

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDIO

La “Laguna de Yahuarcocha” se encuentra a 4 Km al norte de la ciudad de Ibarra, a una altitud de 2200 m.s.n.m. Ocupa una depresión volcánica de la cordillera andina, el área de estudio está limitada al norte con la loma el Churo y los altos de Aloburo; al sur con las lomas de Runa – Urcu, Rumichaca y San Francisco; al este con la loma del Piulo y al oeste con el Mirador, su profundidad máxima es aproximadamente 12 m., comprende una superficie de 293.7 ha y un perímetro de 7.715 m.

La cuenca de drenaje tiene una extensión de 2530 ha y presenta forma alargada; se localiza entre las coordenadas geográficas $0^{\circ}25'44''$ a $0^{\circ}22'35''$ de latitud norte y $78^{\circ}07'21''$ a $78^{\circ}07'28''$ de longitud oeste, encontrándose entre los 2200 a 3600 m.s.n.m; con precipitaciones de 551 mm anuales y una temperatura varía entre 7° C a 12° C, se beneficia de dos periodos climáticos bien diferenciados con una duración de seco (10 meses) y lluvioso (2 meses).

3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

Los materiales y equipos utilizados en la presente investigación se presentan en el cuadro 3.1.

Cuadro 3.1 Materiales y Equipos

<p><i>Campo</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Cámara digital • GPS (Sistema de Posicionamiento Terrestre) • Marcadores permanentes • Flexómetro • Red de Surber • Maskin • Libreta de Campo • Sellos y etiquetas • Tarrinas • Frascos o envases de muestra. • Botas de caucho • Cernidor de Nylon • Lupa • Fundas • Alcohol industrial
<p><i>Laboratorio</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Estereoscopio • Microscopio • Pinzas • Gotero • Bandeja blanca • Cajas Petri • Alcohol industrial • Porta objetos • Cubre objetos • Guantes quirúrgicos
<p><i>Oficina</i></p>	<p>Material de Escritorio</p>

3.3 MÉTODOS

Los factores estudiados, el análisis estadístico empleado y las variables de la presente investigación se detallan a continuación:

3.3.1 Factores en Estudio

El factor estudiado fue la Laguna de Yahuarcocha con sus afluentes: canal del río Tahuando y quebrada Manzanohuaco - Santo Domingo. Con el fin de evaluar la calidad de agua se realizó análisis fisicoquímicos y biológicos en los sitios de muestreo: Sitio A (orillas de la laguna), Sitio B (Canal del Río Tahuando), Sitio C (quebrada Manzanohuaco-Santo Domingo) y D (Canal Sin nombre) para la obtención de una serie de parámetros e indicadores que analizados y procesados estadísticamente nos dan un valor numérico que permitió obtener resultados de varios índices que determinan el estado general de las aguas en función de rangos de calidades establecidos.

3.3.2 Análisis Estadístico

Se realizó un estudio comparativo entre los sitios de muestreo utilizando estadística no paramétrica: prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medias y las desviaciones estándar y prueba de T para muestras independientes, producto del análisis químico y biológico. Esto nos ayudó a determinar si entre esos parámetros las diferencias son estadísticamente significativas o si solo son diferencias aleatorias. Posteriormente se comparó el análisis físico químico, entre los valores máximo permisibles y los valores calculados: oxígeno disuelto, demanda biológica de oxígeno DBO, DQO, pH y coliformes totales.

3.3.3 Variables Evaluadas

Con los datos obtenidos de las técnicas de evaluación de calidad de agua se evaluó tanto variables físico-químicas como las biológicas.

3.3.3.1 Variables Físico-químicas

Como variables físico químicas se consideró evaluar pH, oxígeno disuelto, demanda biológica de oxígeno DBO y coliformes totales, para lo cual una vez tomadas las muestras se envió al laboratorio de EMAPA para el análisis correspondiente.

3.3.3.2 Variables Biológicas

Con los datos obtenidos de la identificación de las muestras se evaluó las siguientes variables biológicas:

- Índice BMWPA *Biological Monitoring Working Party modificad.*- Toma en cuenta el nivel taxonómico de familias de macroinvertebrados acuáticos.
- Índice ETP *Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera.*- Poblaciones presentes con respecto a los demás órdenes presentes.
- Abundancia.- Número total de individuos en cada afluente y orillas de laguna.
- Índice de Sensibilidad.- Toma en cuenta el grado de sensibilidad que tienen las diferentes familias de macroinvertebrados a los contaminantes.
- Riqueza.- Familias registradas en cada sitio de muestreo.
- Diversidad.- Índice de Diversidad de Shanon-Wiener que es sensible a los cambios en las especies raras de la muestra, es afectado por el tamaño de la muestra, muestras mayores tienden a dar valores del índice sin tener diversidades mayores.

3.4 MANEJO ESPECÍFICO DE LA INVESTIGACIÓN

Para el desarrollo de este trabajo y el cumplimiento de los objetivos propuestos se realizó: el muestreo de macroinvertebrados, la identificación taxonómica de los macroinvertebrados, evaluación de la calidad del agua de la laguna de Yahuarcocha, comparaciones entre los sitios de muestreo y finalmente se estableció un plan de monitoreo de la calidad de agua de la laguna.

3.4.1 Muestreo de macroinvertebrados del sistema léntico

Se realizó un recorrido por el perímetro de la Laguna de Yahuarcocha con el fin de establecer y caracterizar los sitios de muestreo.

En cada sitio de muestreo se ubicaron varios puntos muestreo de acuerdo a las zonas de sensibilidad, definidas mediante términos de distancia e influencia de actividad antrópica y en tramos que faciliten su acceso. De esta manera se determinaron cuatro sitios de muestreo, situándose tres en los afluentes y uno en las orillas de la laguna (Anexo 1, Mapa 2).

- *Las orillas de la laguna*, por estar más expuestas a actividades antrópicas fruto del turismo que genera la laguna de Yahuarcocha (Anexo 5, Foto 1). Ubicado en las coordenadas planas en la Zona 17 Sur:
X: 822430
Y: 10042174
- *Canal del Río Tahuando*, este afluente aguas arriba es utilizado como sitio de descarga de aguas negras y otros desechos afectando de esta manera al sistema léntico en estudio (Anexo 5, Foto 2). Ubicado en las coordenadas planas en la Zona 17 Sur:
X: 822814
Y: 10039845

- *Quebrada Manzanohuaco - Santo Domingo*, esta zona fue tomado en cuenta debido a que es uno de los afluentes que mayor caudal aporta a la laguna, las poblaciones que se encuentran en la parte alta hacen uso del agua para actividades agrícolas, pecuarias, y la eliminación de desechos de varios tipos (Anexo 5, Foto 3). Ubicado en las coordenadas planas en la Zona 17 Sur:
X: 8229801
Y: 10040375
- *Canal Sin Nombre*, se lo consideró debido a que en varias salidas de campo se observó la presencia física de materia fecal, convirtiéndose en un foco de gran contaminación (Anexo 5, Foto 5). Ubicado en las coordenadas planas en la Zona 17 Sur:
X: 822438
Y: 10042174

3.4.1.1 Técnica a utilizarse

Los sitios de muestreo, quebrada Manzanohuaco, canal del Río Tahuando, tienen como características: aguas corrientes poco profundas de entre 5 y 40 cm. de profundidad por ello se creyó necesario el uso de la red de Surber, para el caso de orillas de la Laguna de Yahuarcocha se utilizó cernidores, pinzas que permitieron realizar la recolección manual de las muestras, con estas técnicas de muestreo se obtuvo muestras cualitativas para la investigación.

3.4.1.2 Toma de muestras

Se tomó las muestras en tres sitios diferentes, cada punto de muestreo estaba a 30 m. de distancia del otro, conformado un transecto lineal de 100 m. de longitud, en cada sitio ya sea orilla o en los afluentes se realizó tres repeticiones para obtener una muestra representativa.

3.4.1.3 Frecuencia de muestreo

Las salidas de campo para hacer los diferentes muestreos se realizó durante las épocas lluviosa y seca considerando los meses de julio, agosto, septiembre, octubre, noviembre y diciembre, cuya frecuencia de muestreo se lo hizo una vez por mes durante un período de seis meses, donde se colectaron las muestras para su posterior análisis.

3.4.1.4 Recolección de las muestras

En los afluentes de la laguna para colectar muestras en áreas de fondo pedregoso, limoso, aguas de corriente más o menos torrentosas, de fácil de acceso se utilizó la red de Surber y en áreas de agua estancada de fondo limoso de fácil acceso se utilizó cernidores y pinzas.

En cada sitio de muestreo para la recolección de macroinvertebrados, ingresé al afluente parándome en sentido contrario a la corriente, extendí el cono de la red de surber en el mismo sentido de la corriente, posteriormente procedí a zapatear el fondo por un minuto permitiendo el ingreso de los sedimentos que son arrastrados por la corriente hacia la red.

Todo el material colectado en la red se colocó en una tarrina con un poco de agua retirando piedras y palos grandes. Para el siguiente punto de muestreo con la ayuda de abundante agua se removió todo el sedimento acumulado en la red y repitió el mismo procedimiento hasta concluir con la colecta en el transecto del sitio de muestreo. Además, se hizo recolección manual de macroinvertebrados bajo piedras grandes o troncos.

Posteriormente se llevó las tarrinas de cada sitio de muestreo debidamente etiquetadas para luego seleccionar e identificar los macroinvertebrados.

3.4.2 Identificación taxonómica de los macroinvertebrados

Previo a la identificación se hizo la limpieza de las muestras quitando el exceso de agua con un cernidor grande, luego se colocó en una bandeja blanca con agua y se procedió a retirar con una pinza los individuos, posteriormente se almacenó en frascos pequeños con alcohol al 75%.

Las muestras limpias se colocaron en una caja petri para ser vista con el estereoscopio y guiándome en claves dicotómicas, se procedió a la identificación de los insectos y se los clasificó por orden y familia.

3.4.3 Evaluación de la calidad de agua de laguna de Yahuarcocha

Para la evaluación de la calidad de agua del sistema léntico se utilizó la siguiente metodología:

3.4.3.1 Índice Biótico BMWP (*Biological Monitoring Working Party modificado*)

Este índice ordena a las familias de macroinvertebrados en grupos siguiendo un gradiente ascendente de mayor a menor tolerancia a la contaminación. A cada familia le corresponde una puntuación que oscila entre 10 y mínimo de 2 (Anexo 2, Formato 2); con este sistema de puntuación es posible comparar la situación relativa entre estaciones de muestreo. (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2. Índice Biótico BMWPA

CLASE	CALIDAD	VALOR	SIGNIFICADO
I	“Buena”	>120 101 – 120	Aguas muy limpias Aguas no contaminadas o no alteradas de modo sensible
II	“Aceptable”	61 – 100	Son evidentes algunos efectos de

			contaminación
III	“Dudosa”	36 – 60	Aguas contaminadas
IV	“Crítica”	16 – 35	Aguas muy contaminadas
V	“Muy Crítica”	<15	Aguas fuertemente contaminadas

Fuente: Zamora – Muñoz y Alba-Tercenor, 1996

Luego de la identificación elaborar una lista de inventario con las familias presentes y buscar la puntuación que cada familia para obtener el valor del índice de BMWP', con la suma total de las puntuaciones.

La abundancia de cada familia se anotará usando un código del 1 al 5 (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.3. Abundancia BMWPA

Abundancia	Nº de Individuos
1	1
2	2 a 10
3	11 a 100
4	101 a 1000
5	más de 1000

3.4.3.2 Índice ETP (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera)

Este análisis se realizó mediante el uso de tres grupos de macroinvertebrados que son bioindicadores de la buena calidad del agua por ser más sensibles a los contaminantes.

El índice ETP (Cuadro 3.4), se calculó sumando un punto por cada familia presente en la muestra perteneciente a los órdenes Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera. (Carrera, C y Fierro, K. 2001)

Cuadro 3.4. Índice de Calidad de agua ETP

ETP	CALIDAD
75 – 100%	Muy buena
50 – 74%	Buena
25 – 49%	Regular
0 – 24%	Mala

La *abundancia* de macroinvertebrados presentes en los sitios de muestreo se determinó de acuerdo al número total de individuos encontrados.

Para el cálculo del índice ETP se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{CALIDAD DE AGUA} = \text{EPT TOTAL} \div \text{ABUNDANCIA TOTAL} \times 100$$

3.4.3.3 Análisis de Sensibilidad

Este análisis toma en cuenta el grado de sensibilidad que tienen las diferentes familias de macroinvertebrados a los contaminantes. A cada macroinvertebrado se le ha asignado un número que indica su sensibilidad a los contaminantes. Estos números van del 1 al 10. El 1 indica el menos sensible, y así, gradualmente, hasta el 10, que señala al más sensible. De acuerdo con esta sensibilidad se clasifican en cinco grupos (Cuadro 3.5).

Cuadro 3.5. Análisis de Sensibilidad

SENSIBILIDAD	CLASIFICACIÓN
No aceptan contaminantes	9 – 10
Aceptan muy pocos contaminantes	7 – 8
Aceptan pocos contaminantes	5 – 6
Aceptan mayor cantidad de contaminantes	3 – 4
Aceptan muchos contaminantes	1 – 2

Fuente: Carrera y Fierro

Este análisis se realizó determinando la presencia de los diferentes grupos de macroinvertebrados mediante hojas de campo que contiene el número de sensibilidad de cada familia. Se ubicaron las familias encontradas en cada sitio de muestreo en el listado que consta en la hoja de campo y se anotó en la columna de presencia. Posteriormente se sumó toda la columna de presencia y el total se comparó con el cuadro de índice de Sensibilidad (Cuadro 3.6) para determinar la calidad e agua.

Cuadro 3.6 Índice de sensibilidad. Calidad de Agua

SENSIBILIDAD	CALIFICACIÓN	CALIDAD DE AGUA
No aceptan contaminantes	101 - 145	Muy Buena
Aceptan muy pocos contaminantes	61 - 100	Buena
Aceptan pocos contaminantes	36 - 60	Regular
Aceptan mayor cantidad de contaminantes	16 - 35	Mala
Aceptan muchos contaminantes	0 - 15	Muy Mala

3.4.3.4 Riqueza

Para determinar la riqueza se registraron durante el monitoreo mensual las familias de macroinvertebrados presentes en cada sitio de muestreo.

3.4.3.5 Diversidad

El Índice de Diversidad de Shanon-Wiener relaciona el número de especies con la proporción de individuos pertenecientes a cada especie presente en la muestra. Se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$H = -\left(\sum_{i=1}^S P_i \ln P_i\right)$$

En donde:

S = número total de especies presentes en la muestra.

P_i = proporción de individuos de la especie i respecto al total de individuos

(es decir la abundancia relativa de la especie i): $\frac{n_i}{N}$

n_i = número de individuos de la especie i

N = número de todos los individuos de todas las especies

De esta forma, el índice contempla la cantidad de especies presentes en el área de estudio (*riqueza de especies*), y la cantidad relativa de individuos de cada una de esas especies (*abundancia*).

El valor máximo que adquiere en los ríos y lagunas para las comunidades de invertebrados bénticos es de 4,5. Valores inferiores a 2,4-2,5 indican que el sistema está sometido a tensión (vertidos, dragados, canalizaciones, etc). Es un índice que disminuye mucho en aguas muy contaminadas. Por tanto, cuanto mayor valor tome el índice de Shannon-Wiener, mayor calidad tendrá el agua objeto de estudio.

Según Staub *et al.* (1970), los esquemas de clasificación de las aguas contaminadas de acuerdo a los valores del índice de Shannon-Wiener se presentan en la siguiente tabla:

Cuadro 3.7 Esquemas de clasificación de acuerdo a los valores de Shannon-Wiener

H'	Condición
3,0 – 4,5	Contaminación débil
2,0 – 3,0	Contaminación ligera
1,0 – 2,0	Contaminación moderada
0,0 – 1,0	Contaminación severa

3.4.4 Comparación de la evaluación de calidad de agua entre los sitios de muestreo

En esta investigación se realizó un estudio comparativo entre los sitios de muestreo: Sitio A (*Orillas de la Laguna*), Sitio B (*canal del río Tahuando*) y Sitio C (*quebrada Manzanohuayco - Sano Domingo*), utilizando estadística no paramétrica.

La comparación de la calidad de agua entre los sitios de muestreo se lo hizo aplicando la prueba de T pareada (t) y la prueba de Kruskal-Wallis (W) utilizando los valores del análisis de ETP, BMWP, Sensibilidad y análisis físico químico, donde se determinó si existe o no diferencia significativa entre los sitios analizados.

3.4.4.1 Comparación de la evaluación de la calidad de agua entre los sitios de muestreo con la prueba de Kruskal -Wallis

La comparación entre los sitios de muestreo se la realizó utilizando las variables biológicas y físico – químicas de un período de seis meses. Para la comparación con la prueba de Kruskal Wallis (W) se utilizó siguiente ecuación:

$$W = \left[\frac{12}{n_T(n_T + 1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} \right] - 3(n_T + 1)$$

En donde:

W = cantidad total de elementos en todas las muestras

K = cantidad de poblaciones

n_i = cantidad de elementos en la muestra i

$n_T = \sum n_i$ = cantidad total de elementos en todas las muestras

R_i = suma de los rangos en la muestra i

Si se observa que hay muchos rangos iguales, se debe modificar la ecuación:

$$W = \frac{\left[\frac{12}{n_T(n_T + 1)} \sum_{i=t}^k \frac{R_i^2}{n_i} \right] - 3(n_T + 1)}{L}$$

$$\Rightarrow L = 1 - \frac{\sum_{j=1}^g (t_j^3 + t_j)}{n_T^3 - n_T}$$

En donde:

t_i = valor de número de empates de rango

n_T = cantidad total de elementos en todas las muestras

3.4.4.2 Comparación de la evaluación de la calidad de agua entre los sitios de muestreo con la prueba de T pareada

La comparación entre los sitios de muestreo se la realizó utilizando las variables biológicas de un periodo de seis meses. Para la comparación con la prueba de T (t) se utilizó siguiente fórmula:

$$t = \frac{\bar{x}d_i}{\sqrt{\frac{\sum d_i^2 - \frac{(\sum d_i)^2}{n}}{n(n-1)}}$$

En donde:

\bar{x} = media

d_i = desviación estándar

n = cantidad de elementos de la muestra

3.4.5 Plan de monitoreo de la calidad de agua de la laguna

Una vez llegado a su fin los tres primeros objetivos de esta investigación: el muestreo de macroinvertebrados para conocer la calidad de agua del sistema léntico, la identificación taxonómica de los macroinvertebrados colectados para evaluar la abundancia, riqueza, diversidad y sensibilidad en los sitios de muestreo y las comparaciones de la evaluación de calidad de agua entre los sitios de muestreo, se obtuvo el primer monitoreo en la laguna de Yahuarcocha, lo que constituyó una línea base para poder establecer un plan de monitoreo.

En este primer monitoreo también se caracterizó los sitios de muestreo y se determinó las afecciones al agua, utilizando una lista de chequeo (Anexo 2, formato 1), para dar posibles soluciones.

Se estableció los sitios de muestreo para el futuro monitoreo y aplicación del plan de monitoreo propuesto.