor volumen de agua las sales se concentran (Ramírez, 2004), causando un aumento en la conductividad de los tratamientos a lo largo de la experimentación. En algunos estudios, éste fenómeno de aumento de la conductividad por evaporación, se controla ajustando día a día los volúmenes de agua en el sistema, pero no se hizo en este experimento.

En los fosfatos, se observó un decrecimiento entre el día 1 y 2. En los tratamientos de 20 y 10 mg/L el consumo fue mayor que en el resto de tratamientos en el mismo periodo de tiempo. A partir del segundo día los valores en cada uno de los tratamientos empezaron a estabilizarse. El fósforo se presenta en combinación con la materia orgánica en diferentes formas, tales como: nucleótidos, polifosfatos, etc., es por ello que se convierte en un

nutriente muy importante, el cual contribuye al crecimiento de algas y en otras condiciones provoca la eutrofización en lagos o ríos altoandinos (Correia et al., 2013). En ecosistemas acuáticos, el fósforo se encuentra como fosfato, el mismo que es un nutriente limitante, debido a que, si se usa en exceso, el crecimiento de las algas se detiene, a pesar de la cantidad de nitrógeno disponible (Spellman, 2014).

### **EFFECTO DE LA ADICIÓN DE FOSFATOS SOBRE LAS BIOPELÍCULAS.**

La clorofila-a mostró una tendencia a aumentar en el tratamiento con fosfatos de 20 mg/L, siendo la concentración más alta en el experimento. Un estudio similar, se presentó en la experimentación en microcosmos de Schindler (2012), ya que, a mayores concentraciones de fosfatos, produjo una clorofila más alta.

Además, al medir la clorofila se observó que no hubo una relación con la cantidad de materia orgánica. El fosfato proporciona alimento a los productores primarios, pero en exceso se convierte en un contaminante (Ferrer, Cony, & Piccolo, 2012). Existió un consumo preferencial de *Nectopsyche* que disminuyó la materia orgánica en un 70%, mientras que en la clorofila hubo una disminución del 30% en los primeros días del experimento, esto se pudo deber a que hubo una discriminación con respecto a la masa de la biopelícula, ya que prefirieron comer detritos. Sin embargo, los resultados de clorofila evidenciaron que en los tratamientos que se agregaron fosfatos hubo un aumento, aunque eso no quiere decir que no haya habido consumo, eso no se ve porque las algas tienen un crecimiento pronunciado, a diferencia del Control, en el cual hubo una disminución por consumo. Por otro lado, el enriquecimiento de nutrientes provocó que el ecosistema acuático pasó a ser de moderadamente-altamente heterotrófico a ser ligeramente heterotrófico, mientras que en algunos casos supero el umbral y se volvió autotrófico (Ask et al., 2009). El índice autotrófico, nos permitió comprobar que al inicio de la experimentación el sistema fue heterotrófico, ya que presentaba valores superiores a 250, con el paso de los días el sistema cambió a ser ligeramente autotrófico, presentando valores entre 50 y 250 (APHA, AWWA & WEF, 2017). Al principio las algas

crecieron, pero luego en el transcurso de los días, las algas ya no fueron tan productivas lo que provocó una fuerte disminución en el crecimiento, incluso llegando a estabilizarse el sistema.

En la hipótesis se planteaba que el aumento de fosfatos incrementa la acumulación de biomasa del perifiton, mejorando las posibilidades de supervivencia del género *Nectopsyche* sp., debido a la mayor cantidad de alimento. También, se esperaba que exista un incremento en el ancho de la cabeza y peso de los organismos. Nuestros resultados apoyan nuestra hipótesis, por lo que se evidenciaron incrementos notables en estas variables en todos los tratamientos (Control, 1, 10 y 20 mg/L).

Según estudios de Jiménez, Carvajal, & Aguirre, (2010) se demostró que cuando hay un incremento en la disponibilidad del fosfato, existe crecimiento de la producción primaria e influye en el crecimiento de macroinvertebrados acuáticos. Rivera, Pinilla, & Camacho (2013) en su investigación también encontraron resultados similares, además de la abundancia de algas perifíticas que se encontraron para los organismos analizados. Un comportamiento similar sucede en el presente estudio, al utilizar distintas concentraciones de fosfatos sobre el género *Nectopsyche* sp. El aumento en biomasa algal (usando clorofila-a como proxi) sirvió como alimento para organismos, ya que se incrementó en el sistema experimental gracias a la estimulación con fosfatos, lo que quiere decir que los individuos pudieron haber incrementado de peso y ancho de cabeza al tener mayor disponibilidad de alimento de mayor calidad (algas vs. detrito).

### **EFFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DE *NECTOPSYCHE***

Con respecto al peso de los *Nectopsyche*, no presentan diferencias estadísticas significativas. En la experimentación se evidencia que el mayor peso neto ocurre en los tratamientos 1 y 10 mg/L, puesto que el comportamiento de los pesos en este estudio se debe a la cantidad de materia orgánica disponible. Es decir, mientras exista mayor cantidad de algas, que sirve como recurso de alimentación para los organismos, debido a la calidad del recurso, más elevada

será la tasa de crecimiento (Crespi, Ferrando, & Agostino, 2016).

En el ancho de las cabezas se evidenció cambios significativos en los tratamientos. Cabe recalcar, que en cada uno de los tratamientos (Control, 1, 10 y 20 mg/L), existió un incremento, sin embargo, en 10 mg/L hubo mayor crecimiento que en el resto. Comprobando que hubo un incremento en las variables (peso y ancho), en los tratamientos donde se implementó fosfato.

La mayor tasa de mortalidad ocurre en el tratamiento de 20 mg/L, dando como resultado un 35% de individuos muertos de la población total, por ello se estima que cuando hay fosfatos en mayor concentración, existe un valor alto de sales con sus respectivos iones, siendo los que influyen en la conductividad del agua (Gómez et al., 2007). Además, es posible que la incorporación de estas sales del fosfato ejerciera un efecto de osmorregulación sobre los organismos acuáticos, ya que se produce un intercambio iónico entre el macroinvertebrado y el ambiente, por medio de las branquias, produciendo alteraciones (morfológicas, proliferación), que causan desequilibrios iónicos en estos organismos (Evans et al., 2005).

Según otros estudios, Guerra (2017) pudo demostrar que, a mayor cantidad de sales, más grande es el daño a los macroinvertebrados, comprobando que existieron afectaciones en periodos de tiempo cortos (5 días), como por ejemplo en el transcurso de su experimentación los individuos fueron teniendo cambios en la estructura branquial, porque estaban expuestos a contaminantes químicos. El tratamiento de 20 mg/L sobrepasa los niveles permitidos por la normativa para ecosistemas acuáticos, ya que el motivo de este estudio fue la obtención de datos a distintas concentraciones residuales de lugares aledaños a ríos, los cuales se obtuvieron mediante revisión bibliográfica.

En este estudio, las concentraciones de fosfatos mostraron una acumulación en la biomasa del perifiton, lo que permitió incrementar las posibilidades de supervivencia de los macroinvertebrados y, por ende, el crecimiento de ancho de cabeza y peso de dichos organismos.

## 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1 Conclusiones

El fosfato influyó positivamente en la acumulación de biomasa del perifiton y crecimiento de macroinvertebrados acuáticos.

El crecimiento de la biomasa del perifiton fue notable en las concentraciones de 1 y 10 mg/L, por lo que el aumento de las algas en estos tratamientos pudo promover el crecimiento de los macroinvertebrados.

En el tratamiento del Control, la cantidad de clorofila disminuye y por ende el alimento de los macroinvertebrados, los cuales deben depender más de la materia orgánica (detrito) en los microcosmos.

A pesar de haber tratado de mantener las variables físicas químicas constantes en laboratorio, no se logró conseguir una estabilidad en las concentraciones de fosfatos, ya que existió una variación debido a una disminución muy marcada durante el primer día de ensayo, probablemente por una toma importante por parte de la comunidad microbiana en las unidades experimentales.

Gracias al sistema experimental que fueron los microcosmos se consiguió información que muestra el grado de afectación que fueron presentando los tratamientos en presencia de fosfatos.

Por otro lado, para determinar el ancho y peso de los individuos se analizó los cambios subletales, es por ello que en la experimentación se evidenció un incremento en el peso y ancho en todos los tratamientos, hubo un mayor peso en el tratamiento de 1 mg/L y se incrementó el ancho de las cabezas en 10 mg/L, debido a que existió mayor cantidad de alimento de mejor calidad.

En el resultado de la experimentación, la mortalidad fue más evidente en la concentración de 20 mg/L, debido a que presentó una tasa del 35%.



## 6.2 Recomendaciones

Se recomienda utilizar peceras de vidrio como unidades experimentales, ya que son menos propensos a contaminarse y en el proceso de la experimentación, no exista dificultad para identificar a los macroinvertebrados.

Es recomendable antes de utilizar los microcosmos, se laven con jabón sin fosfatos, para no tener problemas de contaminación en el transcurso de la experimentación.

Además, es recomendable que sea constante la temperatura del agua y del ambiente, teniendo mayor control, puesto que esta variable no debe ser un factor que influya en la experimentación y cause la alteración o inclusive la muerte de los individuos.

Verificar diariamente los volúmenes de agua en los microcosmos, para mantenerlos constantes y agregar agua con fosfatos del sistema de tratamiento.

Tener bastante cuidado al sacar las baldosas del sistema experimental para que no se caiga la biopelícula o se disperse en el agua.

Para medir variables físico-químicas, se debe usar la misma sonda multimétrica y tener cuidado con la limpieza luego de cada medición, para no contaminar el sistema.

Identificar al final de la experimentación, si los macroinvertebrados están vivos o muertos, en el instante en que se vayan a pesar o medir las cabezas, mediante una buena manipulación de las pinzas.

Para finalizar, también es importante que en investigaciones de este alcance se tenga en cuenta que el estado de la biomasa del perifiton debe hallarse en condiciones similares, de esta forma dicha variable no tendrá influencia alguna en el transcurso de la experimentación.

## REFERENCIAS

- APHA, AWWA, & WEF. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd Edition*. Washington DC
- Arango, M., Álvarez, L., & Arango, G. (2008). Calidad del agua de las quebradas La Cristalina y La Risaralda. *Rev. Escuela de Ingeniería de Antioquia*, pp. 126. Recuperado el 10 de Enero de 2019 de: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/udlasp/reader.action?docID=3182890&query=recoleccion+de+macroinvertebrados>
- Arthur, W. (1987). *The niche in competition and evolution*. John Wiley & Sons, Ed. Nueva York. pp.176.
- Arribalzaga, E.B. (2007). Interpretación de las curvas de supervivencia. *Rev. Chilena de Cirugía*. Vol. 59 (1): pp. 75-83.
- Ask J; Karlsson J; Ask P; Bystrom P, J. M. (2009). *Terrestrial organic matter and light penetration: Effects on bacterial and primary production on lakes*. (R. Hecky, Ed.). Umca, Suecia: Department of Ecology and Environmental Science. Recuperado el 5 de Febrero de 2019 de: <https://doi.org/10.4319/lo.2009.54.6.2034>
- Aubriot, L., Bonilla, S., Brena, B., Britos, A., Conde, D., Chalar, G., Vidal, L. (2009). *Cianobacterias Planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de gestión*. (Sylvia Bonilla, Ed.). Montevideo, Uruguay: UNESCO.
- Azim, M., Beveridge, M., Van Dam, A., Verdegem, M. (2005). *Periphyton: ecology, exploitation and management*. En Cap. 1. En: *Periphyton and aquatic production: an introduction*. Sakura, Japón: Saitama University, pp. 255.

- Beyer, L. & Fernández, H. (2004). Química\_inorgánica.pdf. *Capítulo, 3.* (Ariel, Ed.). Barcelona, España.
- Camargo, J. (2007). Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. *Ecosistemas*, vol. XVI, pp. 13.
- Cañedo-Argüelles, M.; Grantham, T.E.; Perrée, I.; Rieradevall; M., Céspedes-Sánchez, R. & Prat, N. (2012). *Response of stream invertebrates to short-term salinization: A mesocosm approach. Environmental Pollution*, vol. 166: pp. 144-151. Recuperado el 20 de Diciembre de 2018 de: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.03.027>
- Cañedo-Argüelles, M.; Kefford, B.J.; Pscart, C.; Prat, N.; Schäfer, R.B. & Schulz, C. J. (2013). *Salinization of rivers: an urgent ecological issue. Environmental Pollution*, vol. 173, pp. 157-167. Recuperado el 8 de enero de 2019 de: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.10.011>
- Caquet T, Lagadic L, Sheffield S. (2000). *Mesocosms in ecotoxicology. Outdoor aquatic systems. Revista Environmental Contamination Toxicology*, vol. 165: pp. 1–38.
- Carpenter. S, Chair. N, Caraco. D, Correl. R, Howarth. A, S. V. (1998). Contaminación No Puntual de aguas superficiales con fósforo y nitrógeno. *Sociedad Norteamericana Ecológica*, vol. 3, pp. 16. Recuperado el 6 de Enero de 2019 de: <https://www.esa.org/esa/wp-content/uploads/2013/03/numero3.pdf>
- Carrera, D. (2013). Nitratos y problemas de infiltración. *Ciencia UNEMI*, 85–95 pp. Recuperado el 13 de Diciembre de 2018 de: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5210341.pdf>
- Checa, J. (2018). Calidad Ambiental y diversidad acuática de los ríos. *UDLA*, pp. 65. Recuperado el 20 de Noviembre de 2018 de:

<http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/9055/1/UDLA-EC-TIAM-2018-14.pdf>

- Correia, G. T., Gebara, D., & Matsumoto, T. (2013). Remoción de fósforo de diferentes aguas residuales en reactores aeróbios de lecho fluidizado trifásico con circulación interna. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, vol. 67, pp. 172–182.
- Crespi, A., Ferrando, A., & Agostino, M. (2016). Estudio de macroinvertebrados en dos intermareales de fondos blandos: Datos de referencia en condiciones incipientes de impacto antrópico/Study of macroinvertebrate in two intertidal soft bottoms: Reference data in conditions of incipient anthropic impact. *Latin American Journal of Aquatic Research*. Recuperado el 10 de Mayo de 2019 de: <https://doi.org/10.3856/vol44-issue3-fulltext-2>
- European Commission Directive. (1998). *Amending Council Directive 91/271/EEC with Respect to Certain Requirements Established in Annex I*. Official Journal of the European Communities, 98/15/EC, pp. 29-30.
- Evans, D., Piermarini, P. & Choe. K. (2005). *The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste*. *Physiological Reviews* 1: pp. 97-177. Recuperado el 15 de Julio de 2019 de: <https://doi.org/10.1152/physrev.00050.2003>
- Everall NC, Johnson MF, Wood P, Farmer A, Wilby RL, Measham N. (2017). *Comparability of macroinvertebrate biomonitoring indices of river health derived from semiquantitative and quantitative methodologies*. *Ecol Indic*. 2017; 78: pp. 437–448.
- FCEA. (2007). Contaminación del agua por detergentes (eutrofización). *Fondo para la Comunicación y la Educación Ambiental*.
- Fernández, M. (2011). Contaminación por fósforo procedente de la fertilización orgánica de suelos agrícolas, pp. 25-31.

- Ferrer, N., Cony, N., & Piccolo, M. (2012). Caracterización del fitoplancton y estado Trófico de la laguna Sauce Grande (Provincia de Buenos Aires, Argentina). *Biología Acuática*. 60(1), 3735–3749. Recuperado el 20 de Abril de 2019 de: <https://doi.org/https://core.ac.uk/download/pdf/158829152.pdf>
- Feuchtmayr, H., Morán, 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 Mesocosmos*. *Journal of Applied Ecology*, 46: pp. 713-723. Recuperado el 20 de junio de 2019 de: <https://doi:10.1111/1365-2664.2009.01644>
- Ghera, M. (2007). *Biodiversidad y ecosistemas la naturaleza en funcionamientos.pdf*. Colección Ciencia Joven. (Editorial Universitaria de Buenos Aires, Ed.). Buenos Aires: Eudeba, pp. 69.
- Giacometti, J. & Bersosa, F. (2015). Bioindicadores de calidad del agua en el río Alambi. Macroinvertebrados acuáticos y su importancia como bioindicadores de calidad del agua en el río Alambi. *Researchgate*. Recuperado el 8 de Diciembre de 2018 de: [https://www.researchgate.net/publication/267967001\\_Macroinvertebrados\\_acuaticos\\_y\\_su\\_importancia\\_como\\_bioindicadores\\_de\\_calidad\\_del\\_agua\\_en\\_el\\_rio\\_Alambi](https://www.researchgate.net/publication/267967001_Macroinvertebrados_acuaticos_y_su_importancia_como_bioindicadores_de_calidad_del_agua_en_el_rio_Alambi)
- Glynn, H., & Heinke, G. (1999). *Ingeniería-Ambiental-2da Edición*. Pearson Educación. México: pp. 318. Recuperado el 7 de Abril de 2019 de: [https://www.usuarios.cl/usuario/037b375d320373e6531ad8e4ad86968c/mi\\_blog/r/ingenieria-ambiental\\_glynn.pdf](https://www.usuarios.cl/usuario/037b375d320373e6531ad8e4ad86968c/mi_blog/r/ingenieria-ambiental_glynn.pdf)
- Gómez, A., Naranjo, D., Martínez, A., & Gallego, D. (2007). Calidad del agua en la parte alta de las cuencas Juan Cojo y El Salado (Girardota - Antioquia,

Colombia). *Revista Facultad Nacional De Agronomía Medellín*. Vol. 60(1), pp. 3735–3749.

González, R., Armbrecht, I., Montoya, J., Carrejo, N., Zúñiga, M., Chacón, P., Posso, C., Torres, D., Calero, H., Mendivil, J., González, M., Valdés, S., Sarria, F. & Cardona, W. (2012). Capítulo 7: En *Artropofauna Del PNN Gorgona*. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales. Universidad del Valle. Cali, Colombia. pp. 218.

Guerra, D. (2017). Alteración física y fisiológica de macroinvertebrados acuáticos (Género Smicridea) como efecto de cambios en la salinidad. *UDLA*, pp. 88. Recuperado el 15 de Abril de 2019 de: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.33703.75684>

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 10 de enero de 2019 de: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/9169>

Hauer, F. & Lamberti, G. (2006). *Methods in stream ecology*. 2da Edition. Academic Press, New York, New York, USA. Pp. 674.

Hoback, W & Stanley, D. (2001). *Insects in hypoxia*. *Journal of Insect Physiology*, 47, pp. 533–542. Recuperado el 26 de Enero de 2019 de: [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(00\)00153-0](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(00)00153-0)

Huamantico, A., Ortiz, W. (2010). Clave de géneros de larvas de Trichoptera (Insecta) de la Vertiente Occidental de los Andes, Lima, Perú. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. Recuperado de: implementación de la Estrategia Nacional de Biodiversidad y su Plan de Interactions in Streams, 70(6), pp. 1840–1856. Recuperado el 18 de Enero de 2019 de: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Hunnam, P; Milne, A. & Stebbing, P. (1991). *El acuario vivo: agua dulce y salada*. 2da Edición. (Libros del Carballo, Ed.). Madrid, España. Pp. 240.

- Institute for W.Q., R. & Waste. (2012). *International Water Quality Guidelines for Aquatic Ecosystems*. Vienna University of Technology Institute, 3(4), pp. 1-69.
- Jiménez, L., Carvajal, J., & Aguirre, N. (2010). Las ciénegas como hábitat para los peces: Estudio de caso en la ciénega de Ayapel (Córdoba), Colombia. *Actualidad Biológica*, 32(92), 53–64. Recuperado el 2 de Abril de 2019 de: <http://www.scielo.org.co/pdf/acbi/v32n92/v32n92a5.pdf>
- Kennish, M. J., & De Jonge, V. N. (2012). *Chemical Introductions to the Systems Diffuse and Nonpoint Source Pollution from Chemicals Nutrients Eutrophication* (pp. 315). In E. McLusky, & D. Wolanski (Eds.). *Treatise on Estuarine and Coastal Science Human-induced Problems (Uses and Abuses)*. Oxford: Elsevier
- Kiersch, B., Mühleck, R., & Gunkel, G. (2004). Las macrófitas de algunos lagos alto-andinos del Ecuador y su bajo potencial como bioindicadores de eutrofización. *Revista de Biología Tropical*, 52(4), pp. 829–837.
- Larrea, C., Cuesta, F., López, A., Greene, N., Iturralde, P., Maldonado, G., & Suárez, D. (2015). *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: MAE, CONDESAN, GIZ, PNUD-FMAM, USAB.
- Lavie, E., Bermejillo, A., & Morábito, J. (2010). Contaminación por fosfatos en el oasis bajo riego del río Mendoza.pdf. *Revista de La Facultad de Ciencias Agropecuarias*, pp. 169–184.
- Mackay, R., & Wiggins, G. (1979). Ecological diversity in trichoptera. *Annual Review of Entomology*. Pp. 24. Recuperado el 8 de Marzo de 2019 de: <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.en.24.010179.001153>

- Ministerio del Ambiente Ecuador. (2017). Texto Unificado Legislación Secundaria, Medio Ambiente (TULSMA), pp. 1–407. Recuperado el 28 de Noviembre de 2018 de: <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2018/05/TULSMA.pdf>
- Montoya, Y., & Aguirre, N. (2013). Estado del arte del conocimiento sobre perifiton en Colombia. *Gestión Y Ambiente*, pp. 91–117. Recuperado el 15 de Febrero de 2019 de: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/gestion/article/download/30155/42948>
- Morelli, E. y Verdi, A. 2014. Diversidad de macroinvertebrados acuáticos en cursos de agua dulce con vegetación ribereña nativa de Uruguay. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85: pp. 1160-1170. Recuperado el 10 de mayo de 2019 de: <https://doi.org/10.7550/rmb.45419>
- Moschini, V. (1999). Importância, estrutura e dinâmica da comunidade perifítica nos ecossistemas aquáticos continentais. *Universidade Federal Do Maranhão, Departamento de Oceanografia E Limnologia Praça*, pp. 1–11. Recuperado el 20 de Diciembre de 2018 de: <http://www.ib.usp.br/limnologia/Perspectivas/arquivo%20pdf/Capitulo%206.pdf>
- Murialdo, R. (2016). *Ecología, ecosistemas, ecotoxicología conceptos fundamentales.pdf*. (Brujas, Ed.). Córdoba. Pp. 202. Recuperado el 25 de Marzo de 2019 de: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/udlasp/reader.action?docID=4760486&query=Ecolog%C3%ADa%2C+ecosistemas%2C+ecotoxicolog%C3%ADa%3A+conceptos+fundamentales.+>
- Navalpotro, J., Alcolea, M., Quiroga, F., & Sotelo, M. (2009). La degradación medioambiental de la cuenca mediterránea: conservación vs gestión de unos recursos y de un patrimonio compartido. *Observatorio Medioambiental*, Vol. 12, pp. 167–206.



- Ordoñez, M. (2011). Influencia del uso del suelo y la cobertura vegetal natural en la integridad ecológica de los ríos altoandinos al noreste del Ecuador. *USFQ*, pp. 53. Recuperado el 28 de diciembre de 2018 de: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/552/1/99556.pdf>
- Ortega, D., Ortega, J., Moncayo, P., Vargas, I., Pompêo, M., & Martins, L. (2018). Uso del suelo y su influencia en la presión y degradación de los recursos hídricos en cuencas hidrográficas. *Revista De Investigación Agraria Y Ambiental*, vol. 9, pp. 41.
- Paredes, J. & Ramos, M. (2014). Reactores discontinuos secuenciales: Una tecnología versátil en el tratamiento de aguas residuales. *Ciencia E Ingeniería Neogranadina*, vol. 24, pp. 49–67.
- Pozo, J. (2011). *Puesta en Marcha de Un Reactor Aerobio de Lecho Fluidizado Para la eliminación de nitrógeno amoniacal*. (Lulu.com Ed.). Vigo.
- Pradesh, U. (2005). *Eutrophication: An Ecological Vision*. Source: The Botanical Review, vol. 71(4), pp. 449–482. Recuperado el 22 de Febrero de 2019 de: [https://doi.org/10.1663/0006-8101\(2005\)071](https://doi.org/10.1663/0006-8101(2005)071)
- Pütz, P. (2008). Eliminación y determinación de fosfato. Analítica de laboratorio y sistema de control de proceso, nutrientes: fosfato. Productos de aplicación de laboratorio, HACH LANGE.
- Pütz, P. (2011). *Unit for Water Quality. Fourth Edition*. World Health Organization. Recuperado el 30 de Noviembre de 2018 de: <https://apublica.org/wp-content/uploads/2014/03/Guidelines-OMS-2011.pdf>
- Ramírez, F. (2004). *Dinámica fisicoquímica de un microcosmo y los posibles efectos sobre el crecimiento y clorofila c en Acropora cervicornis*. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Recuperado el 13 de Abril de 2019 de: <https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bistream/handle/20.500.12010/1360/T682.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Ramos, C. (2010). *Adecuación al área mediterránea de la evaluación del riesgo para el medio ambiente de productos fitosanitarios*. Universidad Complutense de Madrid. Recuperado el 26 de Mayo de 2019 de: <http://eprints.ucm.es/11178/1/T31771.pdf>
- Raven, J., Evert, A. & Eichhorn, M. (1992). *Biología de las plantas. Tomo II.pdf*. Editorial Reverte, S.A. Barcelona. Pp. 371-773.
- Rivas, Z. (2009). Nitrógeno y Fósforo Totales de los Ríos Tributarios al Sistema Lago de Maracaibo, Venezuela. *Interciencia*, vol. 34, pp. 308-315. Recuperado el 18 de Febrero de 2019 de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33911403002>
- Rivera, J., Pinilla, G., & Camacho, D. (2013). *Macroinvertebrate Trophic Groups in an Andean Wetland of Colombia*. *Acta Biológica Colombiana*. Recuperado el 22 de Mayo de 2019 de: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-548X2013000200006](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2013000200006)
- Rodríguez, L., Bicudo, D., & Moschini, C. (2003). *O papel do perifiton em áreas alagáveis e nos diagnósticos ambientais. In Ecologia e Manejo de Macrófitas Aquáticas. Maringá: Eduem*. Pp. 342. Recuperado el 10 de Diciembre de 2018 de: [http://www.eduem.uem.br/livros/ebook/ebook\\_eemdma.pdf](http://www.eduem.uem.br/livros/ebook/ebook_eemdma.pdf)
- Rodríguez, L., Zanon, J., Carapurnala, L., & Biolo, S. (2008). *Perifiton em A Planície Alagável do Rio Paraná: estrutura e Processo Ambiental*, pp. 115–122. Recuperado el 5 de Diciembre de 2018 de: <http://www.peld.uem.br/Relat2008/pdf/Capitulo04.pdf>
- Roldán, G. & Ramírez, J. (2008). *Fundamentos de limnología neotropical*. 2da ed. Medellín: *Editorial Universidad de Antioquia*, pp. 440.

- Rosenberg, D. & Resh, V. (1993). Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. *Chapman & Hall*. New York. Pp. 488.
- Samanez, I. & Lopez, D. (2014). Geographical distribution of *Boeckella* and *Neoboeckella* (Calanoida: Centropagidae) in Perú. *Revista Peruana de Biología*, pp. 223–228. Recuperado el 20 de Marzo de 2019 de: <https://doi.org/10.15381>
- Sánchez, C. (2018). Determinación de cambios fisiológicos del género *Nectopsyche* (Leptoceridae: Trichoptera) en presencia de aguas con diferentes concentraciones de glifosato. *UDLA*, pp. 67. Recuperado el 11 de Diciembre de 2018 de: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/8685/1/UDLA-EC-TIAM-2018-06.pdf>
- Schindler, D. (1987). Detecting Ecosystem Responses Anthropogenic, vol. 44, pp. 6–25. Recuperado el 9 de Enero de 2019 de: [sci-hub.tw/10.1139/f87-276](http://sci-hub.tw/10.1139/f87-276)
- Schindler, D. (2012). The dilemma of controlling cultural eutrophication of lakes. *Proceedings of the Royal Society. Vol. 279*, 4322–4333. Pp. 12. Recuperado el 11 de Abril de 2019 de: <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.1032>
- Secretaría de Ambiente, M. del D. M. de Q. (2010). Memoria técnica mapa de cobertura vegetal del DMQ, escala 1:25.000., pp. 37. Recuperado el 17 de Diciembre de 2018 de: [http://www.ecofondoecuador.com/index.php?option=com\\_joomdoc&task=document.download&path](http://www.ecofondoecuador.com/index.php?option=com_joomdoc&task=document.download&path)
- Seeligmann, C., & Tracanna, B. C. (2009). Dinámica del fitoplancton en un embalse de alta cota del Noroeste Argentino (Tucumán). *Asociación Ibérica de Limnología.*, pp. 105–123.

- Senante, M., Sancho, F., & Garrido, R. (2012). Estado actual y evolución del saneamiento y la depuración de aguas residuales en el contexto nacional e internacional. *Canales de Geografía de La Universidad Complutense de Madrid*, vol. 32, pp. 69–90.
- Smith, V. & Schindler, D. (2009). *Eutrophication Science: Where do We Go from Here?* Trends Ecol. vol., 24, pp. 201-207.
- Spellman, F. (2014). *Water and Wastewater Treatment Plant Operations Third Edition*. (T.-F. Group, Ed.). Boca Ratón. Recuperado el 22 de Mayo de 2019 de: [payesh.saba.org.ir/saba\\_content/media/image/2013/12/6069\\_orig.pdf](http://payesh.saba.org.ir/saba_content/media/image/2013/12/6069_orig.pdf)
- Springer, M., Serrano, L., & Zepeda, A. (2010). *Guía ilustrada para el estudio ecológico y taxonómico de los insectos acuáticos inmaduros del Orden Trichoptera en El Salvador*. (Universitaria UES, Ed.). Recuperado el 24 de Mayo de 2019 de: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/3027/1/ORDEN%20TRICHOPTERA%20ACUATICOS%20EL%20SALVADOR.pdf>
- Van Leeuwen, C., & Vermeire, T. (2007). *Risk assessment of chemicals: An introduction*. Holanda: Springer. Recuperado el 28 de Mayo de 2019 de: <http://www.acad.bg/ebook/cheminformatics/van%20LeeuwenRisk%20Assessment%20of%20Chemicals-An%20Introduction%202nd%20ed.pdf>
- Wetzel, R. (1983). Opening remarks. En: Wetzel, R., (Ed.). *Periphyton of freshwater ecosystems. Proceedings of the First International Workshop on Periphyton of Freshwater Ecosystems held in Vaxjo, Sweden*. Dr. W. Junk Publishers. The Netherlands, pp. 3-4.
- Wetzel, R. G. (2001). *Limnology, Lake and River Ecosystems*. San Diego: *Journal of Phycology*, vol. 37(6), pp. 1146–1147.
- Wiggins, G. (2004). *Caddisflies-the underwater architects*. University of Toronto Press. Recuperado el 13 de Febrero de 2019 de:

[https://books.google.com.ec/books?id=gsFYGVzg4JcC&printsec=copyright  
&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=gsFYGVzg4JcC&printsec=copyright&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)

Yuan, L. L., & Pollard, A. I. (2015). *Classifying Lakes to Quantify Relationships between Epilimnetic Chlorophyll a and Hypoxia. Environmental Management*, pp. 578–587. Recuperado el 7 de Abril de 2019 de: <https://doi.org/10.1007/s00267-014-0412-x>

Zamora, C., Bariáin, M., & Bonada, N. (2015). Orden Trichoptera. *IDEA-SEA*, vol. 64, pp. 1–21. Recuperado el 25 de Mayo de 2019 de: [https://doi.org/http://sea-entomologia.org/IDE@/revista\\_64.pdf](https://doi.org/http://sea-entomologia.org/IDE@/revista_64.pdf)

## **ANEXOS**

**ANEXO 1.** Resultado de la Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk y gráfico Histograma para Fosfatos.

---

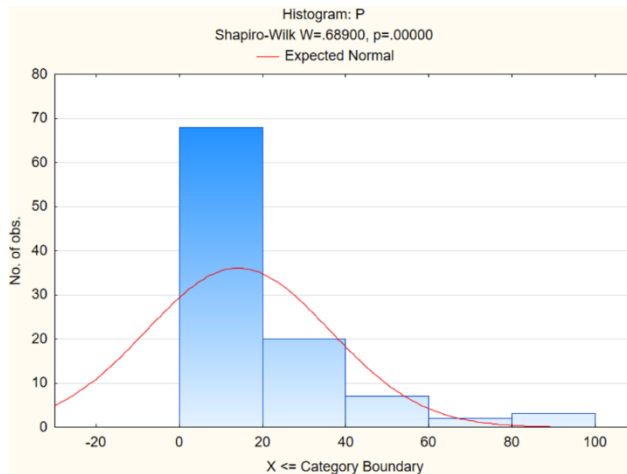
Frecuencia de Tabla: Fosfatos

---

Shapiro Wilk = 0.68900

p = 0.00000

---



**ANEXO 2.** Resultado de la Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk y gráfico Histograma para Temperatura.

---

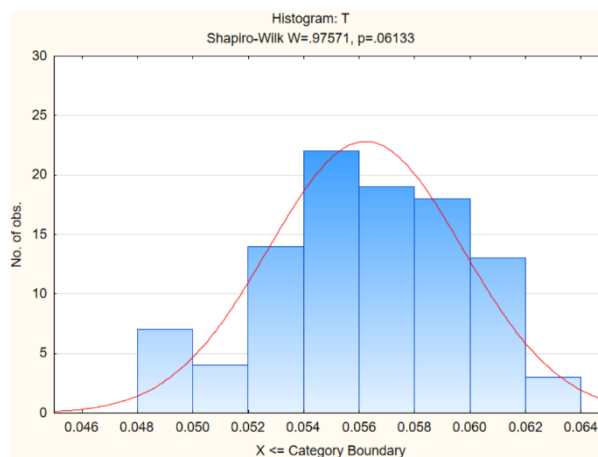
Frecuencia de Tabla: Temperatura

---

Shapiro Wilk = 0.97571

p = 0.06133

---



**ANEXO 3.** Resultado de la Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk y gráfico Histograma para pH.

---

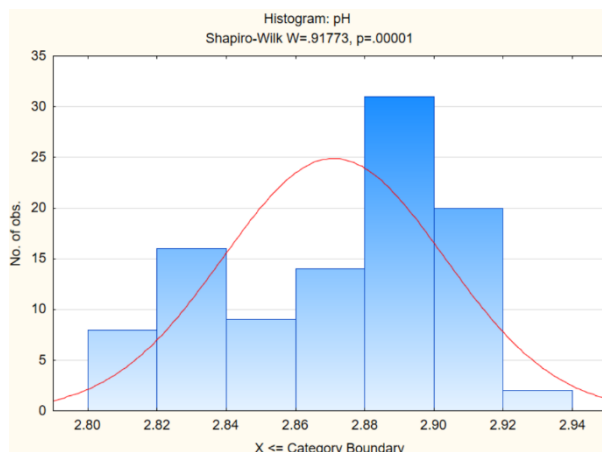
Frecuencia de Tabla: pH

---

Shapiro Wilk = 0.91773

p = 0.00001

---



**ANEXO 4.** Resultado de la Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk y gráfico Histograma para Conductividad.

---

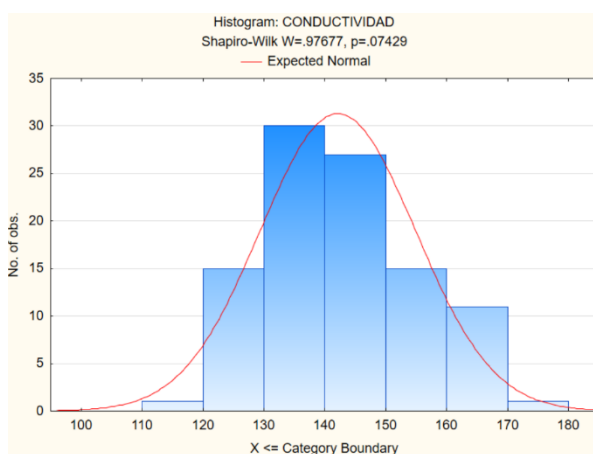
Frecuencia de Tabla: Conductividad

---

Shapiro Wilk = 0.97677

p = 0.07429

---





**ANEXO 5.** Resultado de la Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk y gráfico Histograma para Oxígeno.

---

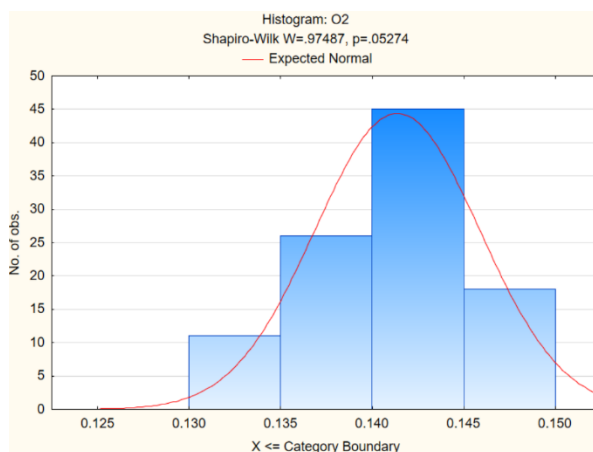
Frecuencia de Tabla: Oxígeno

---

Shapiro Wilk = 0.97487

p = 0.05274

---



**ANEXO 6.** Resultado de la Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk y gráfico Histograma para Clorofila.

---

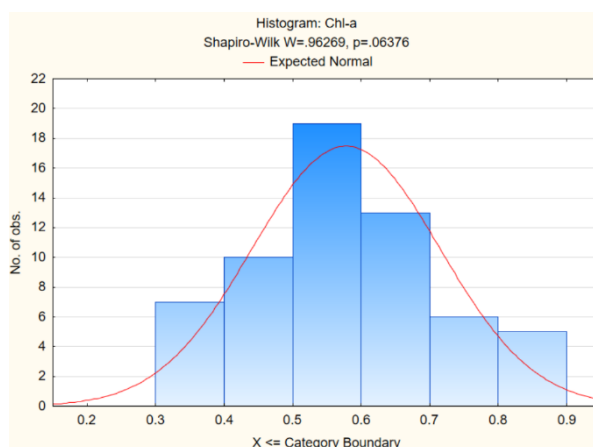
Frecuencia de Tabla: Clorofila

---

Shapiro Wilk = 0.96269

p = 0.06376

---



**ANEXO 7.** Resultado de la Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk y gráfico Histograma para Materia Orgánica.

---

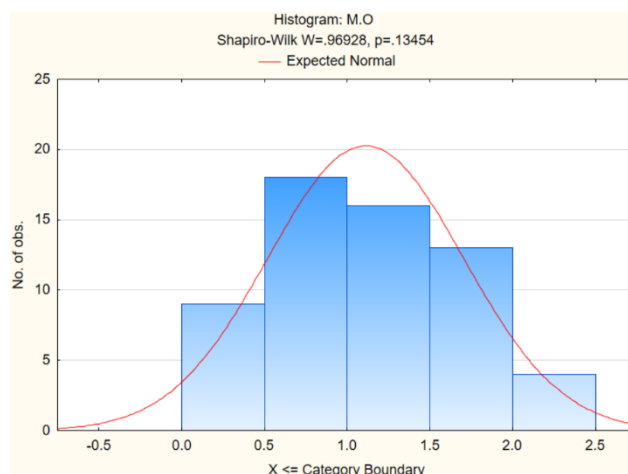
Frecuencia de Tabla: Materia Orgánica

---

Shapiro Wilk = 0.96928

p = 0.13454

---



**ANEXO 8.** Resultado de la Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk y gráfico Histograma para Peso de macroinvertebrados.

---

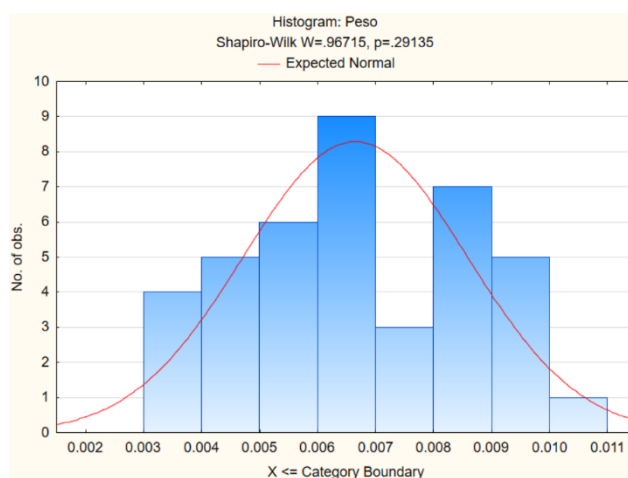
Frecuencia de Tabla: Peso de macroinvertebrados

---

Shapiro Wilk = 0.96715

p = 0.29135

---



**ANEXO 9.** Resultado de la Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk y gráfico Histograma para Ancho de macroinvertebrados.

---

Frecuencia de Tabla: Ancho de macroinvertebrados

---

Shapiro Wilk = 0.94340

p = 0.04506

---

