



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

AFECTACIONES POR CAMBIOS EN LA SALINIDAD EN LA FAMILIA  
CHIRONOMIDAE POR ACTIVIDADES MINERAS

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

Profesor Guía

Ph.D. Christian Patricio Villamarín Flores

Autora

Angie Pamela Ramírez Gallegos

Año

2019

## **DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA**

"Declaro haber dirigido el trabajo, Afectaciones por cambios en la salinidad en la familia Chironomidae por actividades mineras, de Angie Pamela Ramírez Gallegos, 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 Fundamental y Aplicada  
C.C.:1002339404

## **DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR**

"Declaro haber revisado este trabajo, Afectaciones por cambios en la salinidad en la familia Chironomidae por actividades mineras, de Angie Pamela Ramírez Gallegos, en el semestre 201920, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

---

Indira Fernandina Black Solís

Magister en Conservación y Gestión del Medio Natural

C.C.:1711273563

## **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.”

---

Angie Pamela Ramírez Gallegos

C.C.: 1752084820

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres por todo su esfuerzo y apoyo, a Carlos por estar siempre de manera incondicional y por sus palabras de aliento, a mis tíos y mi abuelita por todo su cariño.

A mi profesor Christian por haberme abierto las puertas del Centro de Investigación de la UDLA, a Nicole por su ayuda a lo largo de todo este proceso.

## **DEDICATORIA**

A mis padres Sandra y Guillermo  
por haber creído en mí y darme la  
oportunidad de cumplir un sueño.

## RESUMEN

Ecuador, desea convertirse en un país explotador de recursos minerales a gran escala. Sin embargo, la minería es considerada una actividad de elevado riesgo ambiental. La actividad minera se encuentra relacionada con la degradación del ecosistema provocado por una alta cantidad de sólidos suspendidos, y metales pesados totales. En ciertos casos los metales presentes se encontrarán biodisponibles para el consumo de la biota, lo cual puede desencadenar problemas en todo el ecosistema acuático, así como la pérdida de servicios ambientales, bioacumulación, y alteración en las características fisicoquímicas medio provocando la acidificación o salinización. El aumento de la salinidad en los macroinvertebrados acuáticos, da paso a un estrés fisicoquímico, debido a que es necesario un mayor gasto de energía para mantener los niveles de salinidad estables. En el presente estudio se propuso determinar los cambios letales y fisiológicos de la salinidad en la familia Chironomidae, además de los posibles cambios sobre la concentración de clorofila, mediante la implementación de microcosmos. Se evaluó los efectos de las concentraciones de 0, 500, 1000 y 2000 mg/l de  $Na_2SO_4$ , valores determinados mediante el análisis de cuerpo hídricos con influencia minera. Al cabo de cinco días de exposición de las larvas a la salinidad se obtuvo una mortalidad del 78% en la concentración más elevada, también se evidenció un acelerado proceso de emergencia y empupamiento. La concentración de clorofila sufrió una disminución significativa en las más altas salinidades. Y, se constató que el incremento de la salinidad en el medio acuático provoca cambios en la fisicoquímica del agua, especialmente el pH.

**Palabras clave:** minería, salinidad, quironómidos, efectos subletales, mortalidad, perifiton, clorofila, cambios fisicoquímicos.

## ABSTRACT

Ecuador wants to become a country that exploits mineral resources on a large scale. However, mining is considered a high environmental risk activity. Mining activity is related to ecosystem degradation caused by a high amount of suspended solids, and total heavy metals. In certain cases, the metals present will be bioavailable for biota consumption, which can trigger problems in the entire aquatic ecosystem, as well as the loss of environmental services, bioaccumulation, and alteration in the average physicochemical characteristics causing acidification or salinization. The increase in salinity in aquatic macroinvertebrates gives way to physicochemical stress, since a greater expenditure of energy is necessary to maintain stable salinity levels. In the present study it was proposed to determine the lethal and physiological changes of the salinity in the Chironomidae family, besides the possible changes on the chlorophyll concentration, by means of the implementation of microcosms. The effects of  $Na_2SO_4$  at concentrations of 0, 500, 1000 and 2000 mg/l were evaluated. These values were determined through the analysis of water bodies with mining influence. After five days of exposure of the larvae to salinity, a 78% mortality was obtained in the highest concentration, and an accelerated emergency process was also evidenced. The concentration of chlorophyll suffered a significant decrease in the highest salinities. And, it was found that the increase in salinity in the aquatic environment causes changes in the physicochemistry of the water, especially the pH.

**Keywords:** mining, salinity, chironomids, sublethal effects, mortality, periphyton, chlorophyll, physicochemical changes.



# ÍNDICE

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Alcance .....	5
1.3. Justificación .....	5
1.4. Objetivos.....	6
1.4.1. General.....	6
1.4.2. Específicos .....	6
2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	6
2.1. Contaminación de ríos .....	6
2.2. Minería .....	8
2.3. Minería en Ecuador.....	9
2.4. Efectos de la minería sobre la biota acuática .....	11
2.5. Efectos de la salinidad en ríos por actividades mineras .....	12
2.6. Familia Chironomidae.....	14
2.7. Efectos de la salinidad sobre los quironómidos .....	16
2.8. Perifiton.....	17
2.9. Efectos de la salinidad sobre el perifiton .....	18
3. CAPÍTULO III. METODOLOGÍA .....	18
3.1. Caracterización del agua de ríos con influencia minera.....	18
3.2. Preparación de la fase de experimentación.....	19
3.2.1. Sitio de recolección de larvas .....	19
3.2.2. Selección de larvas de quironómidos .....	19
3.2.3. Determinación de rangos de salinidad.....	21
3.2.4. Clorofila .....	22
3.3. Experimentación y medición .....	23
3.3.1. Ensayos con microcosmos .....	23
3.3.2. Medición de parámetros fisicoquímicos.....	24
3.3.3. Medición de parámetros biológicos .....	24

3.3.4. Medición de sulfatos .....	24
3.3.5. Estimación de la concentración de la clorofila .....	25
3.4. Análisis estadísticos.....	27
<b>4. CAPÍTULO IV. RESULTADOS .....</b>	<b>29</b>
4.1. Análisis de parámetros fisicoquímicos .....	29
4.1.1. Temperatura .....	29
4.1.2. pH.....	30
4.1.3. Conductividad eléctrica.....	31
4.1.4. Oxígeno disuelto.....	32
4.2. Variación de sulfatos .....	33
4.3. Análisis de clorofila .....	34
4.4. Efectos de la salinidad sobre quironómidos.....	35
4.4.1. Mortalidad .....	35
4.4.2. Supervivencia.....	37
4.4.3. Tasa de emergencia .....	38
<b>5. CAPÍTULO V. DISCUSIÓN .....</b>	<b>39</b>
<b>6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>44</b>
6.1. Conclusiones .....	44
6.2. Recomendaciones.....	45
REFERENCIAS .....	46
ANEXOS .....	59

# 1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Antecedentes

La minería se define como una actividad económica que comprende un conjunto de técnicas y procesos que se relacionan con el descubrimiento y explotación de yacimientos minerales (Ministerio de Minas y Energía, 2015).

Durante siglos la extracción minera ha sido considerada como una fuente de altos ingresos económicos para quien los explota, así como también, ha llegado a significar preocupación medioambiental y social en los sitios en los que se desarrolla. Este malestar se ha ido incrementando en los últimos años, dada la creciente demanda de minerales y metales, puesto que, esto se relaciona con el incremento en la contaminación en las matrices ambientales (Ossa-Moreno et al., 2018). En las zonas de explotación de metales, existen afectaciones al bienestar de los ecosistemas terrestres y acuáticos de las cuencas hidrográficas (Sairinen, Tiainen, & Mononen, 2017).

Se estima que las actividades mineras en Latinoamérica se han desarrollado entre los siglos XVI y XIX, a partir de la época de la conquista europea, en la que se extrajeron alrededor de 1, 685 toneladas métricas de oro y se calcula que alrededor de 50,000 toneladas métricas de mercurio fueron necesarias para realizar su extracción. Estos hechos históricos hicieron que los pueblos latinoamericanos sean considerados como exportadores de recursos naturales (Brain, 2017).

Los ríos en los países andinos poseen una estrecha relación con las comunidades humanas que habitan cerca de este recurso, por lo cual la actividad minera impacta tanto de manera positiva como negativa en la vida de estas personas. La minería trae consigo una nueva forma de obtener recursos

económicos, pero también puede reducir las entradas económicas provenientes del aprovechamiento directo o indirecto de los recursos que proporcionan los cuerpos hídricos (como la pesca), además la contaminación de fuentes hídricas perjudica a la ganadería y agricultura local (Brain, 2017).

El agua, es un recurso fundamental para llevar a cabo los procesos mineros; se estima que, para producir una onza de oro, se requieren 8,000 litros de agua (Kuhn, 2011). De este elevado consumo agua es que nace la preocupación de abordar los efectos de la minería en los ecosistemas acuáticos, dado que esta actividad trae consigo disminución en la calidad y cantidad de agua en ríos, lagos y aguas subterráneas, por lo cual es un tema de importancia global (Mhlongo, Mativenga, & Marnewick, 2018). Estudios demuestran que la actividad minera en un afluente genera un aumento en la turbidez, debido a la alta cantidad de sólidos suspendidos y sedimentables, existe evidencia también de un incremento en la cantidad de metales pesados totales (Bjerklie & LaPerriere, 1985).

Ecuador, en las últimas décadas se ha posicionado a nivel mundial como un país poseedor de grandes reservas minerales, que no ha sido capaz de explotar a gran escala. Por lo que en el país se ha decidido desarrollar cinco proyectos mineros a gran escala, estos proyectos son: Fruta del Norte, Mirador, Río Blanco, Loma Larga, San Carlos Panantza (Ministerio de Minería, 2018).

Actualmente la minería en Ecuador se considera en su mayoría artesanal. Su inadecuada gestión de desechos, junto con la extracción de minerales de manera rústica, ha ocasionado contaminación hídrica provocada principalmente por la escorrentía de residuos mal almacenados, además del vertido ilegal de desechos mineros en afluentes cercanos (Avci, 2017) Debido a la ineficiente gestión de desechos mineros, los metales ingresan como complejos disueltos e iones relacionados con los sólidos en suspensión (Adler Miserendino et al., 2013; Håkan Tarras-Wahlberg et al., 2000). En ciertos casos los metales se encontrarán biodisponibles para el consumo de la biota, lo cual puede desencadenar problemas en todo el ecosistema acuático, así como la pérdida

de servicios ambientales, bioacumulación, reducción de biodiversidad, además de la variación en las características fisicoquímicas del medio provocando la acidificación o salinización (Tarras-Wahlberg, Flachier, Lane, & Sangfors, 2001).

La acidificación es la disminución de pH, lo cual desata un incremento de iones metálicos; la acidificación afecta al desarrollo de la fauna acuática, como a ciertas especies de macroinvertebrados que son altamente sensibles a niveles bajos de pH (Li et al., 2018).

Por otro lado, la salinidad se define como la cantidad total de iones disueltos presentes en el agua o suelo y representan la capacidad de transmitir corriente eléctrica, también conocida como conductividad eléctrica (Cañedo-Argüelles et al., 2012). La salinidad es causada principalmente por la presencia de los iones de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  y  $\text{HCO}_3^-$  (Cañedo-Argüelles et al., 2013). La presencia de estos iones en el agua de manera natural tienen origen en tres principales fuentes: la primera es la proviene de la meteorización de la cuenca hidrográfica, la segunda es provocada por el ingreso de sales en forma de aerosol, la misma que es característica de zonas costeras, y una tercera fuente tiene lugar por el ingreso de pequeñas cantidades de sales disueltas en el agua de lluvia como consecuencia de la evaporación de agua de mar (Cañedo-Argüelles et al., 2012).

Las actividades antrópicas son consideradas una fuente secundaria de salinidad en el medio acuático, esta de gran preocupación dada la gran cantidad de iones que ingresan al medio y que generan riesgos para la biodiversidad, así como también compromete los servicios ambientales de los cuerpos hídricos. Entre las principales actividades que son consideradas como una fuente de salinización secundaria, se encuentran, el riego en la agricultura y la actividad minera (Cañedo-Argüelles et al., 2013).

De acuerdo con estudios realizados, se sabe que los macroinvertebrados de los ecosistemas acuáticos dulces son sensibles a niveles elevados de salinidad, ya

que los organismos en un medio no perturbado son capaces de mantener niveles de salinidad interna. Se ha identificado que el aumento de iones disueltos ha significado un nuevo factor de estrés, capaz de alterar la comunidad biótica tanto en su riqueza como en su composición (Vander Vorste et al., 2019). Por otro lado, cuando los niveles de sal en el medio acuático incrementan, los invertebrados necesitan gastar más energía para expulsar los iones en exceso y poder mantener sus niveles de salinidad internos normales (Cañedo-Argüelles et al., 2013). Cuando el contenido de sal es extremadamente alto, la capacidad osmoregulatoria del organismo puede colapsar, causando daño celular o la muerte (Carver et al., 2009).

Dentro del grupo de macroinvertebrados acuáticos, se considera a la familia Chironomidae como los organismos de más alta distribución y frecuencia en ecosistemas de agua dulce (Cranston, 1995). Esta familia se caracteriza por habitar en varias regiones zoogeográficas, y además habitar en amplios rangos de pH, oxígeno disuelto y salinidad (Smolders, Lock, Van der Velde, Medina Hoyos, & Roelofs, 2003). Los quironómidos desempeñan un papel fundamental en las cadenas tróficas tanto acuáticas como terrestres dada su extensa abundancia y riqueza dentro del ecosistema (Zinchenko & Golovatyuk, 2013). Debido a estas características, sumado a su ciclo de vida corto, además de la sencilla identificación de sus estadios de crecimiento, los convierte en organismos factibles para ser usados en ensayos toxicológicos (Beermann, Zizka, Elbrecht, Baranov, & Leese, 2018). Se ha identificado que la salinidad en quironómidos afecta principalmente a la tasa de desarrollo y a la supervivencia; los niveles altos de salinidad se han visto relacionados con la ovoposición y la colonización (Carver et al., 2009). De acuerdo con el estudio realizado por Hassell, Kefford, & Nugegoda (2006) se logró establecer una relación entre los niveles de salinización elevados con procesos de desarrollo más prolongados, lo cual provoca un ciclo de vida de mayor duración con un posible efecto sobre la dinámica reproductiva.

## 1.2. Alcance

El presente estudio identificó los posibles efectos de la salinidad en quironómidos. Esto se logró mediante la simulación de un ecosistema acuático (microcosmos) bajo condiciones controladas en laboratorio y variaciones en las concentraciones de salinidad. Los resultados obtenidos contribuyen a la generación de información sobre las afectaciones que producen las actividades mineras en los ecosistemas acuáticos.

## 1.3. Justificación

Ecuador, actualmente no ha sido generador de estudios suficientes en cuanto a afectaciones ambientales relacionadas a la minería; esto en gran parte, debido a que el país hasta el momento se ha caracterizado por tener una extracción de minerales de forma artesanal e ilegal (Avci, 2017), lo cual dificulta evaluar el daño ambiental en las zonas de influencia de la minería.

La actividad minera causa contaminación en todas las matrices ambientales (agua, suelo, aire) provocando agotamiento de recursos no renovables, así como daño en el paisaje, pérdida de hábitat, contaminación en aguas superficiales y subterráneas (Fugiel, Burchart-Korol, Czaplicka-Kolarz, & Smoliński, 2017). Uno de los mayores problemas que genera la minería es el vertido o esorrentía de residuos mineros, provocando graves impactos ambientales a las comunidades acuáticas (Kefeni, Msagati, & Mamba, 2017).

Los macroinvertebrados acuáticos son considerados una parte importante de los ecosistemas de río, porque forman parte de la biomasa animal existente en un cuerpo hídrico, además de ser partícipes de la transmisión de energía dentro de la cadena trófica (Ladrera, 2012). La importancia de los macroinvertebrados radica en que son usados como bioindicadores de calidad agua (Prat, Ríos, Acosta, & Rieradevall, 2009).

La presente investigación tiene como objeto identificar los posibles efectos letales y subletales en la Familia Chironomidae debido a la exposición a diferentes niveles de salinidad en el agua. Este estudio nace, debido a la creciente preocupación existente en país, ya que Ecuador planea convertirse en un país extractor de minerales a escala industrial, dejando de lado las consecuencias medio ambientales y sociales que esta actividad traería a las zonas cercanas. Es así como el presente trabajo desea contribuir a la generación de información sobre los efectos que poseen las actividades mineras en los macroinvertebrados acuáticos, representados por la familia Chironomidae.

#### 1.4. Objetivos

##### 1.4.1. General

Determinar los efectos de la salinidad en la Familia Chironomidae en un sistema acuático artificial.

##### 1.4.2. Específicos

- Evaluar el contenido de salinidad en ríos con influencia minera.
- Determinar los efectos letales y subletales en quironómidos a diferentes concentraciones de sulfato de sodio.

## 2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Contaminación de ríos



El estado en el que un cuerpo hídrico se encuentra, está relacionado con las actividades antropogénicas que se desarrollan a su alrededor, asimismo con la forma en la que éstas fuentes son manejadas por los gobiernos al mando (Zhao, Zhou, Dong, & Dai, 2019). La salud de un río puede representarse en base a su función ecológica y biodiversidad; el deterioro de estos factores se debe principalmente al crecimiento poblacional y la industrialización, dichos procesos han ido incrementando a lo largo de los años, obteniendo como resultado diferentes problemas ecológicos, además de una reducción en la calidad del agua (Ma, Luo, Yang, Lu, & Fan, 2019).

Actividades humanas como, la construcción de presas, el consumo desmesurado de agua, el desvío del curso natural de un río, da como consecuencia cambios en el ciclo hidrológico natural (Zhao et al., 2019). Debido a los impactos ocasionados por las actividades antropogénicas, se estima que en más del 99.8% de los ríos alrededor del mundo sufren afectaciones no solo en la calidad del agua, sino también, se registran afectaciones en los ciclos biogeoquímicos y los procesos de nutrientes en los ecosistemas acuáticos (Bu, Song, & Zhang, 2019). Debido a que la agricultura es una actividad económica predominante en las zonas rurales, el uso de fertilizantes y pesticidas aumenta la posibilidad de eutrofización en un río (Hooda, Edwards, Anderson, & Miller, 2000), mientras que en zonas urbanas que son altamente pobladas y con influencia de actividades del tipo industrial, la falta de plantas de tratamiento de aguas residuales ocasiona una alta contaminación de los ríos (Massoud, El-Fadel, Scrimshaw, & Lester, 2006).

El deterioro en la calidad del agua limita su uso, dando como resultado escasez de este recurso, por ello es necesario establecer estrategias de manejo del recurso hídrico, para así contrarrestar o prevenir los posibles impactos a largo plazo sobre la biodiversidad y servicios ecológicos (Kuemmerlen, Reichert, Siber, & Schuwirth, 2019).

## 2.2. Minería

En el mundo actual, el crecimiento poblacional y el avance tecnológico ha dado como resultado un incremento en la demanda de metales, sin embargo, es necesario tener presente que los minerales son recursos limitados, y por ello en un futuro cercano se prevé un déficit en el suministro de estos recursos (Leppänen, Weckström, & Korhola, 2017). A pesar de su importancia, la industria minera es considerada una actividad de elevado riesgo ambiental, dado que se encuentra relacionada con la degradación del ecosistema y contribuye a un aumento de metales pesados en el medio ambiente, (Martinez, Torres, dos Santos, & Moens, 2018). Es por ello que es necesario considerar sus impactos sobre la hidrología, la biodiversidad y las comunidades cercanas (Lechner et al., 2017). La minería se caracteriza por ser una de las fuentes más intensivas de alteración ambiental y social, tanto de manera temporal como el cambio en el paisaje natural de manera irreversible (Hilson, 2002).

El desarrollo de la actividad minera consta de tres fases, las cuales incluyen: la exploración, extracción y cierre. Los impactos ambientales se producen principalmente al cabo de haber iniciado la extracción de minerales y una vez que el recurso empieza a agotarse (Rankin, 2011). En la fase de cierre se plantean alternativas para la recuperación del paisaje, sin embargo, en ciertos casos no existen soluciones viables que permitan manejar la contaminación causada por esta actividad, en este caso las empresas mineras deben gestionar estos pasivos ambientales de manera permanente (Lechner et al., 2017).

El sector minero impacta al medio ambiente con la contaminación del aire y la eliminación de residuos, dando lugar a dos tipos de preocupaciones medioambientales, tales como el agotamiento de los recursos no renovables y el daño al medio ambiente, en este último aspecto se han identificado impactos negativos en los hábitats naturales, así como también, daño en el paisaje,

contaminación del aire, suelo, aguas subterráneas y superficiales (Fugiel, Burchart-Korol, Czaplicka-Kolarz, & Smoliński, 2017). Uno de los mayores problemas con la actividad minera, es la descarga no controlada de aguas residuales lo cual significa una fuente importante de contaminación en aguas superficiales, causando graves impactos ambientales en las comunidades acuáticas (Kefeni, Msagati, & Mamba, 2017).

### 2.3. Minería en Ecuador

La época colonial en América del Sur trajo consigo un incremento en la extracción de minerales como el oro, plata, entre otros (Betancur-Corredor, Loaiza-Usuga, Denich, & Borgemeister, 2018), esto debido a un incremento en la demanda mundial de estos recursos. A pesar de que la actividad minera genera elevados ingresos para los países latinoamericanos, existe un descontento general en la población, causado por el deterioro ambiental y una inadecuada redistribución de los recursos (Helwege, 2015).

En países como Chile, Perú y Bolivia la minería representa entre el 1% y 3% de su Producto Interno Bruto (PIB), a pesar de ello, la relación entre la generación de empleo, las regalías e impuestos destinados a los países extractivistas posee un impacto económico bajo; sin embargo, estos antecedentes no han podido hacer que los gobiernos de turno sean atraídos por el incremento en el valor de minerales como oro, cobre, zinc, plomo, molibdeno (Helwege, 2015).

En el caso ecuatoriano, se tiene registros que demuestran que antes del año 2007 el país era exportador de bajas cantidades de oro, sin embargo, el descubrimiento de uno de los yacimientos más grandes de oro y plata en América Latina, atrajo la atención de varios inversionistas hacia Fruta del Norte (Acquatella, 2013). El gobierno de Ecuador ha buscado promover la actividad minera como una actividad necesaria para el desarrollo, por ello se ha planteado

grandes proyectos mineros, ubicados principalmente en la región sur del país, estos proyectos pretenden la extracción de cobre y oro principalmente (Vela-Almeida, Kolinjivadi, & Kosoy, 2018). La extracción minera se pretende realizar respetando los derechos de la naturaleza proclamados en la constitución del año 2008, mediante la implementación de políticas de compensación y respetando garantías constitucionales como el “Buen vivir” (Valladares & Boelens, 2019).

En la actualidad la mayoría de las actividades mineras realizadas en Ecuador son del tipo artesanal. Las actividades extractivas de este tipo, se caracterizan por la implementación de procesos rudimentarios; comúnmente esta actividad es realizada de manera informal e ilegal principalmente en áreas rurales (Gonçalves, Marshall, Kaplan, Moreno-Chavez, & Veiga, 2017). Las jornadas laborales son realizadas frecuentemente sin ningún tipo de protección ambiental o laboral (Pavilonis, Grassman, Johnson, Diaz, & Caravanos, 2017).

La minería artesanal de oro es la principal técnica de extracción de este recurso, dado que representa el 85% de la producción total del país (Gonçalves et al., 2017). Se ha identificado que la actividad minera artesanal tiene una fuerte presencia en Chinapintza y Nambija en Zamora Chinchipe, Ponce Enríquez en Azuay, Zaruma y Portovelo en El Oro (Sánchez-Vázquez, Espinosa-Quezada, & Eguiguren-Riofrío, 2016). Las zonas que extraen de manera ilegal metales como el oro poseen altos índices de violencia, inseguridad e inmigración (Hinton, Veiga, & Veiga, 2003). En cuanto a las afectaciones al medioambiente existen altos niveles de ruido, ingreso a las fuentes hídricas de elementos tóxicos como el mercurio o cianuro, inestabilidad en laderas debido a la construcción ilegal de túneles.

Los centros de procesamiento de metales, principalmente oro, buscan establecerse cerca de un cuerpo hídrico. Dada la naturaleza ilegal de estas actividades en el país, estos centros clandestinos instalan piscinas de relave, las

que contienen altas cantidades de agua, estos relaves son descargados al río más cercano de manera directa, frecuentemente (Gonçalves et al., 2017).

#### 2.4. Efectos de la minería sobre la biota acuática

Las aguas subterráneas y superficiales se pueden ver afectadas por el manejo, almacenamiento, disposición de residuos mineros, remoción de tierra, descargas de aguas residuales, el manejo y almacenamiento de productos químicos y combustibles (Jain et al., 2016). Entre los efectos de las actividades mineras sobre los cuerpos hídricos incluye, sólidos en suspensión, metales pesados, contaminación por aceites (Bansah, Dumakor-Dupey, Kansake, Assan, & Bekui, 2018).

La presencia de altas cantidades de sólidos suspendidos altera el correcto funcionamiento de los ecosistemas acuáticos, este factor tiene relación con la destrucción del hábitat para organismos bentónicos, como consecuencia la comunidad bentónica presenta disminuciones en su abundancia, diversidad y riqueza (Costas, Pardo, Méndez-Fernández, Martínez-Madrid, & Rodríguez, 2018); se ha determinado además que existe una relación con la pérdida en la capacidad de almacenamiento de los cuerpos de agua, disminución en los niveles de pH, y un incremento en los niveles de DBO (Demanda Bioquímica de Oxígeno) (Bansah et al., 2018; Jain et al., 2016). Las altas cantidades de sedimentos incrementan los niveles de turbidez, dando como resultado, una disminución en la cantidad de luz que penetra dentro de un cuerpo hídrico, lo cual afecta principalmente sobre los productores primarios ya que los imposibilita al realizar procesos de fotosíntesis; estas afectaciones tienen consecuencias sobre toda la cadena trófica acuática, puesto que da como resultado una disminución en la cantidad de comida disponible para el consumo de macroinvertebrados y para la población de peces que consumen de ellos (Younger et al., 2003). Los organismos acuáticos son altamente sensibles a

pequeños cambios de pH y temperatura, lo cual impacta en negativamente en factores como reproducción, tasas de crecimiento y mortalidad (Jain et al., 2016). Niveles de pH desfavorables incrementan la toxicidad de ciertos compuestos (Younger et al., 2003).

La actividad minera es considerada una de las actividades antropogénicas que adiciona altas cantidades de metales pesados a los ecosistemas acuáticos (Shul'kin, Chernova, Khristoforova, & Kozhenkova, 2015), la contaminación por metales pesados ha llamado la atención, debido a su toxicidad, abundancia, persistencia y su posterior acumulación en los ecosistemas acuáticos (Zhang et al., 2018). Una vez los metales pesados entran a un efluente pueden ser transportados varios kilómetros aguas abajo desde su punto de emisión, donde da lugar a procesos fisicoquímicos que pueden contrarrestar los efectos adversos de esta contaminación (Shul'kin et al., 2015). Los procesos físicos que se dan lugar son advección, dilución, dispersión y sedimentación; en cuanto a los procesos químicos que se dan lugar son precipitación, adsorción o suspensión de partículas (Salomons, 1995). Cuando los metales pesados ingresan a un río en forma de partículas, existirán procesos de dilución y transporte, con lo cual pueden ser adsorbidos y depositarse en el fondo de los sedimentos del cuerpo hídrico (Audry, Schäfer, Blanc, & Jouanneau, 2004). Entre los efectos de los metales sobre los ecosistemas acuáticos, se encuentran afectaciones en la producción primaria, el ciclo de nutrientes, procesos de descomposición, además de reducción en la abundancia y diversidad de la biota (Younger et al., 2003).

## 2.5. Efectos de la salinidad en ríos por actividades mineras

La salinidad en el agua es medida como conductividad específica o iones disueltos totales (Zipper et al., 2016), el incremento de las concentraciones de salinidad, se debe a la adición de iones como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Na}^{+}$ ,

$K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $SO_3^{2-}$ ,  $CO_3^{2-}$  y  $HCO_3^-$  (Timpano, Zipper, Soucek, & Schoenholtz, 2018). El cambio en la salinidad de un cuerpo hídrico receptor dependerá de varios factores, como la cantidad de iones disueltos en las aguas residuales, la frecuencia en la que se realizan las descargas (continuas o intermitentes), la cantidad de agua residual descargada y las condiciones que presente la corriente de agua en el momento que la descarga es realizada (Hart, Bailey, I, et al., 1990). El incremento de los niveles de salinidad en ríos se debe principalmente al desarrollo de actividades como agricultura y la descarga de aguas residuales provenientes de actividades industriales y minería (Timpano, Schoenholtz, Soucek, & Zipper, 2015).

El incremento en la concentración de iones disueltos en un cuerpo hídrico da inicio a un estrés fisicoquímico en los ecosistemas acuáticos (Leite, Santos, Ferreira, Canhoto, & Branco, 2019), dando como resultado efectos adversos sobre la comunidad acuática, la función del ecosistema y los servicios ambientales que éstos prestan.

La cantidad de iones disueltos en el agua, se encuentra relacionado con una disminución en la diversidad de insectos acuáticos (Timpano et al., 2018), además de la pérdida de taxones que son sensibles a la salinidad y la invasión de especies no nativas que son tolerantes a niveles altos de salinidad (Piscart, Moreteau, & Beisel, 2005), mediante estudios realizados se ha determinado que la descomposición de materia orgánica es una función que es sensible al incremento de los niveles de salinidad (Sauer et al., 2016).

Los individuos que habitan ecosistemas de agua dulce y presentan variaciones de salinidad en su entorno, son propensos a perder la capacidad de osmorregulación interna, lo cual implica que un organismo debe gastar grandes cantidades de energía debido al esfuerzo realizado para poder ejecutar las adaptaciones morfológicas y fisiológicas necesarias que le permitan sobrevivir,

en varias ocasiones este gasto de energía, da como resultado la muerte del individuo (Cartier, Claret, Garnier, & Franquet, 2011).

En una población acuática las variaciones de salinidad están relacionadas con la reducción de la permeabilidad epitelial, con lo cual existe una disminución en la difusión pasiva y la energía necesaria para los procesos de osmorregulación, además se relaciona con una disminución en el consumo de oxígeno y las tasas de crecimiento de varios individuos, estos efectos pueden ser letales provocando la extinción de esa población (Beermann, Elbrecht, et al., 2018).

Los efectos de la salinidad a nivel de comunidad son variados, por ejemplo, la comunidad microbiana se ve afectada en la mineralización de materia orgánica, en el ciclo de nutrientes y el flujo de energía en la cadena trófica. Además de ello, varios estudios sugieren que los macroinvertebrados son los organismos acuáticos que más sensibles son a los niveles elevados de salinidad (Hart, Bailey, Edwards, et al., 1990), viéndose afectada la abundancia, reducción de diversidad y riqueza (Leite et al., 2019).

De acuerdo con la legislación ecuatoriana vigente el límite máximo permisible para descargas a cuerpos de agua dulce son 1000 mg/l de cloruros y sulfatos (Anexo 1).

## 2.6. Familia Chironomidae

Los quironómidos se encuentran ampliamente distribuidos a nivel mundial, se ha registrado la presencia de estos insectos tanto en ecosistemas de agua dulce como salda, siendo más comúnmente encontrados en aguas dulces (Murrieta, Nájjar, & Alcántara, 2016), habitando así, una gran variedad de hábitats de agua dulce como arroyos, lagos y lagunas (Lerner et al., 2008).



Las larvas de quironómidos son uno de los principales componentes de los sistemas acuáticos, puesto que posee una alta diversidad en todo tipo de ecosistema acuático, además la densidad poblacional de ciertas especies podría representar en miles de individuos por metro cuadrado (Bolshakov, 2015). Debido a su alta densidad poblacional, los quironómidos son una importante fuente de alimento tanto para animales acuáticos como terrestres (Rech, Guerreschi, Torres, & De Oliveira Nuñez, 2014).

La diversidad de condiciones ambientales en las que estos individuos se encuentran es la más variada, comparada con cualquier otro tipo de insectos acuáticos, se considera que esta cualidad puede estar relacionada con adaptaciones físicas y morfológicas (Canteiro & Albertoni, 2011a). La capacidad de estos individuos para sobrevivir bajo ciertas condiciones ambientales como bajos niveles de pH, diferentes niveles de oxígeno disuelto, amplio rango de temperatura y salinidad, se debe particularmente a ciertas adaptaciones fisiológicas, lo cual ha provocado modificaciones en sus características morfológicas (Sahragard & Rafatifard, 2010).

Se ha establecido que los quironómidos poseen cuatro estadios larvarios, la duración de cada uno de ellos varían según la especie, sin embargo el ciclo de vida de los quironómidos es relativamente corto, ya que se estima que viven un total de 15 días aproximadamente, esto dependiendo de factores ambientales, como la temperatura (Canteiro & Albertoni, 2011). Las larvas, una vez culminado el segundo estadio se convierten en pupas, las cuales nadan hacia la superficie y se despojan de la exuvia larval, una vez culminada esta metamorfosis las larvas se convierten en adultos y dejan la superficie acuática para poder emerger en forma de mosca (Lerner et al., 2008). Debido a que los individuos al momento de convertirse en moscas no son capaces de ingerir alimentos (Lerner et al., 2008; Rech et al., 2014), el ciclo de vida de los quironómidos en fase adulta es de corta duración, etapa en la cual el macho después de aparearse muere, y las hembras descienden a la superficie del agua para poder ovopositar, los huevos son masas

gelatinosas que protegen a los huevos del exterior, estas masas pueden contener alrededor de 600 huevos, cifra que varía de acuerdo a la especie; las masas de huevos precipitan al fondo del sustrato acuático, en donde empezará nuevamente el ciclo de crecimiento de larvas (Murrieta et al., 2016).

En el primer estadio, las larvas requieren un sustrato el cual les permita mantenerse fijas en él, en la fase siguiente, las larvas construyen una especie de tubos con partículas del sustrato, las cuales son unidas mediante la utilización piezas bucales y la secreción de una sustancia producida en las glándulas salivales (Rech et al., 2014). La habilidad de las larvas de quironómidos para construir estos tubos, los hace menos propensos a ser depredados, además de reducir el riesgo muerte ante la presencia de compuestos tóxicos (Sahragard & Rafatifard, 2010).

La familia Chironomidae es sensible a varios tipos de contaminantes, ello y debido al ciclo de vida corto, su amplia diversidad en los ecosistemas acuáticos, y su fácil mantenimiento bajo condiciones de laboratorio, los quironómidos han sido identificados como buenos ejemplares para la ejecución de bioensayos (Bolshakov, 2015).

## 2.7. Efectos de la salinidad sobre los quironómidos

Los quironómidos han dado muestras de que pueden poseer tolerancia a diferentes niveles de salinidad, hay algunos indicios de que las larvas se adaptan al medio salino y pueden experimentar un aumento en la permeabilidad de la membrana. Pese a que se registra una alta tolerancia, en presencia de altos niveles de salinidad se ha registrado que son sensibles a bioacumular metales pesados, lo cual afecta a la supervivencia y crecimiento de las larvas (Bidwell & Gorrie, 2006).

Debido a que los huevos poseen una membrana gelatinosa que los protege del exterior, se ha identificado que son menos sensibles a los efectos de la salinidad, pero se ha observado que, existe una menor cantidad de huevos, ello con el fin de obtener una incubación exitosa y garantizar la supervivencia de los individuos. Un factor que se ve afectado por la salinidad en quironómidos, es el tiempo de desarrollo puesto que tiene una relación directa con los niveles de salinidad; es decir, mayor cantidad de sales determina un mayor tiempo de desarrollo, especialmente en los estadios iniciales, este aumento en la duración en las etapas de desarrollo puede ser una causa de los requisitos de energía necesarios para la realización de los procesos de osmorregulación (Cartier et al., 2011).

## 2.8. Perifiton

Perifiton también conocido como biopelícula es un micro ecosistema compuesto por organismos autótrofos y heterótrofos (Wu, 2017). Perifiton es un importante productor primario, además contribuye al ciclo de nutrientes (Naranjo, Niswonger, Smith, Rosenberry, & Chandra, 2019) en ecosistemas acuáticos poco profundos, conformado por invertebrados pequeños, algas verdes, diatomeas y bacterias (Cao, Zhang, Sun, & Li, 2019; Ma, Chen, Lu, & Liao, 2019). El perifiton se puede clasificar de acuerdo a diferentes sustratos naturales a los que se adhieren, como por ejemplo el epilítón que se fija sobre piedras, el epifítón sobre macrófitos, el epipsamon sobre arena y el epipelón sobre sedimentos (Cao et al., 2019). Los factores que influyen en la composición del perifiton son: el tiempo que se encuentran sumergidos, la corriente y composición química del agua, el sustrato, disponibilidad de nutrientes, fuente lumínica (intensidad y calidad) y temperatura del medio (Wu, 2017).

El tipo de sustrato es un factor considerado de gran importancia para el perifiton, además del sustrato, se ha demostrado que, la disponibilidad de nutrientes como

el nitrógeno y el fósforo, es un factor que limita el crecimiento del perifiton (Cao et al., 2019). Un aumento en la tasa de crecimiento del perifiton se debe a varios factores, como cambios en la calidad de agua, en la estructura del ecosistema o aumento en los flujos de nutrientes (Naranjo et al., 2019).

Debido a su sensibilidad al cambio ambiental y a su importancia en la red alimenticia en aguas dulces, el perifiton es usado como bioindicador, ya que, es usado en evaluaciones ecológicas de las condiciones ambientales, como la calidad del agua y modificaciones hidrológicas (Mazzei et al., 2018).

### 2.9. Efectos de la salinidad sobre el perifiton

El perifiton se ve afectado rápidamente por la contaminación debido a su ciclo de vida corto (Pniewski & Sylwestrzak, 2018). La exposición del perifiton a una salinidad elevada puede provocar estrés osmótico, toxicidad iónica y limitaciones en la absorción de nutrientes, por lo cual, estos efectos pueden alterar la composición de especies en la comunidad perifítica (Mazzei et al., 2018). Se ha identificado además, que la salinidad inhibe la actividad fotosintética y la absorción de nutrientes esenciales (Lu & Vonshak, 2002), limita el crecimiento de varias especies y reduce la tasa de crecimiento de algas (Gao et al., 2018).

## 3. CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

### 3.1. Caracterización del agua de ríos con influencia minera

Los sitios de muestreo de agua se establecieron en los Ríos Pishashi y Chirapi, ubicados en la parroquia de Pacto, provincia de Pichincha; esta zona fue elegida porque, se tiene información de la presencia de minería artesanal e ilegal en la zona. Además de ello, se analizaron muestras de agua provenientes de una

empresa minera ubicada en la provincia del El Oro, parroquia Loma de Franco. Los análisis de las muestras de agua obtenidas de los puntos de muestreo arrojaron rangos de sulfatos entre 4 y 135 mg/l, este análisis fue realizado mediante el método descrito por Bojaca (2007).

### 3.2. Preparación de la fase de experimentación

#### 3.2.1. Sitio de recolección de larvas

La recolección del material necesario para realizar la fase de experimentación tuvo lugar en el Río Alambí, el cual se encuentra ubicado en la parroquia rural de Nono, cantón Quito, provincia de Pichincha. El río Alambí, pertenece a la Subuenca del Río Guayllabamba (Giacometti & Bersosa, 2006).



*Figura 1.* Río Alambí. Sitio de recolección de larvas de quironómidos.

#### 3.2.2. Selección de larvas de quironómidos

Al iniciar la fase de experimentación se deseó obtener larvas de quironómidos criadas bajo condiciones de laboratorio, por cual se realizaron intentos de reproducción de quironómidos. A inicios del año 2019 se realizó una primera

salida de campo al Lago San Pablo, provincia de Imbabura; se realizó la búsqueda de larvas en agua y sedimentos, sin éxito alguno. Posterior a ello, se realizó una segunda salida de campo al Río Alambí, parroquia de Nono, en donde se recolectó piedras que se observaron contenían perifiton en su superficie. Las piedras fueron llevadas a laboratorio en donde se realizó un raspado y la mezcla obtenida fue colocada en una bandeja de plástico junto con cerámicas. Al cabo del quinto día se colonización se observó la presencia de tubos de perifiton, lo cual indica la presencia de larvas de quironómidos. Cada una de las cerámicas fueron observadas bajo un estereoscopio de manera diaria por un tiempo de tres semanas, las larvas encontradas se colocaron en vasos de precipitación de un litro con agua de grifo reposada previamente por 24 horas y constante aireación. Aproximadamente 20 larvas de quironómidos se colocaron en un vaso de precipitación, las cuales fueron mantenidas con 12 de luz y 12 de oscuridad, una temperatura de aproximadamente 18 °C, permanente aireación, las larvas fueron alimentadas con comida de para peces dos días por semana. Al cabo de aproximadamente cinco días se empezaron a observar las primeras larvas emergidas, esperando su posterior reproducción. A pesar de que varias larvas emergieron, el proceso de reproducción entre ellas no fue exitoso, por lo cual, el objetivo de obtener larvas criadas en condiciones de laboratorio no pudo ser concretado.

Debido a las experiencias fallidas para la obtención de larvas criadas bajo condiciones de laboratorio, se procedió a realizar una nueva recolección de piedras y agua en el Río Alambí, ubicado en la parroquia rural de Nono. El material obtenido fue traslado hasta el laboratorio de ambiental, ubicado en la Universidad de las Américas.

Las larvas requeridas para la fase de experimentación fueron extraídas manualmente de las piedras recolectadas, este procedimiento se realizó con la ayuda de una lupa y pipetas Pasteur. Al culminar este proceso, alrededor de 200

larvas fueron colocadas en un vaso de precipitación de un litro con permanente aireación y 800 ml de agua de río.

### 3.2.3. Determinación de rangos de salinidad

Los rangos de salinidad implementados se establecieron en 500 mg/l, 1000 mg/l y 2000mg/l de sulfato de sodio ( $Na_2SO_4$ ), los cuales se determinaron a partir del valor de concentración máxima de sulfatos permisible para descarga a cuerpos de agua dulce (anexo 1), siendo a partir de éste un 50 % menor y un 100% mayor.

Debido a que, el agua usada como medio de dilución de sales durante el experimento fue proveniente del Río Alambí, se realizó un análisis inicial de la cantidad de sulfato, obteniendo un resultado de 2 mg/L; siendo esta la concentración de sal presente en el tratamiento testigo.

Tabla 1.

*Sulfato de sodio añadido por cada cinco litros de agua, de acuerdo con las concentraciones establecidas.*

<b>Rango de salinidad (mg/l)</b>	<b>Sulfato de sodio añadido (g)</b>
Bajo (500)	3.7105
Medio (1000)	7.4227
Alto (2000)	14.8445

La preparación de los rangos de salinidad se realizó añadiendo la cantidad de  $Na_2SO_4$ , previamente determinada, por cada cinco litros de agua proveniente del Río Alambí, esta mezcla fue sometida a un proceso de agitación por 10 minutos a 360 rpm en una plancha de calentamiento, con el objetivo de obtener una

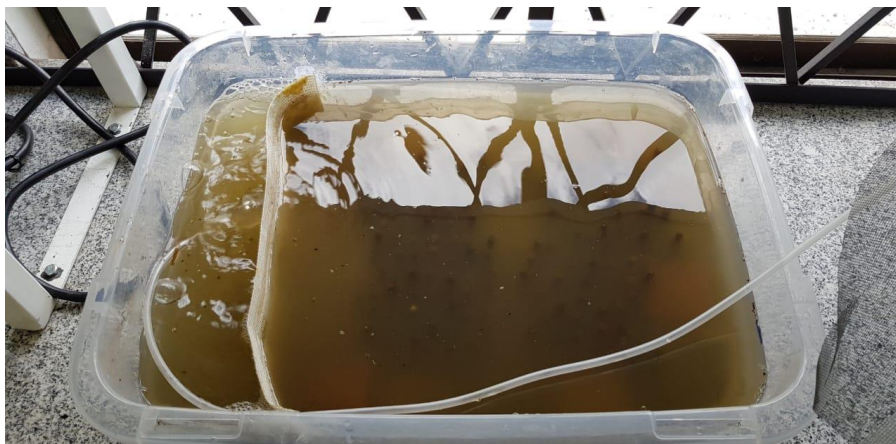
mezcla homogénea. Una vez culminado este proceso, se distribuyó un litro de agua a cada unidad experimental, según el rango de salinidad.

### 3.2.4. Clorofila

#### 3.2.4.1. Proceso de colonización de perifiton

Una vez realizada la recolección en campo, las piedras fueron sometidas a un proceso de raspado, para así extraer el perifiton, que fue colocado en un contenedor plástico (47 \* 26 \* 37 cm), el cual albergó en su interior 60 cerámicas de dimensiones (4.7 \* 4.7 cm) y aproximadamente cinco litros de agua provenientes del sitio de recolección. Este proceso fue realizado con el objetivo de que el perifiton extraído se fije en las cerámicas, y pueda ser el sustrato para que las larvas de quironómidos puedan empezar a desarrollarse.

Al cabo de ocho días de realizada la colonización, se procedió a retirar las cerámicas y colocarlas en cada unidad experimental. En cada pecera se colocaron tres cerámicas, cada una de ellas se analizó la concentración de clorofila al inicio, durante y al culminar la experimentación.



*Figura 2.* Proceso de colonización de perifiton.



### 3.3. Experimentación y medición

#### 3.3.1. Ensayos con microcosmos

Se establecieron cuatro tratamientos, tres de ellos con los rangos de salinidad determinados en la tabla 1, y un cuarto de control. Para cada tratamiento se realizó cinco réplicas. En cada réplica, se colocaron diez larvas de quironómidos (tabla 2). Las larvas usadas no se encontraban en un mismo estadio larvario, y pertenecían a diferentes especies. El tiempo de exposición a las que las larvas fueron sometidas, fue de cinco días, dando inicio el primer día de la semana.

Tabla 2.

*Representación del análisis experimental.*

<b>Control</b>	<b>Concentración baja (500 mg/l)</b>	<b>Concentración media (1000 mg/l)</b>	<b>Concentración alta (2000 mg/l)</b>
B1	C 1	C 2	C 3
B2	C 1	C 2	C 3
B3	C 1	C 2	C 3
B4	C 1	C 2	C 3
B5	C 1	C 2	C 3

Las unidades experimentales se colocaron en una habitación con aire acondicionado, a una temperatura de aproximadamente 18°C. Además, se controló el fotoperíodo al que las unidades experimentales fueron sometidas, se simuló el periodo de luz diaria (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad), lo cual se logró con la implementación de luces fluorescentes, cuyo encendido y apagado se controló mediante un temporizador. Se mantuvo aireación suave y permanente por medio de bombas para acuarios. Para evitar la salida de adultos de quironómidos, en cada unidad experimental se colocó una malla sujetada por una liga.



*Figura 3.* Diseño de microcosmos.

### 3.3.2. Medición de parámetros fisicoquímicos

En cada unidad experimental se midieron parámetros fisicoquímicos de manera diaria. Los parámetros medidos fueron: temperatura, oxígeno disuelto, conductividad eléctrica y pH.

### 3.3.3. Medición de parámetros biológicos

Los parámetros medidos diariamente en los individuos objeto de estudio fueron la mortalidad, y tasa de emergencia.

### 3.3.4. Medición de sulfatos

La determinación de la concentración de sulfatos presentes en cada uno de los tratamientos se realizó por el método nefelométrico (Bojaca, 2007). Para ello, se tomó 30 ml de cada unidad experimental, el volumen obtenido pasó por un

proceso de filtración. La filtración se realizó colocando un matraz Erlenmeyer de 100 ml, un embudo y en su interior un filtro de papel para evitar el paso de sólidos suspendidos presentes en la muestra. Posteriormente, se procedió a añadir 5 ml de la solución tampón y una cucharada de sulfato de bario ( $BaSO_4$ ), a continuación, se realizó un proceso de agitación en una plancha de calentamiento y un agitador magnético por un minuto y a 350 rpm. A continuación, se colocó la solución obtenida en una celda de cuarzo para realizar la medición en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 420 nanómetros. Este procedimiento se realizó por tres días, para cada unidad experimental, en el día 1, día 3 y día 5 de la experimentación. Cabe recalcar que, el procedimiento descrito anteriormente se realizó también para la elaboración de un blanco, con la diferencia de que se implementó 30 ml de agua destilada ultra pura. La realización de un blanco permite encerrar el equipo de medición evitando lecturas erróneas.

### 3.3.5. Estimación de la concentración de la clorofila

La estimación de la concentración de clorofila se realizó aplicando el método publicado por UNESCO (2009). Para la obtención del perifiton adherido a cada cerámica, se procedió a retirar el material de la superficie, con la ayuda de un cepillo y agua destilada. El perifiton obtenido se colocó en una probeta de 100 ml, en la cual se homogeneizó. El volumen obtenido en la probeta fue anotado, y se prosiguió a retirar 10 ml de la mezcla y fue colocado en tubos de ensayo de 15 ml. En cada tubo de ensayo se colocó 1 ml de formol al 32%, las muestras fueron colocadas en refrigeración a una temperatura menor a los 20°C.

El volumen fue sometido a un proceso de filtrado al vacío. La mezcla fue introducida en un embudo Büchner unido con un matraz Kitasato, en medio de ambos fue colocado papel de filtro de fibra de vidrio. El material retenido en el filtro (que representa la clorofila) fue correctamente etiquetado de acuerdo con

su concentración y repetición. Las muestras fueron almacenadas en un refrigerador con una temperatura menor a los 4°C.

Culminada la experimentación se procedió a realizar la extracción de la clorofila de los filtros obtenidos anteriormente. Para ello, cada filtro fue colocado en un tubo de ensayo con 10 ml de alcohol al 90%, fue tapado y agitado, con el fin de suspender el material del filtro. A continuación, todos los tubos de ensayo fueron forrados por completo con papel de aluminio para evitar la degradación de la clorofila por el contacto con la luz. Posteriormente, los tubos de ensayo fueron colocados dentro de un vaso de precipitación con un litro de agua, para realizar baño maría a una temperatura de 80°C. Durante este proceso los tubos de ensayo se encontraron semiabiertos y se calentaron hasta su punto de ebullición. Cuando las muestras alcanzaron la temperatura de ebullición se procedió a retirar el filtro de su interior y a enfriarlas a temperatura ambiente, para posteriormente ser centrifugadas a 4°C, 3000 rpm por 10 minutos. Finalizado este proceso se procedió a realizar la lectura de las muestras por medio de espectrofotometría a dos longitudes de onda: 665 y 750 nanómetros; para ello se colocó una porción de la muestra en una celda de cuarzo. Las lecturas en el espectrofotómetro se realizaron en dos partes: las muestras sin acidificar y añadiendo ácido clorhídrico (HCl) para acidificar las muestras. Para acidificar las muestras se agregó entre 50-100 microlitros de HCl a la celda cuarzo, (esto dependiendo de la intensidad del color verdoso obtenido), se agitó y se esperó por un minuto para realizar nuevamente las mediciones en el equipo.

Obtenidos los valores de las mediciones por espectrofotometría, se procedió a calcular la concentración de clorofila ( $\mu\text{g/l}$ ), para lo cual se calculó el cociente ácido, aplicando la siguiente fórmula:

$$(A_{665} - A_{750}) / (A_{a665} - A_{a750}) \quad \text{Ec. 1}$$

En donde:

$A_{665}$ : Absorbancia del extracto medido a 665 nm.

$A_{750}$ : Absorbancia del extracto medido a 750 nm.

$A_{a665}$ : Absorbancia acidificada del extracto medido a 665 nm.

$A_{a750}$ : Absorbancia acidificada del extracto medido a 750 nm.

El valor obtenido de la aplicación de la ecuación 1, debió encontrarse en un rango mayor a 1.4 y menor a 1.7, caso contrario fue necesario repetir el proceso agregando o disminuyendo la cantidad de HCl añadido.

Posteriormente se procedió a estimar la cantidad de clorofila mediante la siguiente ecuación:

$$Clo a \left( \frac{\mu g}{l} \right) = 29.6 * \frac{A_{665} - A_{750}}{A_{a665} - A_{a750}} * \left( \frac{V_e}{V_m} \right) L \quad Ec. 2$$

Donde:

$V_e$ : volumen de etanol en el que suspendió el filtro (ml).

$V_m$ : volumen de muestra filtrado (ml).

$L$ : longitud de la cubeta de cuarzo (cm)

### 3.4. Análisis estadísticos

#### 3.4.1. Parámetros fisicoquímicos

Los análisis estadísticos de los parámetros fisicoquímicos se realizaron con el programa estadístico IBM SPSS. Para cada parámetro se hizo un análisis de varianza ANOVA, sin embargo, debido a que la cantidad de sal presente en un medio acuático es cuantificado mediante la conductividad eléctrica, hace de este parámetro una variable controlada con la adición  $Na_2SO_4$  de acuerdo con los rangos de salinidad. Debido a ello es que, para este parámetro no se realizó un análisis ANOVA.

Además, se realizó un análisis Post-Hoc en pH y oxígeno disuelto para determinar las diferencias entre los grupos de medición.

#### 3.4.2. Análisis de sulfatos

Debido a que la normalidad correspondiente al tratamiento control y la concentración alta de salinidad no cumplió con el supuesto de normalidad, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis, en la cual se obtuvo una significancia estadística menor a 0.05.

#### 3.4.3. Análisis de clorofila

Para el análisis de los datos obtenidos de clorofila, se realizaron las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk, en donde se obtuvieron valores mayores a 0.05 para todas las concentraciones. Debido a la normalidad de los datos, fue factible realizar un análisis ANOVA.

#### 3.4.4. Parámetros biológicos

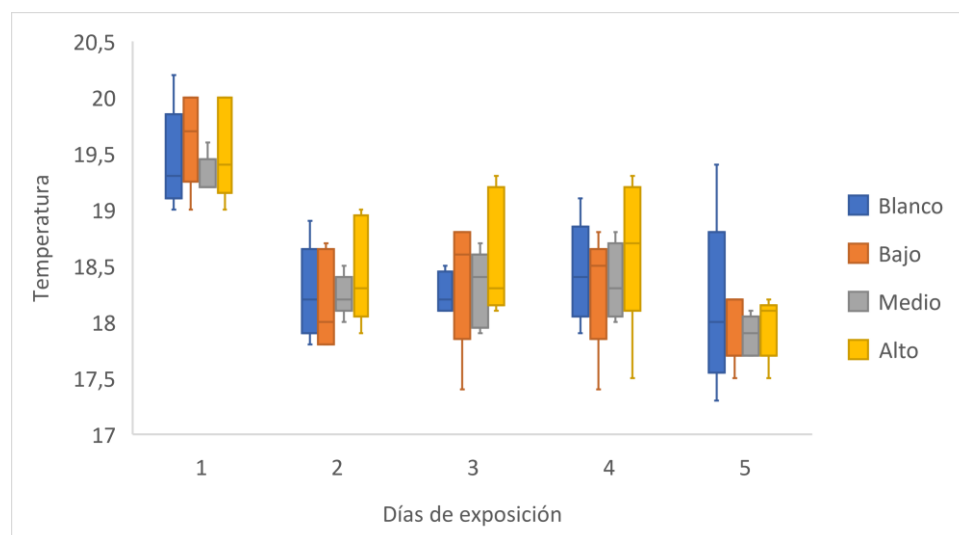
Se realizó el análisis de mortalidad y supervivencia por el método de estimación de Kaplan-Meier. El análisis se realizó tomando en cuenta la concentración de salinidad, el número de vientos ocurridos por día, durante la fase de experimentación.

## 4. CAPÍTULO IV. RESULTADOS

### 4.1. Análisis de parámetros fisicoquímicos

#### 4.1.1. Temperatura

La temperatura no mostró cambios estadísticamente significativos ( $p > 0.561$ ), entre las variaciones de salinidad a lo largo de la fase experimental (tabla 3). Sin embargo, se observa que la temperatura en el primer día es mayor comparada con las registradas posteriormente.



*Figura 4.* Variación de temperatura según la concentración de salinidad y el día de exposición.

**Tabla 3.***ANOVA para el parámetro temperatura.*

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig (p).</b>
Entre concentraciones	,972	3	,324	,689	,561
Entre repeticiones	45,154	9	,470		

#### 4.1.2. pH

El pH, es un parámetro que mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.000$ ) entre la concentración de salinidad (tabla 4). Las diferencias de pH representados en la figura 2, muestran que las variaciones de pH tienen lugar entre los diferentes rangos de salinidad con forme los días de experimentación. El pH entre la concentración alta difiere significativamente respecto las concentraciones del tratamiento control, bajo y medio.

Sin embargo, al realizar un análisis Post Hoc la concentración más elevada de salinidad es la única que difiere significativamente ( $p < 0.05$ ) respecto a los tratamientos con menor concentración de salinidad.



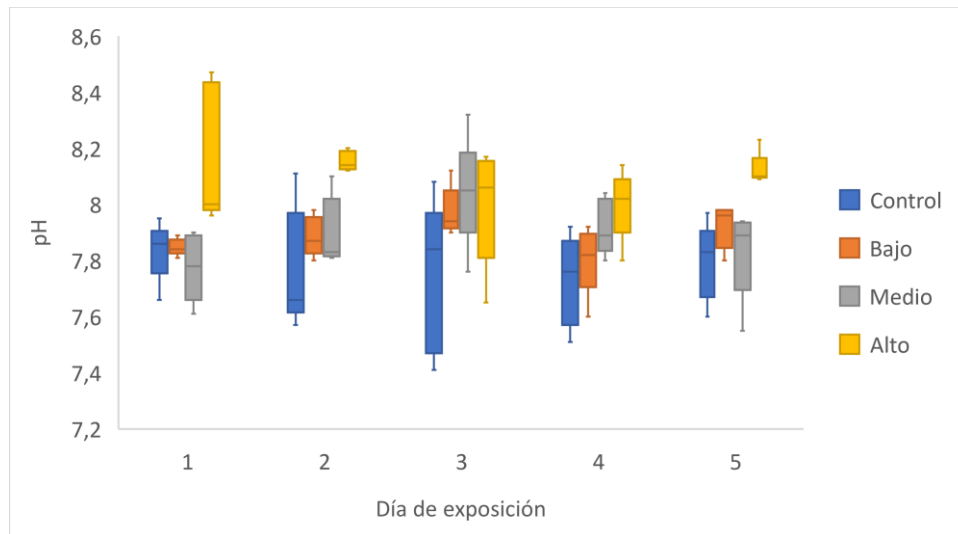


Figura 5. Variación del pH según la concentración de salinidad y el día de exposición.

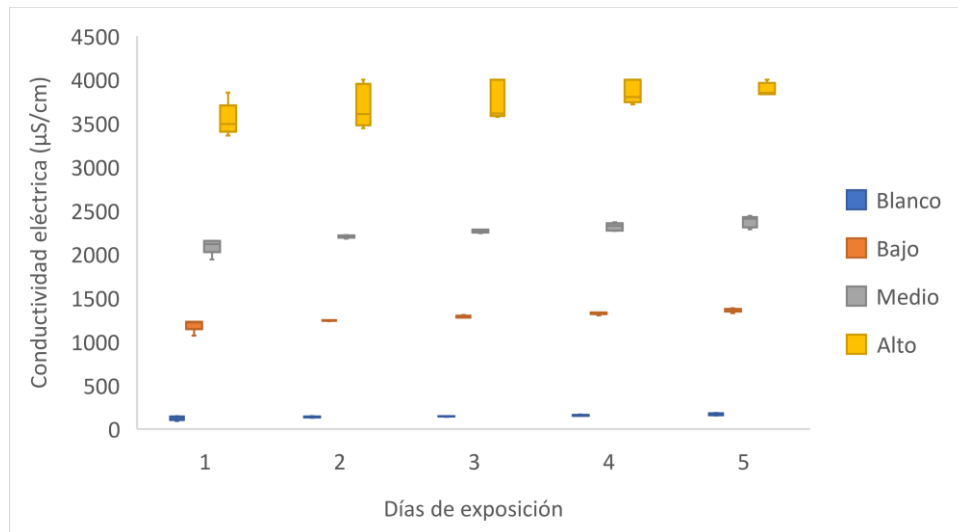
**Tabla 4.**

ANOVA para el parámetro pH.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig (p).
Entre concentraciones	1,278	3	,426	18,391	,000

#### 4.1.3. Conductividad eléctrica

La figura 3 demuestra que la conductividad eléctrica varía en relación a la concentración de salinidad. Además de ello, existió un leve incremento en las mediciones de este parámetro durante los días de exposición, este hecho tiene lugar debido a la evaporación del agua, con lo cual la concentración de sal aumenta en el medio.



*Figura 6.* Variación de la conductividad eléctrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) según la concentración de salinidad y el día de exposición.

#### 4.1.4. Oxígeno disuelto

El oxígeno disuelto medido tanto en porcentaje como en  $\text{mg}/\text{l}$ , presenta diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.05$ ), entre las diferentes concentraciones de salinidad (tabla 5). La prueba Post-Hoc, determina que las diferencias significativas, tiene lugar en los tratamientos de concentración baja y media.

De acuerdo con lo mostrado en la figura 4, se observa que existe una gran variabilidad de este parámetro durante los días de medición, registrándose un incremento en el tercer día, mientras que, en los dos últimos días se evidencia una disminución en este parámetro.

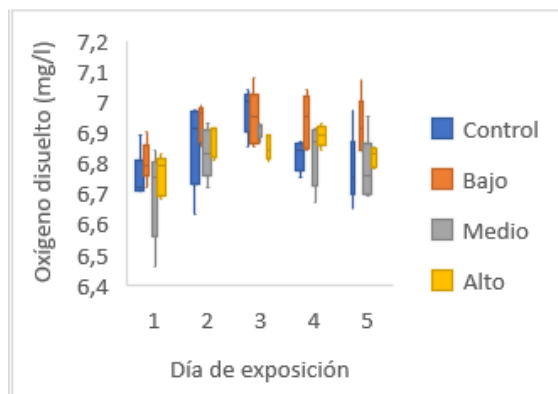


Figura 7. Variación del oxígeno disuelto en porcentaje y en mg/l según la concentración de salinidad y el día de exposición.

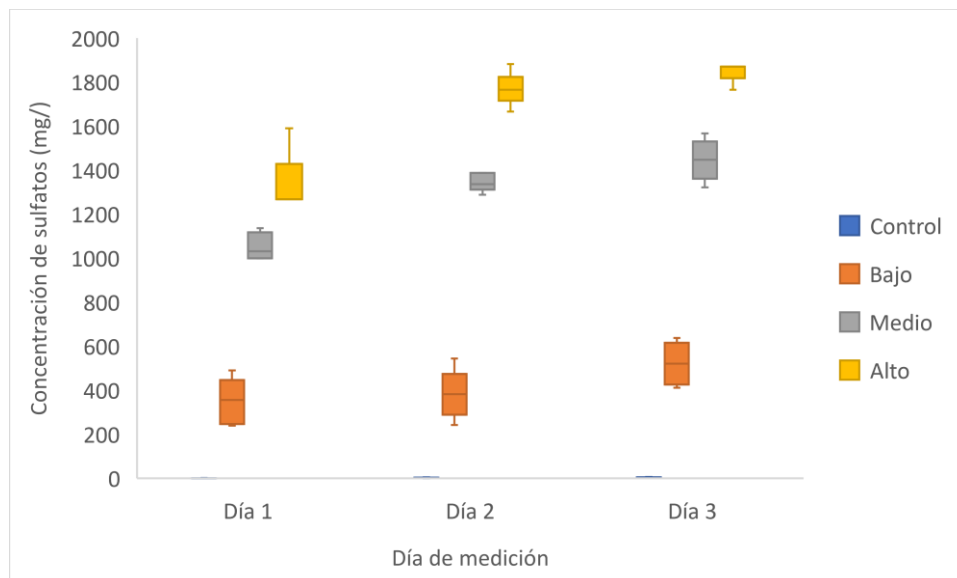
Tabla 5.

ANOVA para el parámetro oxígeno disuelto.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig (p).
<b>Oxígeno disuelto (mg/l)</b>	Entre concentraciones	,133	3	,044	4,501	,005
	Dentro de concentraciones	,947	96	,010		

#### 4.2. Variación de sulfatos

El valor obtenido de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis determinó que existió variaciones significativas en el contenido de sulfatos en relación a las concentraciones de salinidad. Estas variaciones se confirman con lo mostrado en la figura 5, en donde se evidencia la diferencia de concentraciones entre los tratamientos durante la fase de experimentación.



*Figura 8.* Variación de sulfatos durante la fase de experimentación.

#### 4.3. Análisis de clorofila

El análisis de varianza demuestra que existen diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.016$ ) (tabla 6) entre el contenido de clorofila calculada correspondiente a las concentraciones de salinidad al que fueron expuestas.

De acuerdo con lo indicado en la figura 6, la concentración de clorofila en el tratamiento control, medio y alto, disminuye durante la fase de experimentación. Esta reducción es más evidente en las concentraciones de 1000 y 2000 mg/l, correspondiente a la última medición. La prueba Post Hoc de Tukey, confirma que, existe diferencias entre la concentración de clorofila expuesta al tratamiento control y concentración bajo de salinidad, respecto a la cantidad de clorofila en la salinidad alta.

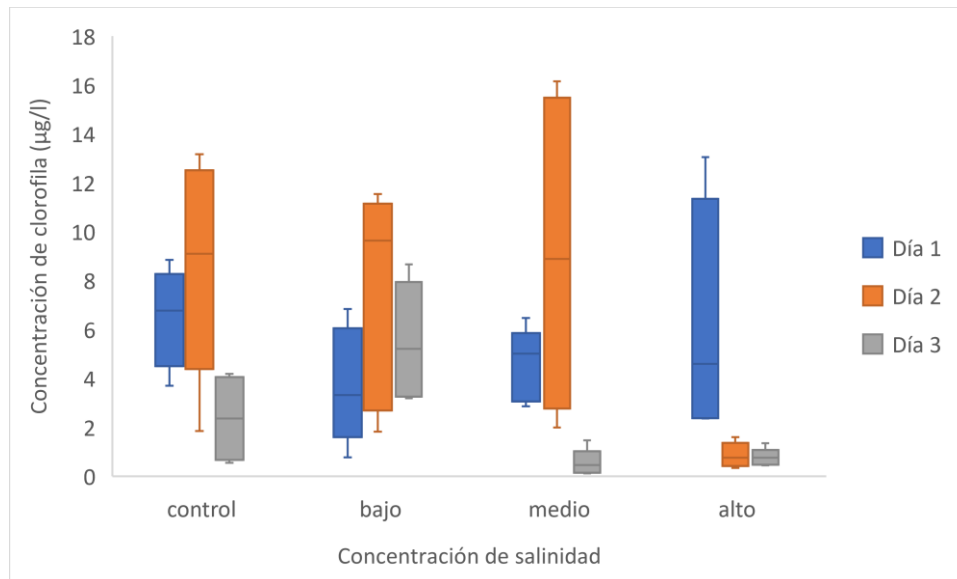


Figura 9. Concentración de clorofila de acuerdo con la concentración de salinidad y las variaciones en su concentración de acuerdo con el día de medición.

Tabla 6.

*ANOVA para concentración de clorofila entre las concentraciones de salinidad.*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2,687	3	,896	3,769	,016
Dentro de grupos	13,310	56	,238		

#### 4.4. Efectos de la salinidad sobre quironómidos

##### 4.4.1. Mortalidad

En la tabla 9 se presenta el número total de larvas que fueron sometidas a los gradientes de salinidad; cabe mencionar que se realizaron cinco réplicas por cada tratamiento, en cada réplica se colocó 10 larvas de quironómidos.

La columna de “N de muertes” representa el número de larvas muertas total durante la fase de experimentación, evidenciando un incremento en la mortalidad en las concentraciones mayores.

Tabla 7.

*Análisis de mortalidad en los individuos analizados.*

<b>Control</b>	N total de individuos	Porcentaje de mortalidad	N de muertes
<b>Control</b>	50	40	20
<b>Bajo</b>	50	72	36
<b>Medio</b>	50	74	37
<b>Alto</b>	50	78	39
<b>Global</b>	200	66	132

La Figura 10, demuestra que la mortalidad de las larvas de quironómidos es mayor a mayores concentraciones de salinidad. Las muertes empezaron a ocurrir a partir del día dos en todas las concentraciones. En la prueba de igualdad de las distribuciones de la supervivencia, se obtuvo un valor de significancia de 0.001, por lo cual es posible afirmar que la mortalidad varía de acuerdo a la concentración de salinidad al que las larvas fueron expuestas.

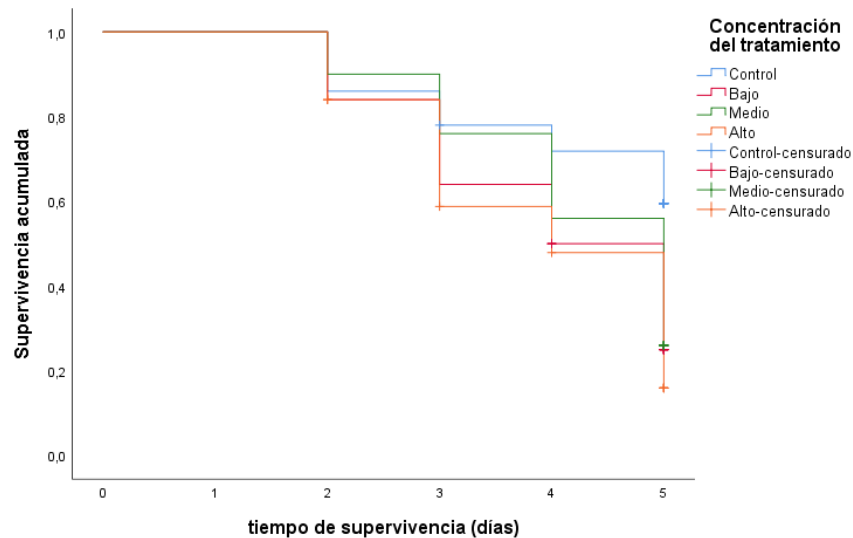


Figura 10. Muerte de las larvas de quironómidos de acuerdo con la concentración de salinidad y el día de exposición.

#### 4.4.2. Supervivencia

La tabla 8 indica el número total de casos estudiados, y el número de larvas que sobrevivieron a la exposición de salinidad. De acuerdo con la columna de N de supervivientes, es posible determinar una reducción en el número de individuos vivos en cada concentración durante la fase de experimentación.

Las pupas y adultos emergidos durante la recolección se encontraban vivos, pero fueron retirados de las unidades experimentales.

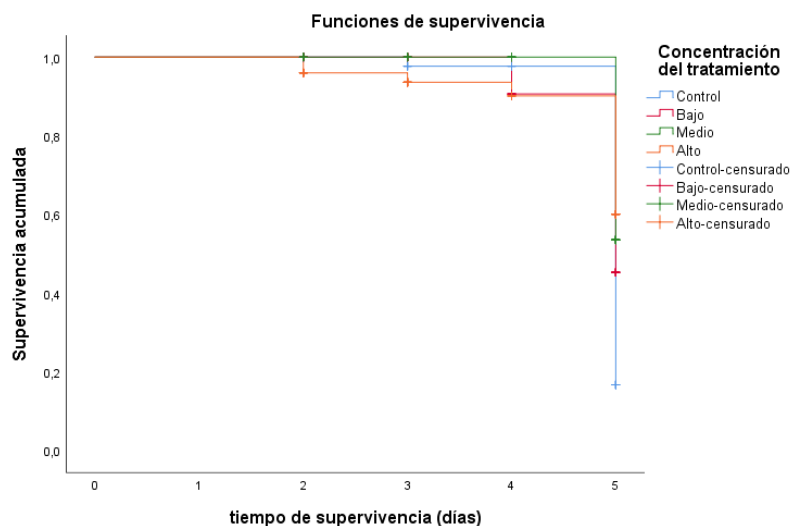
Tabla 8.

*Supervivencia de las larvas de quironómidos expuestas a diferentes rangos de salinidad.*

Concentración del tratamiento	N total	N de supervivientes	Porcentaje de supervivencia
Control	50	30	60
Bajo	50	14	28

<b>Medio</b>	50	13	26
<b>Alto</b>	50	11	22

En la figura 11 se observa que la supervivencia disminuye cuando la salinidad incrementa. El tratamiento control es el que posee un mayor tiempo de supervivencia; la supervivencia se ve disminuida en los tratamientos concentración baja, media y alta. El valor de significancia de la prueba de igualdad de distribución de la supervivencia es de 0.020, por lo cual la supervivencia varía entre las concentraciones de salinidad al que las larvas fueron expuestas.



*Figura 11.* Gráfico de supervivencia de las larvas de quironómidos según el rango de salinidad al que fueron expuestas.

#### 4.4.3. Tasa de emergencia

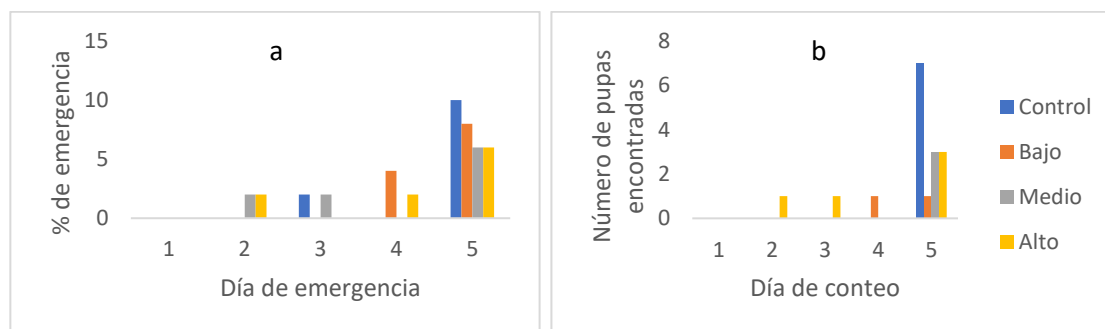
El porcentaje de emergencia presenta (figura 12. a) variaciones en todas las concentraciones de salinidad, siendo el tratamiento control el que presentó una mayor cantidad, con un total de cinco adultos en el día cinco de experimentación.



Sin embargo, se observa en la figura 8. a, la existencia de emergencias en el día dos en los tratamientos de concentración media y alta.

Además de estimó un 12% de emergencia para los tratamientos control y de concentración baja durante los cinco días de experimentación. Mientras que, un 10% correspondió para los tratamientos de concentración baja y alta.

En la figura 12. b, se indica que se obtuvo un mayor número de pupas en el tratamiento control, en el día cinco de la fase de experimentación. Además, se identifica la existencia de pupas en los primeros días de experimentación en el tratamiento de mayor concentración registrando un incremento de pupas en el último día de medición.



*Figura 12.* Estimación de la supervivencia de acuerdo con porcentaje de emergencia y pupas halladas.

a) Porcentaje de larvas que emergieron por cada concentración de salinidad durante la fase de experimentación b) Número de pupas encontradas en cada concentración de salinidad durante la fase de experimentación.

## 5. CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

De acuerdo con los datos analizados de los parámetros fisicoquímicos, se evidencia que no todos fueron influenciados de manera directa por las

variaciones de salinidad. La temperatura es un parámetro que no presenta diferencias estadísticamente significativas, como se muestra en la figura 1, no se registró un patrón constante durante la fase de experimentación; es así que, en el primer día se registraron temperaturas mayores respecto los siguientes, este hecho puede ser explicado debido a que el lugar en el que se colocaron las unidades experimentales no pudo ser mantenido a puerta cerrada, sufriendo así variaciones.

Sin embargo, a pesar de la relación existente entre la temperatura y el oxígeno disuelto, se determinó que este último sí se vio influenciado por los gradientes de salinidad (tabla 5). Este hecho puede deberse a la presencia de actividad biológica de las larvas de quironómidos y el perifiton.

La diferencia significativa de los datos correspondientes al pH durante la etapa de experimentación, demuestra que a una mayor salinidad el pH es un parámetro que puede verse afectado, este hecho depende de la cantidad iones de hidrógeno o hidroxilo que exista en el medio acuático, lo cual puede incrementar la sensibilidad de un organismo a la salinidad (Cañedo-Argüelles et al., 2013).

Los resultados obtenidos demuestran que existió una mayor mortalidad en las larvas de quironómidos a una mayor concentración de salinidad. A 2000 mg/l se obtuvo una mortalidad del 78%, mientras que, para el tratamiento control, la mortalidad fue del 40%. Estos resultados demuestran que las larvas de quironómidos tienen una mayor probabilidad de morir a concentraciones elevadas de salinidad. Se estima que para que exista evidencia de las afectaciones en organismos de aguas dulces, la conductividad eléctrica del medio acuático debe ser mayor a 5 mS/cm, mientras que, en este estudio las mediciones llegaron aproximadamente a 4 mS/cm en la concentración más alta (Cañedo-Argüelles et al., 2013). A pesar de que las afectaciones por concentraciones elevadas de sales en aguas dulces pueden ser descritas, tanto

a nivel de individuo como de comunidad, existen ciertos tipos de macroinvertebrados que son capaces de resistir elevadas concentraciones salinas. Es el caso de *Chironomus salinarius*, el cual se ha reportado que puede sobrevivir a concentraciones de salinidad entre los 20 y 30 g/l, en el caso de esta especie de quironómido, el tiempo de desarrollo entre los diferentes estadios larvarios sufrió un incremento cuando las concentraciones de salinidad aumentaron (Cartier et al., 2011). Este resultado se contrapone a lo obtenido en este estudio, dado que el porcentaje de emergencia fue mayor en las concentraciones de salinidad medias y altas (1000 y 2000 mg/l), esta diferencia puede deberse a que las larvas con las que se realizó la experimentación no se encontraban en un mismo estadio larvario y tampoco pertenecían a una misma especie. La rápida emergencia de las larvas de quironómidos expuestas a una concentración mayor podría deberse a que se produjo un estrés lo cual obligó a las larvas a acelerar su proceso de emergencia. La emergencia en el tratamiento control fue un proceso que se presentó en mayor número en el último día la fase de experimentación, con un total de cinco adultos, en contraste con las tres larvas emergidas tanto en la concentración de salinidad media como alta en el mismo día. Este hecho es similar a lo encontrado en *Capitella sp. I*, (una especie perteneciente al filo de los anélidos) ya que se encontró que, las larvas de esta especie crecen de manera más lenta a concentraciones bajas de salinidad, mientras que, su desarrollo se ve acelerado a concentraciones más altas (Pechenik, Berard, & Kerr, 2000). En un estudio realizado en larvas de *Chironomus*, se encontró que la salinidad afectó el número de larvas emergidas, así como el tiempo de emergencia; los efectos de la salinidad se empezaron a observar a valores mayores de 20 mS/cm, en este rango de conductividad eléctrica no se obtuvieron emergencias, sin embargo el tamaño de los adultos emergidos no presentó variaciones entre las concentraciones bajas y altas de salinidad (Hassell et al., 2006). A pesar de que en este estudio se obtuvo un alto número de individuos muertos a la mayor concentración de salinidad, varios estudios revelan que la familia Chironomidae es altamente tolerante a una elevada salinidad, en comparación con macroinvertebrados acuáticos que son muy sensibles a cambios a los cambios de salinidad en el medio acuático,

mientras que entre las familias más sensibles se encuentran los trichoptera o ciertas especies de peces (Bidwell & Gorrie, 2006; Cañedo-Argüelles & Rieradevall, 2010; Cartier et al., 2011).

Las mediciones de clorofila muestran variaciones entre las concentraciones de salinidad (figura 6). En las mediciones del tratamiento control, se observa, que el segundo día de registro de datos, la concentración de clorofila es mayor, respecto al primer día; este hecho se repite para las concentraciones bajas y altas. La diferencia en las concentraciones puede deberse a que no todas las cerámicas colonizadas poseían en su superficie la misma cantidad de perifiton, razón por la cual las cerámicas fueron distribuidas de manera aleatoria en las unidades experimentales. A partir del segundo día, se observó una reducción generalizada de clorofila en los diferentes tratamientos. La disminución en la concentración de clorofila en los tratamientos control y bajo quizá pueda tener una relación directa con el número superior de larvas sobrevivientes, mientras que, en las concentraciones de salinidad media y alta existe una reducción significativa en la clorofila. En este caso es posible que la concentración de clorofila haya sido afectada por la alta carga iónica, lo cual tendría concordancia con los resultados presentados por Rotter, Heilmeier, Altenburger, & Schmitt-Jansen, (2013), quienes a una conductividad eléctrica de 2000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  no encontraron afectaciones a nivel de comunidad en el perifiton, si bien la salinidad contribuyó al crecimiento del perifiton, también redujo la tasa fotosintética. En un estudio realizado para determinar las afectaciones en cultivos de nuez por altas concentraciones de salinidad (1500 a 5000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) en el agua de riego, se obtuvo menores concentraciones de clorofila y una reducción el tamaño de la planta comparado con el tratamiento de control (Akça & Samsunlu, 2012). Sin embargo, los resultados presentados por McLachlan (1961), muestran que el crecimiento de algas marinas a diferentes concentraciones de salinidad (2,5 a 35 ppt) varía de acuerdo al rango de salinidad, ciertas especies como *Porphyridium* spp. presentan un óptimo crecimiento en todos los rangos de salinidad, mientras que, el crecimiento se vio reducido en concentraciones menores, sin embargo, el contenido de clorofila sí se vio afectado por los cambios en la salinidad; este

estudio indica que concentraciones bajas de salinidad sí son un limitante para el crecimiento de cierto tipo de organismos marinos. No obstante, experimentos realizados en aguas dulces, con la implementación de mesocosmos, demostró que el perifiton es altamente sensible a pequeños cambios de salinidad, reduciendo su productividad y presentando importantes cambios en la composición de diatomeas (Mazzei et al., 2018), pero, la salinidad no es factor limitante para especies de algas que son altamente tolerantes, este hecho se ve reflejado en el estudio realizado por Cañedo-Argüelles et al. (2017), quien al cabo de 41 días de exposición de una salinidad entre 3,78 g/l obtuvo un mayor crecimiento de la biomasa algal, debido a que una alta concentración de sales provoca la dominancia de cianobacterias y diatomeas tolerantes, estos datos podrían explicar el aumento en la concentración de clorofila correspondiente al tratamiento de concentración bajo en el tercer día de exposición.

## 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1. Conclusiones

Si bien es cierto que, la minería altera la composición fisicoquímica del agua, en los análisis de determinación de salinidad en las fuentes hídricas con influencia minera, ninguno de los tres puntos de muestreo superó la normativa nacional vigente, correspondiente a la cantidad de sulfatos o cloruros presentes en un cuerpo hídrico de agua dulce.

El parámetro fisicoquímico que permitió confirmar la existencia de diferentes concentraciones de salinidad fue la conductividad eléctrica, el mismo que se relacionó de manera directa con el pH, dado que, ambos aumentaron uno respecto al otro.

La supervivencia se vio afectada a partir de la concentración baja, en la que, se obtuvo que más de la mitad de las larvas expuestas murieron, mientras que en el tratamiento control, la supervivencia fue de más de 50%.

La salinidad sí afecta de manera negativa al crecimiento larvario de los quironómidos, los resultados demostraron que a partir de los 1000 mg/l de  $Na_2SO_4$ , las larvas tendieron a acelerar su proceso emergencia, si bien no todas las larvas se encontraban en un mismo estadio larvario, es notable el rápido desarrollo de empupamiento y emergencia respecto a las concentraciones de salinidad menores.

La cantidad de clorofila analizada presentó variaciones respecto a las concentraciones y al tiempo al que el perifiton estuvo expuesto. Se evidenció una

reducción significativa en la concentración de clorofila en las salinidades de 1000 y 2000 mg/l, por lo cual la salinidad sí tendría efectos negativos sobre el perifiton.

## 6.2. Recomendaciones

Se recomienda para este tipo de estudios que, las larvas de quironómidos sean de un mismo estadio larvario y especie; realizando la recolección de masas de huevos. Además, que el tiempo de exposición a la salinidad sea mayor y se explore rangos mayores a los 2000 mg/l.

También se recomienda hacer un análisis de las especies que conforman de manera inicial la comunidad perifítica, para así poder analizar los posibles efectos de la salinidad sobre la comunidad. Con ello, sería posible determinar la existencia o no de especies tolerantes o sensibles a diferentes niveles de salinidad.

## REFERENCIAS

- Acquatella, J. (2013). *Energy and Natural Resources Unit Latin American Mining Sector: Review of Current Trends and Prospects*. Recuperado el 22 de marzo de 2019 de [https://www.unece.org/fileadmin/DAM/energy/se/pp/unfc\\_egrc/unfc\\_ws\\_IAEA\\_CYTED\\_UNECE\\_Santiago\\_July2013/9\\_July/10\\_Acquatella\\_LatAm\\_MiningSector.pdf](https://www.unece.org/fileadmin/DAM/energy/se/pp/unfc_egrc/unfc_ws_IAEA_CYTED_UNECE_Santiago_July2013/9_July/10_Acquatella_LatAm_MiningSector.pdf)
- Adler Miserendino, R., Bergquist, B. A., Adler, S. E., Guimarães, J. R. D., Lees, P. S. J., y Niquen, W. (2013). *Challenges to measuring, monitoring, and addressing the cumulative impacts of artisanal and small-scale gold mining in Ecuador*. *Resources Policy*, 38(4), 713–722. <https://doi.org/10.1016/j.resourpol.2013.03.007>
- Akça, Y., y Samsunlu, E. (2012). *The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, proline and nutrient accumulation, and k/na ratio in walnut*. *Pak. J. Bot* (Vol. 44). Recuperado el 10 de diciembre de 2018 de <https://pdfs.semanticscholar.org/8a59/e18a084266b61271a9a485b882a9d8c8969a.pdf>
- Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., y Jouanneau, J. (2004). *Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in the Lot River reservoirs (France)*. *Environmental Pollution*, 132(3), 413–426. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2004.05.025>
- Avci, D. (2017). *Mining conflicts and transformative politics: A comparison of Intag (Ecuador) and Mount Ida (Turkey) environmental struggles*. *Geoforum*, 84, 316–325. <https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2015.07.013>
- Bansah, K. J., Dumakor-Dupey, N. K., Kansake, B. A., Assan, E., y Bekui, P. (2018). *Socioeconomic and environmental assessment of informal artisanal and small-scale mining in Ghana*. *Journal of Cleaner Production*, 202, 465–475.



<https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2018.08.150>

Beermann, A. J., Elbrecht, V., Karnatz, S., Ma, L., Matthaei, C. D., Piggott, J. J., y Leese, F. (2018). *Multiple-stressor effects on stream macroinvertebrate communities: A mesocosm experiment manipulating salinity, fine sediment and flow velocity*. *Science of The Total Environment*, 610–611, 961–971. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2017.08.084>

Beermann, A. J., Zizka, V. M. A., Elbrecht, V., Baranov, V., y Leese, F. (2018). *DNA metabarcoding reveals the complex and hidden responses of chironomids to multiple stressors*. *Environmental Sciences Europe*, 30(1). <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0157-x>

Betancur-Corredor, B., Loaiza-Usuga, J. C., Denich, M., y Borgemeister, C. (2018). *Gold mining as a potential driver of development in Colombia: Challenges and opportunities*. *Journal of Cleaner Production*, 199, 538–553. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2018.07.142>

Bidwell, J. R., y Gorrie, J. R. (2006). *The influence of salinity on metal uptake and effects in the midge Chironomus maddenii*. *Environmental Pollution*, 139(2), 206-213. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2005.05.017>

Bjerklie, D. M., y LaPerriere, J. D. (1985). *Gold Mining Effects on Stream Hydrology and Water Quality, Circle Quadrangle, Alaska*. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 21(2), 235–242. <https://doi.org/10.1111/j.1752-1688.1985.tb00133.x>

Bojaca, R. (2007). Sulfatos en agua por el método nefelométrico. Recuperado el 27 de junio de 2019 de <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/Sulfato+en+agua+por+Nefelometría.pdf/f65867a2-079f-420c-9067-b1c4c3139e89>

Bolshakov, V. V. (2015). *On techniques of maintenance of Chironomus dilutus larvae (Diptera, Chironomidae) on Bacto agar*. *Entomological Review*, 95(6), 811–816. <https://doi.org/10.1134/s0013873815060159>

- Brain, K. A. (2017). *The impacts of mining on livelihoods in the Andes: A critical overview*. *Extractive Industries and Society*, 4(2), 410–418. <https://doi.org/10.1016/j.exis.2017.03.001>
- Bu, H., Song, X., y Zhang, Y. (2019). *Using multivariate statistical analyses to identify and evaluate the main sources of contamination in a polluted river near to the Liaodong Bay in Northeast China*. *Environmental Pollution*, 245, 1058–1070. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2018.11.099>
- Cañedo-Argüelles, M., Brucet, S., Carrasco, S., Flor-Arnau, N., Ordeix, M., Ponsá, S., y Coring, E. (2017). *Effects of potash mining on river ecosystems: An experimental study*. *Environmental Pollution*, 224(2016), 759–770. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.12.072>
- Cañedo-Argüelles, M., Grantham, T. E., Perrée, I., Rieradevall, M., Céspedes-Sánchez, R., y Prat, N. (2012). *Response of stream invertebrates to short-term salinization: A mesocosm approach*. *Environmental Pollution*, 166, 144–151. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.03.027>
- Cañedo-Argüelles, M., Kefford, B. J., Piscart, C., Prat, N., Schäfer, R. B., y Schulz, C. J. (2013). *Salinisation of rivers: An urgent ecological issue*. *Environmental Pollution*, 173, 157–167. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.10.011>
- Cañedo-Argüelles, M., y Rieradevall, M. (2010). *Disturbance caused by freshwater releases of different magnitude on the aquatic macroinvertebrate communities of two coastal lagoons*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 88(2), 190–198. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2010.03.025>
- Canteiro, R., y Albertoni, E. (2011). *Growth of immature chironomus calligraphus (diptera, chironomidae) in laboratory conditions*. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 83(4), 1279–1286. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652011005000035>
- Cao, Y., Zhang, N., Sun, J., y Li, W. (2019). *Responses of periphyton on non-*

*plant substrates to different macrophytes under various nitrogen concentrations: A mesocosm study. Aquatic Botany*, 154, 53–59. <https://doi.org/10.1016/J.AQUABOT.2019.01.003>

Cartier, V., Claret, C., Garnier, R., y Franquet, E. (2011). *How salinity affects life cycle of a brackish water species, Chironomus salinarius KIEFFER (Diptera:Chironomidae). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 405(1–2), 93–98. <https://doi.org/10.1016/J.JEMBE.2011.05.019>

Carver, S., Storey, A., Spafford, H., Lynas, J., Chandler, L., y Weinstein, P. (2009). *Salinity as a driver of aquatic invertebrate colonisation behaviour and distribution in the wheatbelt of Western Australia. Hydrobiologia*, 617(1), 75–90. <https://doi.org/10.1007/s10750-008-9527-5>

Costas, N., Pardo, I., Méndez-Fernández, L., Martínez-Madrid, M., y Rodríguez, P. (2018). *Sensitivity of macroinvertebrate indicator taxa to metal gradients in mining areas in Northern Spain. Ecological Indicators*, 93, 207–218. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLIND.2018.04.059>

Cranston, P. S. (1995). *Introduction. In The Chironomidae* (pp. 1–7). Dordrecht: Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-0715-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0715-0_1)

Fugiel, A., Burchart-Korol, D., Czaplicka-Kolarz, K., y Smoliński, A. (2017). *Environmental impact and damage categories caused by air pollution emissions from mining and quarrying sectors of European countries. Journal of Cleaner Production*, 143, 159–168. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2016.12.136>

Gao, S., Waller, P., Khawam, G., Attalah, S., Huesemann, M., y Ogden, K. (2018). *Incorporation of salinity, nitrogen, and shading stress factors into the Huesemann Algae Biomass Growth model. Algal Research*, 35, 462–470. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2018.09.021>

Giacometti, J., y Bersosa, F. (2006). *Macroinvertebrados acuáticos y su importancia como bioindicadores de calidad del agua en el río Alambi.*

Quito. Recuperado el 15 de junio de 2019 de <https://www.researchgate.net/publication/267967001>

- Gonçalves, A., Marshall, B., Kaplan, R., Moreno-Chavez, J., y Veiga, M. (2017). *Evidence of reduced mercury loss and increased use of cyanidation at gold processing centers in southern Ecuador. Journal of Cleaner Production*, 165, 836–845. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2017.07.097>
- Håkan Tarras-Wahlberg, N., Flachier, A., Fredriksson, G., Lane, S., Lundberg, B., y Sangfors, O. (2000). *Environmental Impact of Small-scale and Artisanal Gold Mining in Southern Ecuador. Source: AMBIO: A Journal of the Human Environment Published By: Royal Swedish Academy of Sciences Ambio*, 29(8), 484–491. <https://doi.org/10.1579/0044-7447-29.8.484>
- Hart, B., Bailey, P., Edwards, R., Hortle, K., James, K., McMahon, A., y Swadling, K. (1990). *Effects of salinity on river, stream and wetland ecosystems in Victoria, Australia. Water Research*, 24(9), 1103–1117. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(90\)90173-4](https://doi.org/10.1016/0043-1354(90)90173-4)
- Hart, B., Bailey, P., Hortle, K., James, K., McMahon, A., y Meredith-i, C. (1990). *Effects of Salinity on River , Stream and Wetland Ecosystems in Victoria , Australia*, 24(9), 1103–1117.
- Hassell, K., Kefford, B., y Nugegoda, D. (2006). *Sub-lethal and chronic salinity tolerances of three freshwater insects: Cloeon sp. and Centropitulum sp. (Ephemeroptera: Baetidae) and Chironomus sp. (Diptera: Chironomidae). Journal of Experimental Biology*, 209(20), 4024–4032. <https://doi.org/10.1242/jeb.02457>
- Helwege, A. (2015). *Challenges with resolving mining conflicts in Latin America. The Extractive Industries and Society*, 2(1), 73–84. <https://doi.org/10.1016/J.EXIS.2014.10.003>
- Hilson, G. (2002). *An overview of land use conflicts in mining communities. Land Use Policy*, 19(1), 65–73. <https://doi.org/10.1016/S0264->

8377(01)00043-6

- Hinton, J., Veiga, M., y Veiga, A. (2003). *Clean artisanal gold mining: a utopian approach* *Journal of Cleaner Production*, 11(2), 99–115. [https://doi.org/10.1016/S0959-6526\(02\)00031-8](https://doi.org/10.1016/S0959-6526(02)00031-8)
- Hooda, P., Edwards, A., Anderson, H., y Miller, A. (2000). *A review of water quality concerns in livestock farming areas*. *Science of The Total Environment*, 250(1–3), 143–167. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(00\)00373-9](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00373-9)
- Jain, R., Cui, Z., Domen, J., Jain, R., Cui, Z., y Domen, J. (2016). *Environmental Impacts of Mining*. *Environmental Impact of Mining and Mineral Processing*, 53–157. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804040-9.00004-8>
- Kefeni, K., Msagati, T., y Mamba, B. (2017). *Acid mine drainage: Prevention, treatment options, and resource recovery: A review*. *Journal of Cleaner Production*, 151, 475–493. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2017.03.082>
- Kuemmerlen, M., Reichert, P., Siber, R., y Schuwirth, N. (2019). *Ecological assessment of river networks: From reach to catchment scale*. *Science of The Total Environment*, 650, 1613–1627. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.09.019>
- Kuhn, R. (2011). Universidad Andina Simón Bolívar Sede Ecuador Maestría en Estudios Latinoamericanos con mención en políticas públicas. No Todo Lo Que Brilla Es Oro conflictos socio ambientales alrededor de dos proyectos de minería a gran escala en el Ecuador. Recuperado el 1 de junio de 2019 [http://repositorionew.uasb.edu.ec/bitstream/10644/2259/1/T0952-MELA-Kuhn-No todo.pdf](http://repositorionew.uasb.edu.ec/bitstream/10644/2259/1/T0952-MELA-Kuhn-No%20todo.pdf)
- Ladrera, R. (2012). Los macroinvertebrados acuáticos como indicadores del estado ecológico de los ríos. *Páginas de Información Ambiental*, 24–29.

- Lechner, A., McIntyre, N., Witt, K., Raymond, C., Arnold, S., Scott, M., y Rifkin, W. (2017). *Challenges of integrated modelling in mining regions to address social, environmental and economic impacts. Environmental Modelling & Software*, 93, 268–281. <https://doi.org/10.1016/J.ENVSOFT.2017.03.020>
- Leite, T., Santos, J., Ferreira, M., Canhoto, C., y Branco, P. (2019). *Does short-term salinization of freshwater alter the behaviour of the Iberian barbel (*Luciobarbus bocagei*, Steindachner. Science of The Total Environment*, 651, 648–655. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.09.191>
- Leppänen, J., Weckström, J., y Korhola, A. (2017). *Multiple mining impacts induce widespread changes in ecosystem dynamics in a boreal lake. Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11421-8>
- Lerner, A., Meltser, N., Sapir, N., Erlick, C., Shashar, N., y Broza, M. (2008). *Reflected polarization guides chironomid females to oviposition sites. Journal of Experimental Biology*, 211(22), 3536–3543. <https://doi.org/10.1242/jeb.022277>
- Li, X., Wu, P., Han, Z., Zha, X., Ye, H., y Qin, Y. (2018). *Effects of mining activities on evolution of water quality of karst waters in Midwestern Guizhou, China: evidences from hydrochemistry and isotopic composition. Environmental Science and Pollution Research*, 25(2), 1220–1230. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0488-y>
- Lu, C., y Vonshak, A. (2002). *Effects of salinity stress on photosystem II function in cyanobacterial *Spirulina platensis* cells. Physiologia Plantarum*, 114(3), 405–413. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2002.1140310.x>
- Ma, D., Chen, S., Lu, J., y Liao, H. (2019). *Study of the effect of periphyton nutrient removal on eutrophic lake water quality. Ecological Engineering*, 130, 122–130. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLENG.2019.02.014>

- Ma, D., Luo, W., Yang, G., Lu, J., y Fan, Y. (2019). *A study on a river health assessment method based on ecological flow. Ecological Modelling*, 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2018.11.023>
- Martinez, J., Torres, M., Dos Santos, G., y Moens, T. (2018). *Influence of heavy metals on nematode community structure in deteriorated soil by gold mining activities in Sibutad, southern Philippines. Ecological Indicators*, 91, 712–721. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLIND.2018.04.021>
- Massoud, M., El-Fadel, M., Scrimshaw, M., y Lester, J. (2006). *Factors influencing development of management strategies for the Abou Ali River in Lebanon: I: Spatial variation and land use. Science of The Total Environment*, 362(1–3), 15–30. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2005.09.079>
- Mazzei, V., Gaiser, E., Kominoski, J., Wilson, B., Servais, S., Bauman, L., y Troxler, T. (2018). *Functional and Compositional Responses of Periphyton Mats to Simulated Saltwater Intrusion in the Southern Everglades. Estuaries and Coasts*, 41(7), 2105–2119. <https://doi.org/10.1007/s12237-018-0415-6>
- McLachlan, J. (1961). *The effect of salinity on growth and chlorophyll content in representative classes of unicellular marine algae. Canadian Journal of Microbiology*, 7(3), 399–406. <https://doi.org/10.1139/m61-048>
- Mhlongo, S., Mativenga, P. T., y Marnewick, A. (2018). *Water quality in a mining and water-stressed region. Journal of Cleaner Production*, 171, 446–456. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.030>
- Ministerio de Minería. (2018). *Strategic mining projects*. Recuperado el 12 de marzo de 2019 de [https://issuu.com/mineriaecuador/docs/master\\_catalogo\\_mineria\\_final\\_ing\\_0](https://issuu.com/mineriaecuador/docs/master_catalogo_mineria_final_ing_0)
- Murrieta, G., Nájjar, J., & Alcántara, F. (2016). Incubación de huevos y determinación del ciclo biológico de *Chironomus* sp . *Egg incubation*

*and determination of the biological cycle of Chironomus sp ., ( Chironomidae , Diptera ) in plastic buckets folia*, 25(1), 37–44.

- Naranjo, R., Niswonger, R., Smith, D., Rosenberry, D., y Chandra, S. (2019). *Linkages between hydrology and seasonal variations of nutrients and periphyton in a large oligotrophic subalpine lake*. *Journal of Hydrology*, 568, 877–890. <https://doi.org/10.1016/J.JHYDROL.2018.11.033>
- Ossa-Moreno, J., McIntyre, N., Ali, S., Smart, J. C. R., Rivera, D., Lall, U., y Keir, G. (2018). *The Hydro-economics of Mining*. *Ecological Economics*, 368–379. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2017.11.010>
- Pavilonis, B., Grassman, J., Johnson, G., Diaz, Y., & Caravanos, J. (2017). *Characterization and risk of exposure to elements from artisanal gold mining operations in the Bolivian Andes*. *Environmental Research*, 154, 1–9. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2016.12.010>
- Pechenik, J., Berard, R., y Kerr, L. (2000). *Effects of reduced salinity on survival, growth, reproductive success, and energetics of the euryhaline polychaete Capitella sp. I*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 254(1), 19–35. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(00\)00261-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(00)00261-6)
- Piscart, C., Moreteau, J. C., & Beisel, J. N. (2005). *Biodiversity and structure of macroinvertebrate communities along a small permanent salinity gradient (Meurthe River, France)*. *Hydrobiologia*, 551(1), 227–236. <https://doi.org/10.1007/s10750-005-4463-0>
- Pniewski, F., & Sylwestrzak, Z. (2018). *Influence of short periods of increased water temperature on species composition and photosynthetic activity in the Baltic periphyton communities*. *Biologia*, 73(11), 1067–1072. <https://doi.org/10.2478/s11756-018-0122-6>
- Prat, N., Ríos, B., Acosta, R., & Rieradevall, M. (2009). Los macroinvertebrados como indicadores de calidad de las aguas. *In Macroinvertebrados Bentónicos Sudamericanos* (p. 656). Tucumán, Argentina: Fundación Miguel Lillo. Recuperado el 15 de marzo de 2019 de



<http://www.ub.edu/fem/docs/caps/2009MacroIndLatinAmcompag0908.pdf>

- Rankin, W. J. (2011). *Minerals, metals and sustainability : meeting future material needs*. CSIRO Pub.
- Rech, K., Guerreschi, R., Torres, K., y De Oliveira Nuñez, A. (2014). *Subsidies for production of Chironomus calligraphus larvae (Chironomidae, Diptera) in the laboratory*. *Invertebrate Reproduction and Development*, 58(3), 199–206. <https://doi.org/10.1080/07924259.2014.894947>
- Rotter, S., Heilmeyer, H., Altenburger, R., y Schmitt-Jansen, M. (2013). *Multiple stressors in periphyton - comparison of observed and predicted tolerance responses to high ionic loads and herbicide exposure*. *Journal of Applied Ecology*, 50(6), 1459–1468. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12146>
- Sahragard, A., y Rafatifard, M. (2010). *Biology and effect of temperature on larval development time of Chironomus riparius (Diptera: Chironomidae) under laboratory conditions*. *Mun. Ent. Zool.*, 5(2002), 1025–1033.
- Sairinen, R., Tiainen, H., y Mononen, T. (2017). *Talvivaara mine and water pollution: An analysis of mining conflict in Finland*. *Extractive Industries and Society*, 4(3), 640–651. <https://doi.org/10.1016/j.exis.2017.05.001>
- Salomons, W. (1995). *Environmental impact of metals derived from mining activities: Processes, predictions, prevention*. *Journal of Geochemical Exploration*, 52(1–2), 5–23. [https://doi.org/10.1016/0375-6742\(94\)00039-E](https://doi.org/10.1016/0375-6742(94)00039-E)
- Sánchez, L., Espinosa, M., y Eguiguren, M. (2016). *“Golden reality” or the “reality of gold”: Artisanal mining and socio-environmental conflict in Chinapintza, Ecuador*. *The Extractive Industries and Society*, 3(1), 124–128. <https://doi.org/10.1016/J.EXIS.2015.11.004>
- Sauer, F., Bundschuh, M., Zubrod, J, Schäfer, R., Thompson, K., y Kefford, B. (2016). *Effects of salinity on leaf breakdown: Dryland salinity versus*

- salinity from a coalmine. Aquatic Toxicology*, 177, 425–432.  
<https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2016.06.014>
- Shul'kin, V., Chernova, E., Khristoforova, N., y Kozhenkova, S. (2015). *Effect of mining activities on the chemistry of aquatic ecosystem components. Water Resources*, 42(7), 843–853.  
<https://doi.org/10.1134/S009780781507012X>
- Smolders, A., Lock, R., Van der Velde, G., Medina Hoyos, R. I., y Roelofs, J. G. M. (2003). *Effects of mining activities on heavy metal concentrations in water, sediment, and macroinvertebrates in different reaches of the Pilcomayo River, South America. Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44(3), 314–323.  
<https://doi.org/10.1007/s00244-002-2042-1>
- Tarras-Wahlberg, N., Flachier, A., Lane, S., y Sangfors, O. (2001). *Environmental impacts and metal exposure of aquatic ecosystems in rivers contaminated by small scale gold mining: The Puyango River basin, southern Ecuador. Science of the Total Environment*, 278(1–3), 239–261. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)00655-6](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00655-6)
- Timpano, A., Schoenholtz, S., Soucek, D., y Zipper, C. (2015). *Salinity as a limiting factor for biological condition in mining-influenced central appalachian headwater streams. Journal of the American Water Resources Association*, 51(1), 240–250.  
<https://doi.org/10.1111/jawr.12247>
- Timpano, A., Zipper, C., Soucek, D., y Schoenholtz, S. (2018). *Seasonal pattern of anthropogenic salinization in temperate forested headwater streams. Water Research*, 133, 8–18.  
<https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2018.01.012>
- UNESCO. (2009). *Cianobacterias Planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de gestión.* (S. Bonilla, Ed.), Unesco (Vol. 16). Recuperado el 19 de junio de 2019 de [www.unesco.org/phi](http://www.unesco.org/phi)
- Valladares, C., y Boelens, R. (2019). *Mining for Mother Earth. Governmentalities,*

*sacred waters and nature's rights in Ecuador*. *Geoforum*, 100, 68–79.  
<https://doi.org/10.1016/J.GEOFORUM.2019.02.009>

Vander Vorste, R., Timpano, A., Cappellin, C., Badgley, B., Zipper, C., y Schoenholtz, S. (2019). *Microbial and macroinvertebrate communities, but not leaf decomposition, change along a mining-induced salinity gradient*. *Freshwater Biology*, (November 2018), 1–14. <https://doi.org/10.1111/fwb.13253>

Vela-Almeida, D., Kolinjivadi, V., y Kosoy, N. (2018). *The building of mining discourses and the politics of scale in Ecuador*. *World Development*, 103, 188–198. <https://doi.org/10.1016/J.WORLDDEV.2017.10.025>

Wu, Y. (2017). *Periphyton: functions and application in environmental remediation*. Elsevier. Recuperado el 8 de marzo de 2019 de <https://www.sciencedirect.com/book/9780128010778/periphyton>

Younger, P., Wolkersdorfer, C., Amezaga, J., Baresel, C., Destouni, P., Gren, P. I., y Hannerz, F. (2003). *Mining Impacts on the Fresh Water Environment: Technical and Managerial Guidelines for Catchment Scale Management (Environmental Regulation of Mine Waters in the European Union)*. *Mine Water and the Environment*, 23(1), 1–80.

Zhang, Z., Lu, Y., Li, H., Tu, Y., Liu, B., & Yang, Z. (2018). *Assessment of heavy metal contamination, distribution and source identification in the sediments from the Zijiang River, China*. *Science of The Total Environment*, 645, 235–243.  
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.07.026>

Zhao, Y., Zhou, L., Dong, B., y Dai, C. (2019). *Health assessment for urban rivers based on the pressure, state and response framework. A case study of the Shiwuli River*. *Ecological Indicators*, 99(April 2018), 324–331.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.12.023>

Zinchenko, T., y Golovatyuk, L. (2013). *Salinity tolerance of macroinvertebrates in stream waters (review)*. *Arid Ecosystems*, 3(3), 113–121.  
<https://doi.org/10.1134/S2079096113030116>

Zipper, C., Donovan, P., Jones, J., Li, J., Price, J., y Stewart, R. (2016). *Spatial and temporal relationships among watershed mining, water quality, and freshwater mussel status in an eastern USA river*. *Science of The Total Environment*, 541, 603–615.  
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2015.09.104>

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce.

<b>Parámetros</b>	<b>Expresado como</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite máximo</b>
Aceites y Grasas.	Sust. solubles en hexano	mg/l	30
Alkil mercurio		mg/l	No detectable
Aluminio	Al	mg/l	5
Arsénico total	As	mg/l	0,1
Bario	Ba	mg/l	2
Boro Total	B	mg/l	2
Cadmino	Cd	mg/l	0,02
Cianuro total	CN <sup>-</sup>	mg/l	0,1
Cinc	Zn	mg/l	5
Cloro Activo	Cl	mg/l	0,5
Cloroformo	Ext. carbón cloroformo ECC	mg/l	0,1
<b>Cloruros</b>	<b>Cl<sup>-</sup></b>	<b>mg/l</b>	<b>1 000</b>
Cobre	Cu	mg/l	1
Cobalto	Co	mg/l	0,5
Coliformes Fecales	NMP	NMP/100 ml	2000
Color real <sup>1</sup>	Color real	unidades de color	Inapreciable en dilución:
Compuestos fenólicos	Fenol	mg/l	<sup>1/20</sup> 0,2
Cromo hexavalente	Cr <sup>+6</sup>	mg/l	0,5
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	DBO <sub>5</sub>	mg/l	100
Demanda Química de Oxígeno	DQO	mg/l	200
Estaño	Sn	mg/l	5
Fluoruros	F	mg/l	5
Fósforo Total	P	mg/l	10
Hierro total	Fe	mg/l	10
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/l	20
Mangane so total	Mn	mg/l	2
Mate ri a flotante	Visibles		Ausencia
Me rcuri o total	Hg	mg/l	0,005
Níquel	Ni	mg/l	2

Nitrógeno amoniacal	N	mg/l	30
Nitrógeno Total Kjeldahl	N	mg/l	50
Compuestos	Organoclorados	mg/l	0,05
Organoclorados	totales		
Compuestos	Organofosforados	mg/l	0,1
Organofosforados	totales		
Plata	Ag	mg/l	0,1
Plomo	Pb	mg/l	0,2
Potencial de hidrógeno	pH		6-sep
Selenio	Se	mg/l	0,1
Sólidos Suspendidos	SST	mg/l	130
Totales			
Sólidos totales	ST	mg/l	1 600
<b>Sulfatos</b>	<b>SO<sub>4</sub><sup>-2</sup></b>	<b>mg/l</b>	<b>1000</b>
Sulfuros	- 2 S	mg/l	0,5
Temperatura	°C		Condición natural ± 3
Tensoactivos	Sustancias Activas	mg/l	0,5
Tetracloruro de carbono	al azul de metileno Tetracloruro de carbono	mg/l	1

**Anexo 2.** Primera aproximación a la recolección de larvas de quironómidos. Lago San Pablo, provincia de Imbabura.

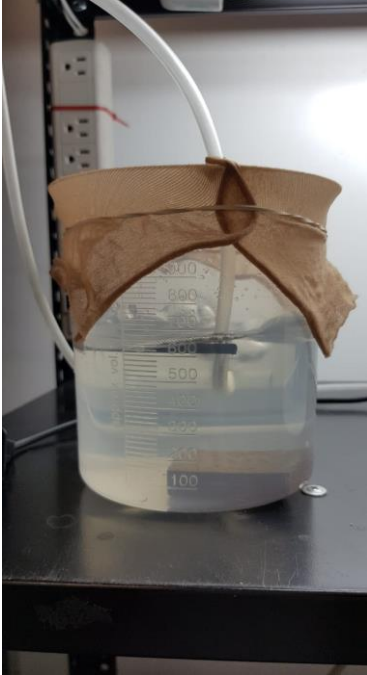


**Anexo 3.** Piedras con perifiton, antes del raspado.





**Anexo 4.** Modelo de crianza de quironómidos.



**Anexo 5.** Recolección de piedras en el Río Alambí, parroquia de Nono.



## Anexo 6. Proceso de extracción de clorofila



## Anexo 7. Estimación de sulfatos.



