



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y**  
**AMBIENTALES**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES**  
**RENOVABLES**

**EVALUACIÓN DE LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE**  
**FITOPLANCTON POR PAJA DE CEBADA**  
*Hordeum vulgare* EN EL LAGO YAHUARCOCHA

**PLAN DE TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OBTENER EL TÍTULO DE**  
**INGENIERO EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

**AUTOR**

**KEVIN PAUL PATIÑO CABRERA**

**DIRECTOR**

**MSc. JAIRO SANTIAGO CABRERA GARCÍA**

**JUNIO DEL 2020**



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES  
“EVALUACIÓN DE LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO FITOPLANCTON  
POR PAJA DE CEBADA *Hordeum vulgare* EN EL LAGO YAHUARCOCHA”

Trabajo de titulación revisado por el Comité Asesor, previa a la obtención del título de:

INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES

APROBADA:

M.Sc. Santiago Cabrera

DIRECTOR

M.Sc. Elizabeth Velarde

ASESORA

M.Sc. Pedro Barba

ASESOR

IBARRA – ECUADOR

JUNIO, 2020



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

## BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

### AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

#### 1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
<b>CÉDULA DE IDENTIDAD:</b>	<b>DE</b>	1723297063	
<b>APELLIDOS Y NOMBRES:</b>	<b>Y</b>	KEVIN PAUL PATIÑO CABRERA	
<b>DIRECCIÓN:</b>		Conocoto N10-623	
<b>EMAIL:</b>		kppatinoc@utn.edu.ec	
<b>TELÉFONO FIJO:</b>	(02) 3182195	<b>TELÉFONO MÓVIL:</b>	0985747864

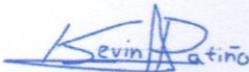
DATOS DE LA OBRA	
<b>TÍTULO:</b>	EVALUACIÓN DE LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE FITOPLANCTON POR PAJA DE CEBADA <i>Hordeum vulgare</i> EN EL LAGO YAHUARCOCHA
<b>AUTOR (ES):</b>	KEVIN PAUL PATIÑO CABRERA
<b>FECHA: DD/MM/AAAA</b>	25-06-2020
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
<b>PROGRAMA:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> <b>PREGRADO</b> <input type="checkbox"/> <b>POSGRADO</b>
<b>TITULO POR EL QUE OPTA:</b>	Ingeniero en Recursos Naturales Renovables
<b>ASESOR /DIRECTOR:</b>	M.Sc. Santiago Cabrera

## 2. CONSTANCIAS

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 25 días del mes de junio del 2020

### EL AUTOR:



.....  
Nombre: Kevin Paul Patiño Cabrera

## REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

**Guía:** FICAYA – UTN

**Fecha:** 17 de Junio del 2020

KEVIN PAUL PATIÑO CABRERA

**“EVALUACIÓN DE LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO FITOPLANCTON POR PAJA DE CEBADA *Hordeum vulgare* EN EL LAGO YAHUARCOCHA”**

**TRABAJO DE GRADO.**

Ingeniero en Recursos Naturales Renovables, Universidad Técnica del Norte.  
Carrera de Ingeniería en Recursos Naturales Renovables, Ibarra, 17 de junio del 2020

**DIRECTOR:** Ing. Jairo Santiago Cabrera García. M.Sc.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad de inhibición de la hojarasca de ceba *Hordeum vulgare* en poblaciones fitoplanctónicas (especialmente cianobacterias) del Lago Yahuarcocha, Provincia de Imbabura, con la finalidad de controlar y reducir las floración microalgas permitiendo de esta forma rehabilitar el estado ecológico del ecosistema acuático y a su vez elevar la calidad de vida de las personas quienes habitan y se benefician de los servicios ecosistémicos que brinda el lago Yahuarcocha.

Fecha: 17 de Junio del 2020

**AUTOR**

---

Patiño Cabrera Kevin Paul

**DIRECTOR**

---

M.Sc. Jairo Santiago Cabrera García

## **AGRADECIMIENTO**

*A mi director de tesis Ing. Santiago Cabrera, le doy mis más sinceros agradecimientos, ya que fue quien con sus conocimientos, experiencia y habilidades, supo guiarme de la mejor manera en el desarrollo y desempeño de mi investigación de tesis y por ser además de un excelente docente y un gran amigo. De igual manera agradezco a mis asesores Ing. Pedro Barba y Elizabeth Velarde, por sus asesoramientos y disponibilidad a ayudarme cuando lo necesité.*

*En gran medida también agradezco, a las Ing. Tania Oña e Ing. Elizabeth Velarde, por haberme permitido formar parte del proyecto VLIR-UOS-UTN y del laboratorio de LABINAM y haberme facilitado con las herramientas, equipos y conocimientos, requeridos para el desarrollo de mi tesis.*

*También quiero resaltar el apoyo de mis amigos, quienes fueron importantes para la elaboración de mi investigación, Gabriel Chimbo, Jorge Revelo, Francisco Caicedo, Diego Olivo, Erika Pujota y Fernanda Benavides, quienes me apoyaron cuando requerí de su ayuda; a su vez por ser compañeros de vivencias, durante un gran parte de mi vida de estancia en la ciudad de Ibarra.*

*Para finalizar, agradezco principalmente a mi familia por apoyarme incondicionalmente en todos los sentidos, ya que fueron la principal motivación para superarme tanto profesionalmente como persona, debido a que gracias sus enseñanzas y valores inculcadores hicieron de mí una buena persona y profesional.*

**Kevin Patiño**

## **DEDICATORIA**

*El documento realizado, está dedicado con todo el cariño y amor para todas las personas que estuvieron a mi lado tanto en los momentos felices como difíciles, convirtiéndose en un peldaño de gran importancia, para alcanzar esta meta; y a todos aquellos quienes hicieron todo lo posible e incluso se desvivieron por apoyarme, para lograr cumplir uno de mis objetivos en la vida; especialmente el esfuerzo y dedicación que demandó la elaboración de este documento, va dedicado a mi familia que desinteresadamente siempre me apoyaron y confiaron.*

*Mis padres Miryan y Pablo*

*Mis hermanos Alan y Odalys*

*El angelito que siempre está a mi lado Gabriel*

*Y mi abuelita Rosario la cual me observa desde el cielo*

***La única barrera para cumplir tus sueños y metas, eres tú mismo.***

***Gracias a todos por su apoyo, esfuerzo y confianza.***

***Kevin Patiño***

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>Contenido</b>	<b>Páginas</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>xi</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>xii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xvi</b>
<b>CAPITULO I</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Revisión de Antecedentes o Estado del Arte .....	1
1.2 Objetivos .....	8
1.2.1 Objetivo general .....	8
1.2.2 Objetivos específicos.....	8
1.3 Hipótesis de la investigación.....	8
<b>CAPITULO II</b> .....	<b>10</b>
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>10</b>
2.1 Marco teórico referencial .....	10
2.1.1 Lagos altoandinos.....	10
2.1.2 Poblaciones fitoplanctónicas .....	12
• Eutrofización.....	13
• Blooms o Floraciones de Cianobacterias .....	14
2.1.3 Lago Yahuarcocha.....	16
2.1.4 Tecnologías y métodos de control de blooms de microalgas y cianobacterias.....	18
• Método de control de nutrientes.....	19
• Método químico de control .....	20
• Métodos de control Mecánico .....	21
• Métodos de control biológico.....	22
• Bacterias .....	22
• Macrófitas .....	22
• Extractos de plantas.....	22
• Método de control por descomposición aerobia de material vegetal.....	23

2.2	Marco legal.....	24
•	Constitución de la República del Ecuador .....	24
•	Convenios Internacionales .....	25
•	Código Orgánico de Organización Territorial Autonomía Descentralización (COOTAD) .....	25
•	Código Orgánico del Ambiente (COA) .....	26
•	Ley Orgánica de Recursos Hídricos, Usos y Aprovechamiento del Agua .....	26
•	Reglamento Ley Recursos Hídricos usos y Aprovechamiento del Agua .....	27
•	Registro Oficial N° 387.....	27
•	Plan Nacional de Desarrollo “Toda Una Vida 2017 -2021” .....	27
	<b>CAPITULO III.....</b>	<b>28</b>
	<b>METODOLOGÍA .....</b>	<b>28</b>
3.1	Descripción del área de estudio .....	28
3.2	Métodos.....	30
3.3	Materiales y equipos .....	30
3.3.1	Recolección y caracterización taxonómica de la hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> , utilizada en el bioensayo .....	32
3.3.2	Caracterización taxonómica de microalgas .....	32
3.3.2.1	Preparación de muestra para la determinación de densidad y caracterización de microalgas .....	33
3.3.2.2	Fijación de la muestra .....	34
3.3.2.3	Proceso de recuento e identificación de microalgas .....	35
3.3.2.4	Determinación de densidad de las comunidades fitoplanctónicas.....	36
3.3.3	Recolección de agua del lago Yahuarcocha .....	37
3.3.3.1	Conservación de muestras y cadena de custodia .....	38
3.3.4	Acondicionamiento de los limnocorales o peceras .....	38
3.3.5	Preparación de la hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> para el bioensayo .....	38
3.3.6	Implementación del bioensayo .....	39
3.3.7	Análisis de la capacidad de inhibición de la hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> sobre las microalgas .....	42
3.3.7.1	Análisis estadístico .....	42
3.3.8	Estimación de los factores ambientales.....	43

3.3.8.1	Medición de parámetros físicos – químicos .....	43
3.3.8.2	Medición de pigmentos (clorofila) .....	44
•	Clorofila- <i>a</i> (en vivo) .....	44
•	Clorofila- <i>a</i> (extraída) .....	44
3.3.8.3	Análisis estadístico de la relación de las variables físico-químicas del agua del lago Yahuarcocha, en la eficiencia de inhibición de <i>Hordeum vulgare</i> sobre las microalgas, especialmente cianobacterias.....	47
•	Análisis de componentes principales (ACP).....	48
•	Análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS).....	48
<b>CAPITULO IV .....</b>		<b>50</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>		<b>50</b>
4.1	Caracterización taxonómica de las especies de microalgas, especialmente cianobacterias, presentes en agua del lago Yahuarcocha, que se utilizaron en los experimentos de laboratorio.....	50
4.1.1	Recolección y caracterización botánica de la hojarasca de cebada utilizada en el bioensayo .....	50
4.1.2	Clasificación y caracterización taxonómica de las microalgas identificadas. ....	53
•	Clasificación taxonómica de las microalgas identificadas.....	53
•	Caracterización taxonómica de las microalgas del grupo Cyanophyta.....	56
4.1.3	Estimación de la densidad en las comunidades fitoplanctónicas .....	58
4.2	Análisis de la capacidad de inhibición de la hojarasca de <i>Hordeum vulgares</i> en limnocorrales .....	60
4.2.1	Efectos de los tratamiento de la hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> en el fitoplancton .....	60
4.2.2	Evaluación de la capacidad de inhibición de la hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> en la comunidad cianobacteriana .....	65
4.2.2.1	Inhibición del crecimiento de los géneros <i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Microcystis</i> y <i>Pseudanabaena</i> por influencia de la hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> .....	69
•	Género <i>Cylindrospermopsis</i> .....	70
•	Género <i>Microcystis</i> .....	71
•	Género <i>Pseudanabaena</i> .....	73

4.3	Relación de la incidencia de las variables físico-químicas del agua del lago Yahuarcocha, en la eficiencia de inhibición de la hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> sobre el fitoplancton, especialmente cianobacterias, en condiciones de laboratorio .....	75
4.3.1	Medición de los parámetros físico-químicos del agua del lago Yahuarcocha.....	75
•	Temperatura (Temp) .....	76
•	Conductividad (Cond).....	77
•	Potencial hidrógeno (pH) .....	78
•	Oxígeno disuelto (OD).....	79
4.3.2	Estimación indirecta de la biomasa de las comunidades fitoplanctónicas, a través de la clorofila- <i>a</i> extraída (Cl- <i>a</i> EX) y clorofila- <i>a</i> en vivo (Cl- <i>a</i> EV) .....	80
•	Clorofila- <i>a</i> extraída (Cl- <i>a</i> EX) .....	80
•	Clorofila- <i>a</i> en vivo (Cl- <i>a</i> EV).....	82
4.3.3	Correlaciones entre las variables físico-químicas con las microalgas.....	84
•	Análisis de componentes principales (ACP).....	85
•	Análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS).....	88
	<b>CAPITULO V.....</b>	<b>92</b>
	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>92</b>
5.1	Conclusiones .....	92
5.2	Recomendaciones.....	93
	<b>CAPITULO VI.....</b>	<b>94</b>
	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>94</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>109</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Materiales, equipos, programas y reactivos .....	31
<b>Tabla 2.</b> Clasificación taxonómica de la cebada .....	52
<b>Tabla 3.</b> Clasificación taxonómica del fitoplancton identificado.....	54
<b>Tabla 4.</b> Caracterización taxonómica de la división Cyanophyta (cianobacterias), basado en la descripción de algunos autores.....	56
<b>Tabla 5.</b> Efectos de los tratamientos T2 con 4 g/l y T3 con 6 g/l de hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> en un periodo de treinta días, sobre los grupos de microalgas, con respecto del testigo .....	64
<b>Tabla 6.</b> Efectos de los tratamientos con hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> en un periodo de treinta días, sobre los grupos de cianobacterias .....	68
<b>Tabla 7.</b> Densidad media de los géneros <i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Microcystis</i> y <i>Pseudanabaena</i> , bajo la influencia de los tratamientos con hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> más significativos .....	74
<b>Tabla 8.</b> Estadística descriptiva de los parámetros físico-químicos del testigo (0 g/l) y los tratamientos con hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> aplicado, donde se expresa el valor promedio y desviación estándar.....	75
<b>Tabla 9.</b> Matriz de correlaciones de Pearson entre los parámetros físico-químicos, clorofila-a en vivo, clorofila-a extraída, divisiones de fitoplancton, de los tratamientos con hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> del bioensayo.....	84
<b>Tabla 10.</b> Significancia de las variables analizadas en los componentes principales (CP1 y CP2).....	86
<b>Tabla 11.</b> Significancia y asociaciones del análisis NMDS de los factores ambientales con las comunidades de microalgas .....	88

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Métodos de control de microalgas en ecosistemas acuáticos .....	19
<b>Figura 2.</b> Mapa de ubicación geográfico del lago Yahuarcocha.....	29
<b>Figura 3.</b> a) Vertimiento de la muestra en el divisor b) División de la muestras de plancton.....	34
<b>Figura 4.</b> a) Sedimentación de la muestra b) Fijación de la muestra para el análisis .....	35
<b>Figura 5.</b> a) Recuento de muestras b) Inventario de taxones .....	36
<b>Figura 6.</b> a) Recolección de agua del lago Yahuarcocha b) Recipiente de 100 litros .....	37
<b>Figura 7.</b> a) Cubos de hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> b) Preparación de la hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> .....	39
<b>Figura 8.</b> a) Llenado b) Traslado de los limnocorrales .....	40
<b>Figura 9.</b> Implementación del bioensayo y colocación de las dosis de hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> en cada uno de los limnocorrales .....	40
<b>Figura 10.</b> Diseño experimental del bioensayo con la cantidad de hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> colocada en cada tratamiento .....	41
<b>Figura 11.</b> a) Medición de parámetros físico-químicos b) Toma de muestras del bioensayo .....	42
<b>Figura 12.</b> a) Clorofila adherida al filtro de fibra de vidrio b) Inserción de los fragmentos de filtros al tubo de ensayo.....	45
<b>Figura 13.</b> a) Vertido de metanol b) Refrigeración.....	46
<b>Figura 14.</b> Georreferenciación de sitios de ubicación de cultivos de cebada en la provincia de Imbabura.....	51
<b>Figura 15.</b> Densidad total de las divisiones taxonómicas de fitoplancton a lo largo del experimento.....	59
<b>Figura 16.</b> Capacidad de inhibición del fitoplancton a través de los días de ejecución del experimento, en los tratamientos T1, T2, T3 y T4, con respecto del testigo y densidad inicial.....	61
<b>Figura 17.</b> Comparación de la densidad total de fitoplancton entre los diferentes tratamientos T1, T2, T3 y T4 con respecto del testigo, a partir del día 20 hasta el día 30 del bioensayo.....	62

<b>Figura 18.</b> Influencia de la hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> en los grupos de microalgas (promedios de todos los tratamientos T1, T2, T3 y T4, a excepción del testigo).....	63
<b>Figura 19.</b> a) Densidad y dominancia absoluta de los principales géneros de cianobacterias identificados en los tratamientos con dosis de (2, 4, 6 y 8 g/l) de hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> y testigo (0 g/l) durante 30 días y b) Abundancia de otros géneros de las cianobacterias identificados en los tratamientos y testigo del bioensayo.....	66
<b>Figura 20.</b> Efectos de los tratamientos de hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> , T1, T2, T3 y T4 con respecto del testigo, en la división Cyanophyta .....	68
<b>Figura 21.</b> Comparaciones de las densidades acumuladas de los tratamientos T1, T2, T3 y T4 con respecto del testigo, a partir del día 20 hasta el día 30 de experimentación: a) la división Cyanophyta y b) género <i>Cylindrospermopsis</i> ....	69
<b>Figura 22.</b> Influencia de los tratamientos con hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> , T1, T2, T3 y T4, con respecto del testigo y densidad inicial, en el crecimiento de <i>Cylindrospermopsis</i> .....	70
<b>Figura 23.</b> Incidencia de los tratamientos con hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> , T1, T2, T3 y T4, con respecto del testigo, sobre el género <i>Microcystis</i> .....	72
<b>Figura 24.</b> Inhibición del crecimiento de <i>Pseudanabaena</i> por efecto de los tratamientos T1, T2, T3 y T4, con respecto del testigo y densidad inicial .....	73
<b>Figura 25.</b> Valores de temperatura de los tratamientos T1, T2, T3 y T4, con respecto del testigo, durante los treinta días de experimentación .....	76
<b>Figura 26.</b> Valores de conductividad de los tratamientos T1, T2, T3 y T4, con respecto del testigo, durante el periodo de experimentación .....	77
<b>Figura 27.</b> Valores del pH del testigo y los tratamientos T1, T2, T3 y T4, durante el periodo de aplicación del bioensayo .....	78
<b>Figura 28.</b> Valores del OD del testigo y los tratamientos con hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> , T1, T2, T3 y T4, durante el periodo de aplicación del bioensayo .....	79
<b>Figura 29.</b> Comparación de la clorofila-a extraída de los tratamientos, T1, T2, T3 y T4 de hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> con respecto al testigo.....	81

<b>Figura 30.</b> Comparación de la clorofila-a en vivo de los tratamientos con hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> , T1, T2, T3 y T4, en comparación con del testigo durante todo el periodo de aplicación del bioensayo .....	83
<b>Figura 31.</b> ACP de las variables físico-químicas con respecto a las observaciones, clorofila-a extraída y clorofila-a en vivo, de los tratamientos con hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> durante el tiempo de experimentación, representado en dos escalas .....	87
<b>Figura 32.</b> Escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) de los grupos de fitoplanctón y géneros de cianobacterias en asociación con los factores ambientales, de los tratamientos con hojarasca de <i>Hordeum vulgare</i> del bioensayo .....	89

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y**  
**AMBIENTALES**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES**  
**RENOVABLES**

**EVALUACIÓN DE LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE**  
**FITOPLANCTON POR PAJA DE CEBADA**  
*Hordeum vulgare* EN EL LAGO YAHUARCOCHA

Kevin Paul Patiño Cabrera

**RESUMEN**

El lago Yahuarcocha ubicado en la provincia de Imbabura, en los últimos años se ha visto sometido a una fuerte presión antropogénica, lo que ha ocasionado el deteriorado de la calidad ecosistémica del lago. Esto ha provocado la transformación del estado trófico del lago, de eutrófico a hipertrófico, debido a la excesiva carga de nutrientes vertida en el lago, lo que ha favorecido la aparición de floraciones de microalgas, especialmente de cianobacterias. Motivo por el cual, esta investigación tuvo como objetivo evaluar la capacidad de inhibición de las microalgas por la descomposición de la hojarasca de cebada *Hordeum vulgare* en condiciones de laboratorio. Se utilizaron 15 limnocorales que fueron llenos con 30 litros de agua de lago y se añadió 2, 4, 6 y 8 g/l de hojarasca de cebada en los tratamientos (con tres repeticiones) a excepción del testigo (0 g/l) y se tomaron muestras de agua cada 5 días, para identificar y cuantificar la cantidad de microalgas, a través de la densidad y la clorofila-*a*. Se midió parámetros físico-químicos (conductividad, pH, temperatura y OD) diariamente, para evaluar los factores que influyeron en la eficiencia de la hojarasca de cebada. Los tratamientos con 4 y 6 g/l de hojarasca de *Hordeum vulgare* fueron los mejores en la reducción de fitoplancton, afectando principalmente a las cianobacterias cerca, del 70, 85 y 90 % a los 20, 25 y 30 días del experimento, afectando especialmente a los géneros dominantes del lago: *Cylindrospermopsis*, *Pseudanabaena* y *Microcystis*. Además los factores ambientales que influyeron en la eficiencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare* en el control de las microalgas fueron el OD, pH y conductividad establecidos mediante un análisis ACP y NMDS. Demostrando que *Hordeum vulgare* ejerció una variación en diferentes factores ambientales e inhibió el crecimiento del fitoplancton

**Palabras clave:** Lago Yahuarcocha, microalgas, cianobacterias, hojarasca de *Hordeum vulgare*, clorofila-*a*

## ABSTRACT

Lake Yahuarcocha situated in the province of Imbabura, in recent years has been subjected to strong anthropogenic pressure, which has caused the deterioration of the ecosystem quality of the lake. This has caused the transformation of the trophic state of the lake, from eutrophic to hypertrophic, due to the excessive load of nutrients poured into the lake, which has advantaged the appearance of microalgae blooms, especially cyanobacteria. Reason why, this research aimed to evaluate the ability of microalgae inhibition by the decomposition of barley straw litter under laboratory conditions. Were used 15 limnocorales that were filled with 30 liters of lake water and 2, 4, 6 and 8 g/l of barley straw was added in the treatments (with three repetitions) except for the control (0 g/l) and water samples were taken every 5 days, to identify and quantify the amount of microalgae, through density and chlorophyll-*a*. Physical-chemical parameters (conductivity, pH, temperature and DO) were measured daily, to assess the factors that influenced the efficiency of barley straw. The treatments with 4 and 6 g/l of barley straw were the best in reducing phytoplankton, mainly affecting cyanobacteria close to 70, 85 and 90% at 20, 25 and 30 days of the experiment, especially affecting the dominant genera of the lake *Cylindrospermopsis*, *Pseudanabaena* and *Microcystis*. Which was established through a bifactorial Anova and a Tukey test. In addition, the environmental factors that influenced the efficiency of barley straw in the control of microalgae were the DO, pH and conductivity established by a PCA and NMDS analysis. Showing that barley straw exerted a variation on different environmental factors and inhibited the growth of phytoplankton

**Key words:** Yahuarcocha lake, microalgae, cyanobacteria, barley straw, chlorophyll-*a*

# CAPITULO I

## INTRODUCCIÓN

### 1.1 Revisión de Antecedentes

El crecimiento descontrolado de poblaciones fitoplanctónicas en sistemas acuáticos leníticos naturales y artificiales ha incrementado a nivel mundial (Khan y Ansari, 2005). Lo cual ha disminuido la eficiencia de los sistemas de drenaje siendo más común encontrar bloqueadas bombas, filtros y vertederos de agua. También se han visto afectadas actividades como la navegación, pesca y otras formas recreacionales, relacionadas con estos ecosistemas (Welch, Barrett, Gibson y Ridge, 1990).

A su vez, cuando el fitoplancton crece excesivamente genera “blooms” o crecimientos masivos de microalgas, organismos causantes de infecciones y enfermedades, sin mencionar la emisión de malos olores, atentando contra la salud humana, el ganado, la flora y fauna acuática (Welch et al., 1990). Este problema se origina debido a la alteración de concentraciones de nutrientes naturales (fósforo y nitrógeno) que aumentan en el agua como resultado de las actividades humanas y procesos naturales alterados (Chapman y Beim, 1996; Carneiro, Andreoli y Cunha, 2014).

Las floraciones de microalgas son el resultado del incremento de las temperaturas a nivel global y de la eutrofización, provocado por actividades humanas como el vertimiento de aguas residuales, la agricultura, ganadería, entre otras. El problema puede agravarse más al eliminar macrófitas acuáticas quienes son las encargadas de controlar los niveles de nutrientes en los ecosistemas acuáticos, un ejemplo de esto suele suceder al realizar operaciones de control de malezas que eliminan indiscriminadamente las macrófitas, que desencadena un crecimiento excesivo de microalgas (Iredale, Mcdonald y Adams, 2012).

Es de gran complejidad mantener equilibrado el crecimiento de microalgas debido a la resistencia, capacidad adaptativa y tamaño microscópico que presentan, generándose por este motivo diferentes métodos de control de fitoplancton. Cobo (2015), en su investigación recopiló información generada por varios autores

quienes afirmaron que los métodos más eficaces son los relacionados con la utilización de químicos como pesticidas y alguicidas, que generan cierta controversia y preocupación debido a la poca selectividad, toxicidad, bioacumulación y persistencia sobre otros organismos. Se ha probado también otros métodos de control con mayor o menor éxito como son: i) el biológico mediante la incitación de interacciones ecológicas como la depredación, parasitismo, alelopatías, entre otros (Rastogi, Madamwar y Incharoensakdi, 2015), ii) el control de nutrientes donde se busca reducirlos a través de mecanismos de adsorción, aireación hipolimnética, tratamiento de sedimentos y precipitación o mediante la limitación de la entrada de estos nutrientes en el ecosistema, con técnicas de lagunaje que pueden generar la muerte de otros organismos tanto bentónicos, planctónicos y limnéticos; pero, estas técnicas presentan elevados costos y no siempre son efectivas (Newcombe, House, Ho, Baker y Burch, 2010; Cobo, 2015) y iii) los métodos mecánicos como el dragado, agitación, rastrillo o ultrasonido (Kieffer et al., 2015).

Un ejemplo de lo mencionado es el estudio de, Jeppesen et al. (2007) quien aplicó algunos métodos en su investigación realizada en el lago más grande de Dinamarca (Arresø), que se vio afectado en el año de 1991 por una carga excesiva de nutrientes desde la cuenca que lo alimentaba, principalmente por causa del fósforo proveniente de la ciudad de Hillerød. El mejoramiento en el tratamiento de aguas residuales, el establecimiento de lagos artificiales y la reducción en la utilización de fertilizantes en la cuenca redujo el fósforo y nitrógeno, lo que condujo a la mejora sustancial del lago, disminuyendo así la concentración de clorofila-*a* y la biomasa total, especialmente cianobacterias. Los cambios en la biomasa por otra parte no se le atribuyeron únicamente a la mejora en el control de nutrientes, sino también a los cambios marcados en las comunidades de zooplancton, debido a un posible pastoreo o probablemente al cambio producido en las comunidades de peces.

A partir de la década de los años 80 donde un consultor de construcción de lagos de Reino Unido, afirmara por primera vez que la introducción accidental de la hojarasca vegetal en uno de los drenajes de alimentación de un pequeño lago,

producto de la actividad agrícola de su zona, ocasionara una reducción considerable en el crecimiento de algas en pocos meses, generó la atracción y curiosidad por parte de la comunidad científica (Wingfield, Greaves, Bebb y Seager, 1985). Desde ese entonces se han ido acumulando una serie de pruebas y experimentos empleando diferentes variedades de hojarasca vegetal como el heno, trigo y cebada para el control de poblaciones fitoplanctónicas. En donde algunos autores han demostrado que una de las más efectivas es la hojarasca de cebada (*Hordeum vulgare*) debido al alto contenido de lignina y bajo contenido de fósforo, denominándose a esta técnica, control de microalgas por descomposición aerobia de materia orgánica (Welch et al., 1990; Everall y Less, 1996; Butler, Reedyk, Murrell y Mah, 2005).

Brownlee, Sellner, S. y Sellner, K. (2003) en el estudio que realizaron en los ríos Potomac (agua dulce) y Patuxent (salobre), investigaron el efecto de *Hordeum vulgare* en el control de diferentes especies de fitoplancton y cianobacterias. Donde, después de seis meses de insertada la hojarasca de *Hordeum vulgare*, evaluaron el crecimiento de seis taxones autótrofos que fueron cultivados. Demostrando que la inserción de la hojarasca de *Hordeum vulgare* disminuyó el crecimiento de tres taxones (*Ankistrodesmus falcatus*, *Chlorella capsulata*, *Isochrysis* sp), en comparación con los cultivos que no fueron añadidos la hojarasca. En los cultivos de *Cyclotella* sp., *Prorocentrum mínimo*, *Pseudanabaena* sp., no se detectaron cambios significativos en el crecimiento, pero demostraron algunos posibles impactos por la influencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare*. Concluyendo, primero que la adicción de mayor cantidad de hojarasca a *Cyclotella* sp., resultó en una reducción de la biomasa, que en niveles que recibieron cantidades más bajas de hojarasca. En segundo lugar, que *Prorocentrum mínimo* se vio aparentemente estimulado a niveles bajos de concentración de hojarasca, sugiriendo que la inserción de la hojarasca podría haber estimulado el crecimiento de dinoflagelados. Tercero, se observaron cambios o apariciones de especies en dos cultivos con presencia de hojarasca, favoreciendo a los cambios de *Isochrysis* sp. a *Cyclotella* sp. y *Thalassiosira* sp. Confirmando, la susceptibilidad que tienen algunos taxones de fitoplancton

salobre y de agua dulce, frente a la influencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare*.

De igual manera, Fervier, Urrutia, Piano, Bona, Persson y Hansson (2019) estudiaron la posibilidad de reducir el crecimiento de algas filamentosas en un ecosistema de agua dulce, utilizando una configuración experimental que simulaba un estanque poco profundo y además realizó una investigación de campo en el foso eutrófico del castillo de Krapperup (sur de Suecia) que ejemplificaba un ecosistema deteriorado con una amplia densidad de algas filamentosas. El experimento probó tres tratamientos i) concentración de nutrientes, ii) pastoreo de invertebrados herbívoros y iii) adición de hojarasca de *Hordeum vulgare*, que podían constituirse en medidas contra el crecimiento de algas filamentosas, para mejorar la calidad de los servicios ecosistémicos. Los resultados demostraron una disminución en la densidad de cianobacterias y diatomeas en todos los mesocosmos, a medida que aumentaban la biomasa de las algas filamentosas, demostrando que las microalgas sufrieron una competencia de nutrientes y luz con las algas filamentosas. El tratamiento de pastoreo determinó una tendencia a inhibir el crecimiento de algas filamentosas, en macrófitas artificiales, en donde los invertebrados herbívoros (caracoles) se alimentaron inicialmente de diatomeas, hasta agotarse para luego comenzar a consumir algas filamentosas. Mientras que el tratamiento con hojarasca de *Hordeum vulgare* fue el único en promover el crecimiento de macrófitas y diatomeas, esto no afectó a la biomasa de algas filamentosas, sin embargo, la proporción entre algas filamentosas y la biomasa de macrófitas fue significativamente menor en el tratamiento con hojarasca. Lo que demostró que, en un contexto más amplio, es probable que la hojarasca de *Hordeum vulgare* ejerza un efecto positivo en el crecimiento de macrófitas promoviendo un cambio de dominio de las algas filamentosas.

La aplicación de la hojarasca de *Hordeum vulgare* se ha sometido a varias pruebas en diversos ecosistemas continentales desde lagos hasta canales y ríos alrededor del mundo demostrando ser exitoso en muchas de las situaciones planteadas (Ball, Williams, Vincent y Robinson, 2001; Holmes, 2010; Iredale et al., 2012). Por el momento no se conocen efectos desfavorables o indeseables en los ecosistemas

acuáticos donde se ha aplicado, en lugar de ello se han obtenido beneficios secundarios como conservación de peces y anidación “segura” de aves acuáticas y aumento en la productividad de invertebrados (Everall y Lees, 1996). El método de descomposición aerobia con hojarasca de *Hordeum vulgare*, es de bajo costo y ambientalmente aceptable para el control de microalgas, que puede ser aplicado desde pequeños cuerpos de agua (estanques, reservorios o charcas) hasta grandes reservas de agua, embalses, ríos y lagos. A pesar de que puede parecer simple su aplicabilidad, los antecedentes han mostrado que hay un número de reglas básicas, pero de gran importancia que se deben seguir, para asegurar que el método funcione de manera exitosa.

La variabilidad geológica, geográfica y climática que presenta el Ecuador ha dado origen a una amplia diversidad de ecosistemas, entre ellos los ecosistemas acuáticos lénticos, que al igual que el resto de países del mundo los considera de vital importancia ya que proveen de agua, uno de los recursos naturales más primordiales para la vida de los seres vivos (Steinitz, Colimvauk y Kamnan, 1979; Hampel, Cocha y Vimos, 2010). La serranía ecuatoriana se encuentra atravesada por la cordillera de los Andes ubicada en la parte central del país, cuenta con diversos entornos naturales que van desde los glaciares y cuerpos de agua lacustres localizados en las partes más altas hasta los bosques nublados y montanos situados en las estribaciones y zonas montañosas (Salazar, 2015).

La provincia de Imbabura es parte de esta geografía natural y abarca un sin número de ecosistemas, cuerpos de agua y formaciones geológicas. Motivo por el cual ha sido declarada en 2019 por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) como el primer Geoparque mundial del Ecuador. Parte fundamental de este reconocimiento se debe a la orografía y riqueza hídrica de esta zona (Arellano, Arroyo, Carrión y Merizalde, 2019), por lo que entidades públicas y privadas como el Ministerio de Ambiente del Ecuador (MAE), Secretaría Nacional del Agua (SENAGUA), Gobierno Provincial de Imbabura (GPI), Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado (EMAPA-I), consultores, comunidades parroquiales, entre otras

instituciones trabajan continuamente en la conservación, control, manejo y aprovechamiento de este recurso.

La ciudad de Ibarra cuenta con diversas fuentes y cuerpos de agua como es el lago Yahuarcocha, el cual es uno de los ecosistemas acuáticos más importantes de la provincia de Imbabura, ya que provee de servicios ecosistémicos a la zona permitiendo el desarrollo de actividades alrededor del lugar como son: las turísticas por su belleza escénica que atrae a un sin número de visitantes extranjeros y nacionales, el uso recreacional, la gastronomía, los paseos en botes, competencias deportivas y automovilísticas, entre otros (Cabrera, 2015; Van Colen, Portilla, Oña, Wyseure, Goethals, Velarde y Muylaert, 2017). De igual manera en la microcuenca del lago al ser una unidad natural delimitada por divisorias de aguas y definida por drenajes en común en la que existen complejas interacciones tanto bióticas como abióticas, se dan otros tipos de actividades como la ganadería, agricultura y pesca (Cabrera, 2015; Rodríguez, 2006).

El lago Yahuarcocha en los últimos años se ha visto sometido a una creciente e insostenible presión antrópica lo que ha deteriorado su calidad ambiental en el ecosistema (Jácome, Valarezo y Yoo, 2018). Ejemplo de ello es la constante presencia de efluentes de aguas servidas que son descargadas sin un tratamiento previo desde el río Tahuando, quebradas de Manzano Huayco, Polo Golo y San Antonio, sumados también lo de los lugares aledaños como hoteles y viviendas de la zona. Asimismo, la presencia de material orgánico e inorgánico producto del ganado, animales domésticos y cultivos (Maridueña, Chalén, Cajas y Solís, 2011; Salazar, 2015; Revelo, 2017). Todos estos elementos han generado que el nivel de contaminación en este ecosistema sea elevado llegando incluso a la alteración de la funcionalidad ecológica, en particular variando el estado trófico del cuerpo lacustre llegando incluso a la hipereutrófia debido a la excesiva carga de nutrientes vertidos (Portilla, 2015). Paralelamente los niveles de oxígeno disuelto han disminuido favoreciendo al crecimiento desmedido de algas fitoplanctónicas, especialmente cianobacterias, dando como resultado floraciones o “blooms” debido a la fisiología adaptativa de este grupo que a su vez generan cianotoxinas como es el caso de *Microcystis* y *Cylindrospermopsis*. Estos eventos pueden

ocasionar problemas de salud a seres humanos, animales domésticos y ganado, como ejemplo de lo mencionado, es la muerte de peces y aves que dependen de este sistema acuático (Maridueña et al., 2011; Barsanti y Gualtieri, 2006; Salazar, 2015; Caicedo, 2016).

El lago Yahuarcocha por otro lado, se destaca por la representatividad social que desde épocas pasadas mantiene, que de extinguirse o desaparecer se vería afectado, perdiendo así la representatividad que genera, ya que este escenario paisajístico ha sido el encargado de construir una identidad y otorgar un alto valor social a la ciudad de Ibarra. Debido a los sucesos históricos ocurridos en este sitio como la mítica batalla entre Incas y Caranquis en el año 1478, costumbres como la cacería del zorro, gastronomía, competencias deportivas (ciclística, atléticas) y cualidades estéticas, como el entorno pintoresco de los poblados del lugar (Barreno, 2010; Van Colen et al., 2017). Considerándose lo anterior en un geosistema, debido a la interacción de los elementos bióticos, abióticos y socio-económicos que existen en un tiempo y espacio determinados. Por lo tanto, el uso y disfrute de los recursos que provee el lago Yahuarcocha es indispensable ya que contribuye directamente al desarrollo económico de la población ibarreña, por lo que es esencial encontrar un balance equilibrado entre las necesidades de la personas y el mantenimiento de la biota que proveen de servicios ecosistémicos importantes y hasta esenciales para la vida (Castillo, 2010; Gobierno Autónomo Decentralizado de Antonio Ante, 2012).

Por estos y otros motivos se hace indispensable estudios acerca del control de microalgas en especial cianobacterias en ecosistemas lacustres como es el lago de Yahuarcocha, con la finalidad de controlar los blooms de poblaciones fitoplanctónicas y conseguir recuperar la funcionalidad del ecosistema. Por ende evitar posibles afectaciones y enfermedades hacia la población que se beneficia del uso y disfrute de este ecosistema acuático.

De acuerdo a lo estipulado anteriormente, fue de vital importancia la realización de esta investigación donde a través de un bioensayo de laboratorio se evaluó la capacidad de inhibición de las microalgas, especialmente cianobacterias, a través de la descomposición de la hoja de cebada *Hordeum vulgare*, basándose en

estudios realizados en otros sitios y que probaron ser exitosos en sus ambientes (Everall y Lees, 1996; Butler et al., 2005; Holmes, 2010). A su vez incentivar la producción y cultivo sostenible de la cebada en la zona norte de Ecuador y el uso y aprovechamiento eficiente de los residuos generados de la cebada, producto de la cosecha debido a que en muchos de los casos este material es desperdiciado y mal aprovechado.

Este estudio se realizó gracias al convenio establecido entre la Universidad Católica de Lovaina VLIR-UOS y la Universidad Técnica del Norte mediante el proyecto “Manejo sostenible de los lagos del norte del Ecuador bajo las crecientes actividades económicas y el cambio climático” donde su finalidad es proteger y conservar los ecosistemas acuáticos a través de la investigación científica, técnica y aplicada.

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo general**

Evaluar la capacidad de inhibición de la hojarasca de ceiba *Hordeum vulgare* en poblaciones fitoplanctónicas (especialmente cianobacterias) del lago Yahuarcocha, Provincia de Imbabura

### **1.2.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar taxonómicamente las especies de microalgas, especialmente cianobacterias, presentes en agua del lago Yahuarcocha.
- Analizar la capacidad de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* en limnocorrales.
- Relacionar la incidencia de las variables físico-químicas del agua del lago Yahuarcocha, en la eficiencia de inhibición de la hojarasca de cebada *Hordeum vulgare* sobre el fitoplancton, especialmente cianobacterias.

## **1.3 Hipótesis de la investigación**

Para la investigación del proyecto se planteó las siguientes hipótesis.

### **Hipótesis Experimental**

La introducción de hojarasca de cebada *Hordeum vulgare* en limnocorrales con agua del lago Yahuarcocha, inhibe el crecimiento del fitoplancton, especialmente cianobacterias.

### **Hipótesis Nula**

La introducción de hojarasca de cebada *Hordeum vulgare* en limnocorrales con agua del lago Yahuarcocha, no inhibe el crecimiento de fitoplancton, especialmente cianobacterias.

## **CAPITULO II**

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

#### **2.1 Marco teórico referencial**

En esta sección se hace mención de los libros, artículos científicos, documentos técnicos, revistas e investigaciones referentes a los ecosistemas acuáticos lénticos, fitoplancton y métodos de control de floraciones fitoplanctónicas, entre otras variables relacionadas con el estudio realizado que permitieron brindar sustento e interpretación de los resultados obtenidos.

##### **2.1.1 Lagos altoandinos**

Los lagos altoandinos son ecosistemas acuáticos muy particulares y se encuentran distribuidos principalmente en Colombia, Ecuador y el norte del Perú (Gunkel, 2003). Los estudios desarrollados en este tipo de ecosistemas son escasos, siendo la mayor parte de investigaciones limnológicas realizadas en zonas templadas (Casallas y Gunkel, 2001). Actualmente se conoce poco sobre este tipo de lagos, por lo que es indispensable la investigación, el manejo adecuado y la conservación de estos ecosistemas.

Una de las características de estos lagos es que pertenecen a zonas tropicales, las cuales presentan poca variación de temperatura durante todo el año, donde las variaciones están determinadas de acuerdo a la altura sobre el nivel del mar (m.s.n.m.), generando pisos térmicos con rangos de temperatura estable (Casallas y Gunkel, 2001). El gradiente térmico vertical en ocasiones determina las estratificaciones térmicas en los lagos de esta zona, que también se ven modificadas por las variaciones de temperatura entre el día y la noche, ocasionando que las masas de agua tiendan a mezclarse en su totalidad como consecuencia del efecto del viento denominándose a este fenómeno polimixis (Wetzel, 1981). A diferencia de los lagos de las zonas templadas que presentan un ciclo de circulación y estratificación térmica de acuerdo a las estaciones, siendo en verano donde se separa la parte superior caliente (epilimnion) de la parte inferior fría (hipolimnion), formándose el proceso denominado “termoclina” debido a un

cambio brusco de temperatura en la columna de agua (Bécares, Conty, Rodríguez, y Blanco, 2004).

Los lagos tropicales de regiones ecuatoriales se encuentran establecidos entre los 2000 y 4000 m.s.n.m y han sido categorizados como lagos oligotérmicos (no se estratifican) por las condiciones climáticas y la altitud que presentan. En ocasiones, nombrados como polimícticos fríos debido a la capacidad de mezclarse constantemente haciendo que la termoclina desaparezca (Hutchinson y Loffler, 1956; Wetzel, 1981; Roldán y Ramírez, 2008). La temperatura de estos lagos presentan valores más bajo a los 20°C, su saturación de oxígeno disuelto (OD) suele estar por debajo de 70 mg/l y tienen una profundidad generalmente mayor que los lagos templado (Casallas y Gunkel, 2001).

Los lagos de alta montaña del Ecuador se encuentran en altitudes por encima de los 3000 m.s.n.m y la mayoría son de origen glaciar. Los lagos altoandinos (también llamados lagos de páramo) raramente pueden alcanzar 12°C y su mínima temperatura puede llegar casi al congelamiento entre 1-2°C. El pH puede ser muy ácido con valor de 4 al amanecer y neutro o incluso alcalino en las tardes en días soleados. En contraste, con los lagos del páramo, los lagos interandinos se ubican entre los 2000 y 3000 m.s.n.m, siendo usualmente ricos en nutrientes y con temperaturas alrededor de los 17°C (Steinitz, 1997).

En lagos de los Andes ecuatorianos existe también una amplia diversidad de microalgas. Como muestra de ello, es la identificación de cerca de 106 especies de diatomeas, encontradas en un mismo lago (Surucucho ubicado en el Parque Nacional Cajas) y un total de 750 taxas diferentes de diatomeas. En áreas poco profundas se pueden observar macrófitas (*Myriophyllum*, *Ceratophyllum*, *Potamogeton*). Así también existe gran variedad de peces, aves y mamíferos que dependen del alimento que les proveen la vida acuática. La ictiofauna característica de estos lagos es la *Astroblepus ubidiai* (preñadilla) en Imbabura singularmente (Morán, Mendoza, y Guerrero, 2018) y se han introducido peces exóticos en los lagos Andinos del Ecuador como es el caso de las “truchas” (*Salmo trutta* y *S. gairdneri*) (Steinitz, 1997).

### **2.1.2 Poblaciones fitoplanctónicas**

El fitoplancton es uno de los organismos más antiguos de nuestro planeta, su existencia ha desempeñado un papel importante en la configuración biogeoquímica de la tierra, registrado desde el comienzo de la civilización (Falkowski, Laws, Barber y Murray, 2003), aproximadamente en el precámbrico, hace más de 3.5 millones de años (UNESCO, 2009). El fitoplancton, con el proceso de la fotosíntesis cumplió un rol significativo en la generación de oxígeno para la atmósfera terrestre. En el transcurso del tiempo las poblaciones fitoplanctónicas fueron evolucionando y se adaptaron a las diferentes condiciones biogeoquímicas que presentaba el planeta, convirtiéndose en el pilar fundamental para el desarrollo de todas las formas de vida (UNESCO, 2009).

Hensen en 1887 fue el primero en utilizar el término fitoplancton para denominar a todas las partículas organogénicas, que representaban el primer eslabón de la cadena trófica. Posteriormente, surgió el término microalga ligado a la aparición de la biotecnología, para referirse a aquellos microorganismos que contienen clorofila y varios pigmentos fotosintéticos, con la capacidad de realizar fotosíntesis (Gómez, 2007).

Las microalgas son organismos microscópicos que viven suspendidos en el agua, debido a que carecen de movimiento o es limitado. Están formados por algunos grupos de algas, bacterias, actinomicetos y hongos. Los grupos más abundantes de flora en agua dulce corresponden a las algas verdes coloniales, desmidiáceas, algas verde-azuladas filamentosas, coloniales y crisofitas coloniales (Apolo y Gallo, 2012). Las microalgas han desarrollado mecanismos de flotación, evitando su sedimentación, y su crecimiento está limitado bajo diferentes condiciones ambientales como es la temperatura, salinidad y disponibilidad de nutrientes como el fósforo y el nitrógeno (López, Manzano, Hurtado, Piña, Ubisha, Guzón y Hernández, 2016).

En condiciones favorables de nutrición, el fitoplancton puede tener un crecimiento desmesurado o los denominados “blooms”, refiriéndose a este fenómeno como la acumulación de algas en la parte superficial de los lagos, reservorios u otra clase

de cuerpos de agua. Si las aguas presentan altas concentraciones de nutrientes, permiten la formación de densas poblaciones de microalgas, principalmente provocadas por cianobacterias unicelulares, agregados coloniales y filamentosas. Sumado a que muchas de ellas son generadoras de toxinas constituyéndose en un peligro para aquellos que utilizan o consumen estas aguas (Gallo y Apolo, 2012).

- **Eutrofización**

La eutrofización fue reconocida como un problema de contaminación en distintos lagos y embalses de Europa Occidental y de América del Norte a mediados del siglo XX a partir de ese entonces se ha generalizado este término en algunas regiones. La eutrofización causa un grave deterioro al ambiente acuático y problemas en la utilización del agua, en especial en tratamiento del agua potable, también afecta a ríos cuyo flujo es lento y de pendiente plana (Christoffersen y Kaas, 2000).

La aparición de la eutrofización está asociada a las actividades humanas, en particular la agricultura intensificada, ganadería y vertimiento de efluentes de industrias sin un tratamiento previo. El incremento drástico de la entrada de nitrógeno (N) y fósforo (P) en los ecosistemas acuáticos promueve la proliferación de algas y cianobacterias. Razón por la cual en algunos países (Australia, Canadá, Suecia, Estados Unidos, entre otros) se han implementado medidas para reducir los aportes de nutrientes, mejorando así la calidad del agua y controlando las floraciones dañinas (Christoffersen y Kaas, 2000; Huisman, Codd, Paerl, Ibelings, Verspagen y Visser, 2018).

El uso global de fertilizantes y otros químicos ha permitido que el nitrógeno (N) y el fósforo (P) aumenten en lagos, ríos y aguas costeras, donde una porción de estos nutrientes puede cambiar la composición del fitoplancton aumentando en particular las poblaciones de cianobacterias no fijadoras de nitrógeno como *Microcystis* y *Planktothrix* que producen cianotoxinas potentes. El fósforo (P) es uno de los principales reguladores del crecimiento primario de cianobacterias y cambios genotípicos, que se encuentran estrechamente ligados con la temperatura del agua; significando la eutrofización y aparición de floraciones (Jöhnk,

Huisman, Sharples, Sommeijer, Visser y Stroom§, 2008; Rastogi et al., 2015; Huisman et al., 2018).

- **Blooms o Floraciones de Cianobacterias**

Las cianobacterias o algas verde-azules pertenecientes a la división Cyanophyta, son organismos procariotas y se caracterizan por no presentar orgánulos unidos a la membrana, incluido los cloroplastos, son consideradas bacterias fotosintéticas. Estos organismos son capaces de adaptarse a ambientes extremos de temperatura, salinidad, pH, disponibilidad de nutrientes e inclusive a condiciones anóxicas. A pesar de no ser algas se le ha dado dicha denominación debido a su coloración verde-azul, pigmento generado por la ficocianina, enmascarando la pigmentación verde ubicua (clorofila *a*) y otros pigmentos como carotenoides, xantofilas y ficoeritrina. Las cianobacterias habitan en distintos ecosistemas de agua dulce, ricos en nutrientes y pueden crecer de manera desmesurada bajo ciertas condiciones ambientales, aumentando su biomasa significativamente (floración) en la superficie de aguas continentales (Sheath y Wehr, 2003).

Los factores que desencadenan los blooms son varios y actúan de forma combinada, las floraciones están conformadas por una o diferentes especies y puede perdurar desde pocas horas hasta días, meses, años o de forma permanente dependiendo de las condiciones ambientales y estas pueden desaparecer en plazos iguales. Los blooms pueden ser evidentes por la coloración verde y turbidez que es característico en el cuerpo de agua afectado (UNESCO, 2009).

Los blooms no son un fenómeno nuevo y se evidencia sus primeros orígenes en lagos de Europa central (lago Zürich) con floraciones de *Planktothrix rubescens* tiñendo el lago de rojo originando un mito en el lugar acerca de los soldados caídos en la batalla de Burgundy (UNESCO, 2009). Los blooms pueden formar densas floraciones de microalgas en lagos o estanques con condiciones eutróficas para su desarrollo. La eutrofización está definida como una marcada decoloración visible en el agua que es causada por cianobacterias predominantes como: *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Planktothrix* y *Trichodesmium*, que causan problemas al incrementan la turbiedad

del agua afectando la calidad de la misma (Gallo y Apolo, 2012; Huisman et al., 2018).

Otro problema que ocasiona el bloom de cianobacterias, es la pérdida de la vegetación acuática sumergida, debido a la falta de luz solar y a la disminución de oxígeno por consecuencia de la degradación microbiana producida. También puede provocar hipoxia y anoxia, causando la muerte de peces e invertebrados bentónicos y emite mal olor debido a los compuestos que contienen, interfiriendo con las actividades recreativas de los lagos, embalses, reservorios, entre otros (Welch et al., 1990; Jöhnk et al., 2008).

Recientemente se ha reconocido la presencia de las cianobacterias, como un problema para la salud humana debido a la gama de toxinas que presentan. Pueden causar enfermedades digestivas, neurológicas y cutáneas por estar en contacto con agua contaminada (Christoffersen y Kaas, 2000). Además, la eutrofización incrementa los niveles de CO<sub>2</sub> favoreciendo a la aparición de blooms con mayor frecuencia, intensidad y duración en muchos ecosistemas acuáticos (Huisman et al., 2018). El cambio climático es otro causante de las floraciones cianobacterianas debido a los cambios en los gradientes de temperatura del aire y agua, así como el aumento de precipitaciones de nutrientes afectando de este modo a la formación de floraciones y producción de diferentes cianotoxinas (Rastogi et al., 2015). Otra causa que favorece a los blooms, son las características fisiológicas que presentan las cianobacterias como son: i) la capacidad de fijar nitrógeno por parte de algunas microalgas (*Cylindrospermopsis*, *Anabaena* y *Microcystis*), ii) la presencia de vesículas de gas que proporcionan flotabilidad permitiendo que se desarrollen, debido a que las células están expuestas a altas cantidades de luz y radiación ultra violeta en la superficie, iii) producción de cianotoxinas como elemento disuasorio contra el pastoreo que realizan metazoos, copépodos, cladóceros, entre otros (Kotov y Pavel, 2006).

El florecimiento de cianobacterias puede ser comprobado por la estimación indirecta de la biomasa de las comunidades fitoplanctónicas, a través de la concentración de clorofila-*a*, ya que es uno de los principales pigmentos fotosintéticos que están presentes en las microalgas, que es también un indicador

de contaminación en ecosistemas y determina el estado ficológico del fitoplancton (Rivera, Zapata, Pinnilla, Donato, Chaparro y Jiménez, 2005).

La estimación de la clorofila tiene diferentes métodos, procedimientos y modelos matemáticos como son: i) el método cromatográfico, que es exacto pero debido a su elevado costo es limitada su utilización, ii) el método espectrofotométrico, cuyos resultados pueden estar sesgados por el estado químico de la clorofila, pero a diferencia del método cromatográfico es menos costoso y más asequible para los laboratorios de análisis de agua (Rivera et al., 2005), iii) las mediciones radiométrica espectrales que es comúnmente utilizado para estimar la clorofila-*a* (Nahorniak, Abbott, Letelier y Pegau, 2001) y finalmente iv) el método fluorométrico que es el más preciso para medir a la clorofila-*a* en comparación con el espectrofotométrico, ya que no se ve influenciado por la presencia de feopigmentos y clorofila-*b* en el análisis de las muestras. En la cuantificación de la clorofila es necesario la utilización de varios solventes (acetona, metanol, etanol entre otros) y la aplicación de modelos matemáticos como monodi y tricómicas que usan para su cálculo las longitudes de onda (Rivera et al., 2005; Vitta, Fernández y Pilar, 2009).

El análisis de fluorescencia de la clorofila permite una medición no invasiva, casi de forma instantánea de los aspectos clave de la captura de luz fotosintética y transporte de electrones. Para muestras naturales, las señales de fluorescencia son propias de especies fotobiontes y permite la medición in situ de poblaciones naturales mixtas, pequeñas o diluidas. En las cianobacterias las señales de fluorescencia proporcionan información breve y en tiempo real sobre la fotosíntesis y el estado general de aclimatación de las algas verde-azules (Campbell, Hurry, Clarke, Gustafsson, y Oquist, 1998).

### **2.1.3 Lago Yahuarcocha**

El lago Yahuarcocha es un ecosistema acuático producto de fenómenos tectónicos, glaciares y volcánicos, con una disposición morfológica en forma de “U” cuyo ecosistema fue abastecido con aguas procedentes de deshielo y lluvias de hace más de 1200 años a finales del pleistoceno e inicios del holoceno. Este

lago es conocido por los estudiosos por sus altos niveles de nutrientes lo que ha provocado un cambio considerable en su estado trófico a través del tiempo (Miller, Kannan y Colinvaux, 1984) hasta la actualidad. Ya que se ha visto expuesto a alteraciones en la producción y reducción en los procesos de auto recuperación desde la década de los 70 debido a la presión ejercida por actividades antrópicas, falta de manejo y control de los recursos que conforman el lago Yahuarcocha (Ochoa, 2017).

La aparición de crecimientos masivos de fitoplancton en Yahuarcocha se registra desde hace algunas décadas. Donde *Euglena sanguínea*, especie típica de ecosistemas acuáticos productivos, se encontraba en zonas cercanas a las orillas dándole un color rojizo al agua, considerándose en ese tiempo un lago eutrófico, aunque muy especial debido a las características particulares y diversidad de fitoplancton que presentaba (Steinitz, 1979). Años más tarde se asevera que las comunidades más representativas de microalgas corresponden al grupo de Bacillariophyta, seguido por las Chlorophyta y Cianophyta como resultado de la disponibilidad de nutrientes, principalmente, fósforo y nitrógeno inorgánico a causa de la abundante vegetación acuática y actividades humanas que se desempeñan en el área (cultivos, desechos domésticos, ganadería, entre otros) (Maridueña et al., 2011). Posterior a ello se estableció que el filo más dominante fue el de las Chlorophytas, debido a la cantidad de nutrientes (nitrógeno y fosforo) derivados principalmente por la actividad agrícola (Mandonx, 2014).

Todas las actividades antrópicas que se desarrollan en el lago han ocasionado un excedente de nutrientes en el cuerpo de agua generando un proceso de eutrofización más acelerado, con tendencias a la hipereutrofia (Jácome, 2014; Portilla, 2015). Este proceso ha provocado una reacción en cadena sobre el ecosistema, provocando efectos como la disminución en las concentraciones de oxígeno disuelto, lo que ha generado la aparición de microalgas, principalmente de cianobacterias que producen agentes tóxicos (Caicedo, 2016). Posteriormente a la aparición de blooms o floraciones en el agua del lago, se han registrado muertes masiva de peces y otros organismos acuáticos, cambios de coloración en el agua, pérdida de la funcionalidad ecológica y disminución de la calidad físico-química y

microbiológica del agua; afectando finalmente la salud de la población humana que hace uso directo e indirecto de este lago (Maridueña et al., 2011; Gobierno Autónomo Decentralizado de Imbabura, 2015).

En el año 2016 se evaluó la dinámica poblacional del fitoplancton con relación a las características físico-químicas del lago. Identificando alrededor de 42 géneros de microalgas siendo el género *Cylindrospermopsis* el más abundante seguido por el género *Fragilaria*. También se evidenció cambios espaciales en las comunidades fitoplanctónicas, mostrando el dominio de las cianobacterias, las cuales se encontraban relacionadas con la turbidez del agua (Caicedo, 2016).

Después de un año se analizó el crecimiento de cianobacterias en relación a los parámetros físico- químicos del agua del lago, donde los géneros identificados fueron *Coelosphaerium*, *Anabaenopsis*, *Dolichospermum*, *Pseudanabaena* y las especies *Microcystis smithii*, *Geitlerinema splendidum*, *Chroococcus limneticus*, *Merismopedia punctata*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Sphaerocavum brasiliense*, determinando que su abundancia se relaciona a los parámetros fisicoquímicos como son la temperatura, el pH, conductividad, oxígeno disuelto y nutrientes que interfieren con el crecimiento de cianobacterias, siendo la época lluviosa (mes abril) influenciada por la entrada de fósforo y la época seca (mes agosto) por el nitrógeno. Este análisis concluyó que los géneros *Microcystis*, *Sphaerocavum* y *Coelosphaerium* crecen en gran número en la época seca e identificó dos géneros potencialmente productores de cianotoxinas *Microcystis* y *Cylindrospermopsis* donde se recomendó el manejo y control del género más abundante en el lago (*Cylindrospermopsis raciborskii*), mediante la utilización de un método físico-mecánico a través de ondas de ultrasonido (Ochoa, 2017).

#### **2.1.4 Tecnologías y métodos de control de blooms de microalgas y cianobacterias**

Los blooms de organismos de fitoplancton, en particular las cianobacterias, representan un importante problema económico, ecológico y social. El incremento de la biomasa puede generar problemas estéticos, de salubridad y de cambios en la composición y dinámica en los ecosistemas acuáticos. Debido a estos problemas

los blooms de microalgas han sido los más estudiados con la finalidad de resolver los problemas asociados, generando métodos de control de proliferaciones en aguas continentales (Cobo, 2015) como son (Figura 1):

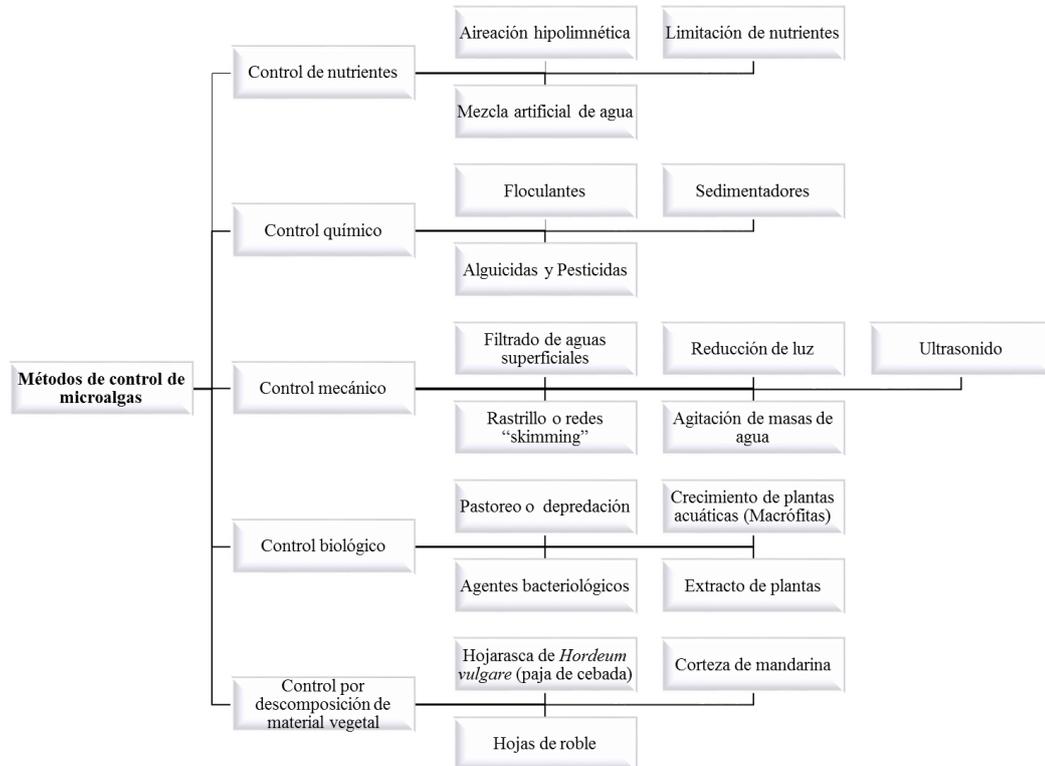


Figura 1. Métodos de control de microalgas en ecosistemas acuáticos

- **Método de control de nutrientes**

Método clásico de control de la eutrofización, el cual abarca ciertas estrategias para reducir la cantidad de nutrientes como el fósforo (P) y el nitrógeno (N) que mitigen los blooms, a través de mecanismos de absorción, aireación hipolimnética, precipitación o mediante técnicas lagunares, las cuales controlan la

sedimentación o eliminan las capas superficiales de sedimento para reducir los nutrientes en lagos o embalses (Osgood, 2012; Cobo, 2015).

La aireación hipolimética se ha utilizado en Australia para tratar la anoxia en ríos poco profundos con el objetivo de reducir nutrientes como el hierro (Fe) y manganeso (Mn). Esta técnica consiste en inyectar aire u oxígeno puro en la capa profunda (hipolimnion) con la finalidad de incrementar la concentración de oxígeno disuelto adyacente a los sedimentos, para reducir la liberación de fósforo (P), amoníaco (NH<sub>3</sub>), hierro (Fe) y manganeso (Mn) (Newcombe, House, Ho, Baker y Burch, 2010).

La mezcla artificial es otra técnica que suprime el blooms de microalgas (blooms de cianobacterias) mediante el incremento del flujo de agua, diseñado para funcionar con energía solar y lograr crear una circulación de agua a larga distancia del epilimnion para suprimir los blooms, el cual puede ocasionar alteraciones en el hábitat (Rastogi et al., 2015). Una aplicación de esta técnica consistió en la construcción de tuberías flexibles cercanas al sedimento, de manera que evite la erosión del sedimento y el transporte al agua. Tuvo éxito en controlar el blooms de la cianobacteria *Microcystis* en el lago hipertrófico Nieuwe Mee, donde durante 2 años de mezcla artificial profunda de la cantidad de colonias de *Microcystis* por litro y también por m<sup>2</sup> fue menor que en los dos años de control anteriores (Visser, Ibelings, Van Der Veer, Koedood§ y Mur, 1996).

- **Método químico de control**

Los blooms de cianobacterias pueden ser controlados usando algunos químicos como es el caso de los alguicidas, inhibidores y floculantes. Sin embargo, el uso de estos productos puede recontaminar los cuerpos de agua. El uso de ciertos pigmentos reduce significativamente la disponibilidad de luz, evitando el crecimiento de algas nocivas, no obstante esta propuesta puede afectar al crecimiento de otras algas beneficiosas, macroinvertebrados, peces, zooplancton, influyendo así inapropiadamente en los ecosistemas. Otro ejemplo de esto son las bases de aluminio o de otros metales como el hierro (Fe) y cobre (Cu) también usados para remover el bloom de algas (Rastogi, Madamwar y Incharoensakdi,

2015), como es la inserción de hierro para controlar el crecimiento del fitoplancton y la composición de las poblaciones, en aguas polares del Océano Austral durante la época de verano (Boyd et al., 2000).

Algunos productos químicos utilizados para el control de blooms (dibromuro de diquat, permanganato de potasio, cloro y simazina) producen efectos negativos como el incremento de fitotoxinas, aumentando los riesgos potenciales para la salud humana. Mientras que el tratamiento con cal y alumbre para el control de brotes de cianobacterias contrasta a los tratamientos con alguicidas, ya que provoca la coagulación y sedimentación sin ningún incremento de cal en el agua tratada, en ciertos casos ha provocado ligeros incrementos al disolverse en el agua (Lam, Prepas, Spink y Hrudey, 1995).

- **Métodos de control Mecánico**

El método mecánico que con mayor frecuencia se ha tratado de implementar es el filtrado de aguas superficiales o la eliminación de fitoplancton con el uso de rastrillos o redes (skimming), pero a menudo no elimina todas las algas, por lo tanto lo único que genera es retrasar el problema a costa de una perturbación masiva del sistema (Daniel Murray, 2009). Se han realizado ensayos en donde se buscaba reducir la disponibilidad de luz, generando sombra con láminas de plástico, alternando a la actividad metabólica, pero en general no han tenido éxito en el control de poblaciones de microalgas a gran escala (Daniel Murray, 2009). Se ha procedido a la agitación de las masas de agua, usando bombas o rotores para impulsar su mezclado, lo cual evita la estabilización cianobacteriana, este procedimiento se realiza dependiendo de las características que presenta el agua (Cobo, 2015). Otra alternativa viable para el control de algas es la utilización de ultrasonido que rompe las vesículas de gas especialmente de la división Cyanophyta debido a la morfología, la aplicación de esta metodología podría tener repercusiones como es la liberación de microcistina en el medio aumentando de esta forma la toxicidad del lugar (Kieffer et al., 2015; Ochoa, 2017).

- **Métodos de control biológico**

Este método utiliza tanto organismos y sus derivados, como materiales y sustancias naturales extraídas. Así como también regula la alimentación alterando la fisiología normal. Muestra de esto es la depredación o pastoreo que realizan organismos como el gasterópodo *Radix swinhoei* que puede ingerir cianobacterias y sobrevivir bien sin pérdida de fecundidad en los reservorios de agua con floraciones de cianobacterias (Rastogi et al., 2015).

- **Bacterias**

La utilización de agentes bacterianos como métodos de control biológico es una alternativa para tener en cuenta. Por ejemplo, el efecto del perifiton que comprende una gama de organismos autótrofos y heterótrofos que crecen en superficies sumergidas en ambientes acuáticos, donde sus resultados mostraron que el perifito, junto con sus simbioses, redujo las concentraciones de clorofila-*a* (hasta un 94%), mejorando la claridad del agua y controlando eficazmente las floraciones de cianobacterias. Las composiciones bacterianas planctónicas variaron enormemente en los períodos previos a la floración, en la floración y post floración (Cui et al., 2017).

- **Macrófitas**

En los lagos y humedales se ha incentivado el crecimiento de plantas acuáticas ya que compiten por la disponibilidad de nutrientes con el fitoplancton, disminuyendo el crecimiento fitoplanctónico, siendo las macrófitas las que absorben los nutrientes del agua y del sedimento (Cooke, Welch, Peterson y Nichols, 2005).

- **Extractos de plantas**

Los extractos de plantas como son los aceites o aloes esenciales se han obtenido de diferentes especies como: alfazema (*Lavandula* sp.), alergrim (*Rosmarinus officinalis*), entre otros. Parecen tener efecto negativo en el desarrollo de fitoplancton, siendo los compuestos y extractos de esta naturaleza un tema de

investigación, con la finalidad de encontrar propiedades alguicidas en diferentes plantas (Barros, Geraldés y Conceição, 2015).

- **Método de control por descomposición aerobia de material vegetal**

En la década de los 80, donde uno de los agricultores mencionó por primera vez, que su añadidura accidental de heno redujo el crecimiento de microalgas, atrayendo el interés de muchos investigadores y después de estudios previos se prefirió la hojarasca de cebada *Hordeum vulgare* por presentar un bajo contenido de fósforo a diferencia del heno (Welch et al., 1990). La utilización de la hojarasca de cebada debido a su accionar inhibidor está relacionado con la descomposición de su material vegetal en el agua de los lagos. También el uso de otros materiales naturales como es el caso de la hojarasca para la reducir el crecimiento de microalgas dañinas (Pęczuła, 2012).

Este método depende de la capacidad de generar inhibidores durante el proceso de descomposición aeróbica en el agua. Pero la naturaleza química de estos inhibidores aún es desconocida, por el momento existen evidencias circunstanciales que se derivan de los polifenólicos oxidados que se generan a partir de la lignina, un biopolímero que forma la pared celular de muchas células vegetales. Las condiciones de oxidación son esenciales para la actividad inhibidora, y al ser estos inestables, es necesario la presencia de residuos en forma de partículas para mantener la actividad o accionar inhibidor de las algas (Ridge, Walters y Street, 1999).

Por este motivo se han planteado varias alternativas con otra clase de materiales vegetales que contengan alto contenido de lignina los cuales difieren en función de la especie, hábitat y partes del vegetal aprovechado, a los que se les atribuye la capacidad de inhibir el crecimiento de cianobacterias. Las hojas de robles (*Quercus robur*) es una muestra de lo mencionado y ha sido empleada de forma particular en Europa para suprimir el crecimiento de *Chlorella* y *Microcystis*. Presenciando un efecto a corto plazo, entre 4 a 90 días, por la presencia de taninos oxidados liberados en el inicio del proceso de descomposición y un efecto a largo plazo pero con un accionar inestable de los inhibidores asociados a la materia

orgánica en partículas finas, derivado de la descomposición oxidativa de la lignina (Ridge et al., 1999).

Por otro lado, se han realizado estudios de los efectos de inhibición de la piel de mandarina batangas (*Citrus reticulata*) y la cáscara del plátano enano (*Musa cavendishii*) en *Microcystis aeruginosa*. En ensayos de laboratorio, se observó que el crecimiento de algas se inhibió mediante la adición de extracto de piel de mandarina en un (0.1% peso/volumen). Cuando se incrementó la concentración aumentó a 0.5% (p/v), no se detectó crecimiento de algas. Mientras que el extracto de la cáscara del plátano tuvo menor efecto (0.5% p/v) siendo la piel de la mandarina más eficaz en actividad anti-algal, por presentar mayor contenido de fenoles totales y taninos (Chen, Liu, Ren, Li y Jiang, 2004).

Las investigaciones llevadas a cabo con material vegetal han demostrado ser una medida a corto plazo para reducir el crecimiento de algas. Sin embargo, la hojarasca de *Hordeum vulgare* se ha usado ampliamente, convirtiéndose de esta manera una opción confiable. Los detalles de su aplicación están bien establecidos y descritos. Además ha funcionado en reservorios de tamaño mediano como en lagos y lagunas pequeñas, no ha presentado efectos adversos en la vida silvestre o la calidad del agua y ha facilitado el cambio de la dominancia de algas macrófitas (Barrett, Curnow y Littlejohn, 1996; Everall y Lees, 1996).

## **2.2 Marco legal**

- **Constitución de la República del Ecuador**

Esta investigación se fundamentó en el marco legal de Constitución de la República del Ecuador dentro del Título II Derechos, Título V Organización territorial del estado, Título VI Régimen de desarrollo, Título VII Régimen del buen vivir y Título VIII de Relaciones internacionales. Enmarcando que el derecho humano al agua es fundamental e irrenunciable siendo el agua patrimonio nacional estratégico de uso público y esencial para la vida, además se considera al agua un recurso inalienable, imprescindible e inembargable y reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado “sumak kawsay”, además se menciona que el agua es elemento vital para la naturaleza| y

existencia de los humanos en donde el estado garantizará la conservación, recuperación y manejo integral de los recursos hídricos y regulará toda actividad que pudiera afectar a la calidad y cantidad del agua y el equilibrio en los ecosistemas, así también prohíbe cualquier forma de privatización del agua.

- **Convenios Internacionales**

Convención sobre Diversidad Biológica: la conservación de la diversidad biológica, la utilización sostenible de sus componentes y la participación justa y equitativa en los beneficios que se deriven de la utilización de los recursos genéticos. Su objetivo general es promover medidas que conduzcan a un futuro sostenible.

- **Código Orgánico de Organización Territorial Autonomía Descentralización (COOTAD)**

En Título V de Descentralización y Sistema Nacional de competencias, comprende a la ejecución de políticas, normativa regional, la planificación hídrica con participación de la ciudadanía por parte de los gobiernos autónomos descentralizados regionales, siendo de principal atención el Art. 136 donde “ Los gobiernos autónomos descentralizados municipales establecerán, en forma progresiva, sistemas de gestión integral de desechos, a fin de eliminar los vertidos contaminantes en ríos, lagos, lagunas, quebradas, esteros o mar, aguas residuales provenientes de redes de alcantarillado, público o privado, así como eliminar el vertido en redes de alcantarillado” así como también promover actividades de preservación de la biodiversidad y protección del ambiente, para lo cual se implementarán programas o proyectos de manejo sustentable de ecosistemas frágiles y la protección de fuentes y cursos de agua. Únicamente se podrán realizar obras de regeneración, mejoramiento, recreación, deportivas y de protección de los ríos y lechos de ríos en lagunas y lagos, sin alterar los cursos de agua o causar daños los cual se estipula en el Art.432.

- **Código Orgánico del Ambiente (COA)**

El Código Orgánico del Ambiente, en el Libro Primero de Régimen Institucional, establece el control del cumplimiento de los parámetros ambientales y la aplicación de normas técnicas del componente agua, suelo, aire y ruido. En tanto en el Libro Segundo del Patrimonio Natural menciona la ejecución de normas de bioseguridad para la conservación, uso sostenible y restauración de la biodiversidad como sus componentes, así como la prevención de contaminación, pérdida y degradación de los ecosistemas acuáticos, mediante la adopción de un enfoque integral considerando a los aspectos sociales, económicos y ambientales.

En el Libro Tercero de la Calidad Ambiental hace referencia a la realización de monitoreos y seguimientos de la calidad del aire, agua y suelo por parte de las instituciones competentes, además promover y fomentar la generación de información, así como la investigación sobre la contaminación a los cuerpos hídricos con la finalidad de determinar sus causas, efectos y alternativas para su reducción. En el caso de aguas residuales los Gobiernos Autónomos y Municipios deberán hacer la el tratamiento de estas aguas de modo que no perjudiquen las fuentes receptoras, suelo o vida silvestre.

- **Ley Orgánica de Recursos Hídricos, Usos y Aprovechamiento del Agua**

Esta Ley dispone a las aguas de río, lagos, lagunas, manantiales, perennes o estacionales u otras fuentes de agua son bienes nacionales de uso público, están fuera del comercio y su dominio no son susceptibles de posesión o apropiación, donde tiene como objeto garantizar el derecho humano del agua, así como también regular y controlar la autorización, gestión, preservación, conservación y restauración de los recursos hídricos, así como también el uso y aprovechamiento, gestión integral y su recuperación, en sus distintas fases, formas y estados físicos, los cual se encuentra establecido en los Art.1, Art. 3, Art. 57, Art. 64, Art. 65. De igual manera preservar la calidad y cantidad del agua y control de actividades que puedan causar degradación del agua y de los ecosistemas acuáticos, mediante prohibiciones y control de vertidos, con ayuda de la participación y veeduría ciudadana, referido en los Art 79, Art. 80 y Art. 82.

- **Reglamento Ley Recursos Hídricos usos y Aprovechamiento del Agua**

Es de dominio público hídrico natural y artificial, en el caso de aguas superficiales como son los ríos, lagos y lagunas, humedales, nevados, glaciares y caídas naturales, la Autoridad Única del agua emitirá normativa técnica de delimitación de estas, la extensión estará determinada por el terreno que sea cubierto por agua en el caso de los lagos, lagunas y embalse es el terreno que ocupan sus aguas en épocas que alcance su mayor nivel y emitirán criterios técnicos de protección y delimitación de uso público, zonas de restricción, establecidos en los Art. 54, Art. 55, Art. 57, Art. 59 y Art. 61. En el caso de protección hídrica, se conforma por los cauces y ecosistemas asociados, en dichas zonas se considera el uso del suelo y actividades que se desarrollan establecidos en los Art.63, Arte.64 y Art.65

- **Registro Oficial N° 387**

Este registro oficial presenta la reforma al Texto Unificado de Legislación Secundaria Ambiental 097-A, que establece la norma técnica vigente sobre la calidad ambiental del recurso agua y descargas de efluentes. Presentado en la tabla 2 y tabla 2a que menciona los criterios de calidad para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces, marinas y estuarios. Así como también la calidad de amoníaco (NH<sub>3</sub>) y parámetros indicados en esta norma como la turbiedad.

- **Plan Nacional de Desarrollo “Toda Una Vida 2017 -2021”**

El Plan Nacional de Desarrollo “Toda una Vida” está conformado por tres ejes; en el primer eje que garantiza los derechos durante toda una vida donde uno de sus objetivos es garantizar los derechos de la naturaleza para las generaciones actuales y futuras; el segundo menciona una economía al servicio de la sociedad teniendo como objetivo consolidar la sostenibilidad del sistema económica, social y solidario; tercero donde sugiere la participación ciudadana sociedad y la gestión estatal para el cumplimiento de los objetivos nacional cuyo pilar fundamental es la sostenibilidad ambiental y el desarrollo territorial equitativo.

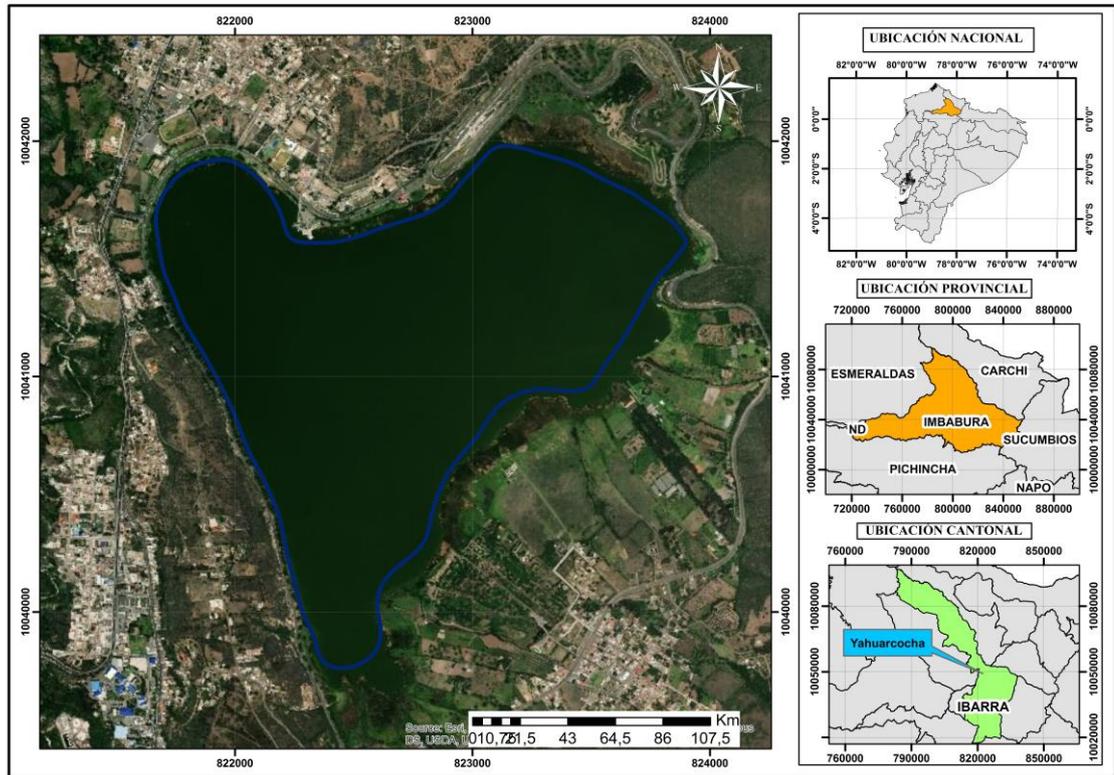
### **CAPITULO III**

### **METODOLOGÍA**

La metodología y procedimientos realizados se describen, para el cumplimiento de cada uno de los objetivos establecidos para la presente investigación

#### **3.1 Descripción del área de estudio**

El lago Yahuarcocha tiene una profundidad media de 4.9 m y se encuentra ubicado en la Cordillera de los Andes en la zona norte del Ecuador en la provincia de Imbabura a 2200 m.s.n.m. ( $00^{\circ} 22'10''$  N;  $78^{\circ} 06'09''$  O) y comprende una superficie de 293.7 ha (Jácome et al., 2018) (Figura 2).



**Figura 2.** Mapa de ubicación geográfico del lago Yahuarcocha

El lago está delimitado a su alrededor por montañas que alcanzan cotas de 2191 m.s.n.m. ocupando una depresión volcánica de la cordillera de los Andes (Maridueña, 2011) y se caracteriza por originarse en el pleistoceno debido a procesos de glaciación. La temperatura promedio de Yahuarcocha es de 15.9°C, y ha presentado dos estaciones que corresponden a periodos húmedos y secos (Jácome et al., 2018). Además, alberga distintas formaciones vegetales y tipos de cobertura vegetal, siendo los más representativos los bosques andinos húmedos, bosques secos y la vegetación riverense con clima frío combinado con la vegetación de matorral húmedo y seco con clima templado (Salazar, 2015). Las principales entradas de agua natural al lago, son los arroyos Manzano Huayco y Chiquita, donde la cantidad de flujo es escaso, por lo que su principal aporte agua proviene por parte de aguas subterráneas y corrientes intermitentes (Jácome et al., 2018).

La zona litoral es muy basta, con gran cantidad de plantas acuáticas y semiacuáticas, siendo la más representativas la totora (*Schoenoplectus californicus*) que es aprovechada tradicionalmente para la elaboración y

fabricación de esteras y artesanías (Pabón, 2015); es también hábitat de numerosas especies de aves (*Larus serranus*, *Porphyryla martinica*) y varias especies de garcetas (*Ardea alba*, *Bubulcus ibis*, *Butorides striatus*) entre otras especies (Van Colen et al., 2017).

El sistema lacustre se encuentra rodeado por diferentes zonas, que desempeñan varias actividades antrópicas como son: la producción agrícola que hace uso del recurso hídrico, el comercio informal debido a la gran cantidad de turistas nacionales e internacionales que atrae este atractivo natural. Además la población aledaña al lugar brinda servicios turísticos de hospedaje y de recreación como son los recorridos en parapente, paseos en lanchas, entre otros (Astudillo, 2018). También se destacan una serie de deportes que se practican en el lago como: la natación, el ciclismo, atletismo y automovilismo en la pista internacional de automóviles “José Tobar Tobar”. Todas estas actividades son de vital importancia para el movimiento económico de la zona, haciendo de Yahuarcocha unos de los sitios más visitados en la provincia atrayendo alrededor de 20 000 visitantes cada fin de semana (Cabrera, 2015; Van Colen et al., 2017).

El lago ha tenido e incrementado el carácter eutrófico en los últimos años debido a la introducción continua de nutrientes y otros factores producto de la presión antrópica que se ejerce en la microcuenca, principalmente la industria del turismo y agricultura (Van Colen et al., 2017; Astudillo, 2018).

### **3.2 Métodos**

La recolección de la hojarasca de cebada, identificación de las especies de microalgas, así como la implementación del bioensayo para la evaluación de la capacidad inhibición de la hojarasca de cebada y relación de la incidencia de las variables físico- químicas se realizaron en tres fases.

### **3.3 Materiales y equipos**

Para el proceso de investigación y análisis que se realizó fue necesario la utilización de los siguientes, materiales, equipos, programas o software electrónicos y reactivos (Tabla 1).

**Tabla 1.** Materiales, equipos, programas y reactivos

<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Programas</b>	<b>Reactivos</b>
12 Recipientes de 100 lts	GPS Garmin 62	Mendeley Desktop 1.19.2	Agua destilada
Cooler	Centrifugadora	Programa ArcGis 10.4	Etanol (C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH) de grado analítico de pureza (90%)
Motobomba a gasolina	Cámara fotográfica	Microsoft office 2013	Formaldehído comercial a 37%
Red de Nyal® de 64 y 32 µm	Computadora	Software Rstudio	Solución buffer (pH)
Lista de chequeo	Fluorímetro Aquafluor® Tuner Designs	Sigmaplot 12.0	
Materiales de oficina	Sensor Sumergible multímetro (YSI Professional Plus)	InfoStat 2019a	
Material de laboratorio	Sistema de filtración por vacío con porta filtro	Statgraphics Centurion XVI.I	
Recipientes graduados en litros	Microscopio marca LEICA tipo DM750	IBM SPSS Statistics 23	
15 Peceras o limnocorrales de vidrio	Microscopio invertido marca LEICA tipo DMI3000 B		
Papel aluminio	Refrigeradora		
Filtros de fibra de vidrio tipo GF/F de 25 mm de diámetro	Potenciómetro		
Cubetas para fluorímetro con tapa	Destilador BOECO WS 8000		
Tubos eppendorf de 1.5 ml	Balanza electrónica Scout-Pro (200 g)		
Tubos falcon de plástico con tapa rosca (50ml)			
Cámara Utermöhl (10 ml)			

**FASE I:** Caracterización taxonómica de las especies de microalgas, especialmente cianobacterias, presentes en agua del lago Yahuarcocha, que se utilizaron en el bioensayo.

### **3.3.1 Recolección y caracterización taxonómica de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, utilizada en el bioensayo**

Para la implementación de los experimentos de laboratorio se seleccionó la hojarasca de *Hordeum vulgare* con las condiciones óptimas, donde se tomó en cuenta por ejemplo, el tamaño, color y grosor del tallo, así como la forma de producción de *Hordeum vulgare*, siguiendo las directrices que establece Geiger, Henry, Hayes y Haggard (2005). Para lo cual, se determinaron los lugares de recolección, utilizando información proporcionada por el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) en su geoportal y trabajos previos referentes al uso en la seguridad alimentaria, extracción de nutrientes y caracterización genética y funcional de la cebada (De la Cruz, 2005; Garófalo, 2012). Posterior a ello se acudió a los lugares establecidos y se georreferenció el sitio donde se obtuvo la hojarasca de *Hordeum vulgare*. Con los datos colectados se elaboró un mapa temático con los puntos de adquisición de la hojarasca de *Hordeum vulgare*.

El proceso de caracterización de la hojarasca de cebada, se basó en aspectos fenotípicos e identificaciones realizadas por otros autores (Garófalo, 2012; Cajamarca y Montenegro, 2015; Córdoba, 2015), además se buscó apoyo en los profesionales y las muestra botánicas pertenecientes al herbario de la Universidad Técnica del Norte.

### **3.3.2 Caracterización taxonómica de microalgas**

Para el proceso de caracterización taxonómica de microalgas (especialmente cianobacterias) y determinación de la densidad, fue necesario tomar tres muestras provenientes directamente del lago Yahuarcocha. En el caso del bioensayo se tomó una muestra de cada tratamiento con sus respectivas repeticiones, cada cinco días, con la finalidad de determinar que géneros de cianobacterias disminuyeron o que cambios se originaron ante la presencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare* (control por degradación aerobia con material orgánica).

Las guías de identificación y textos especializados de varios autores fueron de gran utilidad para la identificación (Wehr y Sheath, 2003; UNESCO, 2009; Perry, 2010; Bellinger y Sigee, 2015; Caicedo, 2016; Guamán y Gonzalez, 2016; Ochoa,

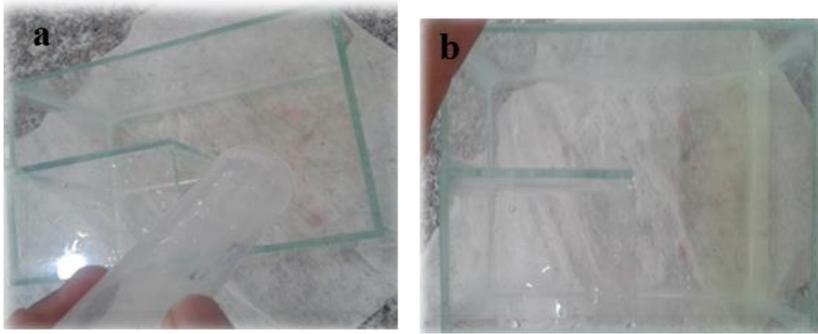
2017), así como algunas páginas web dedicadas al estudio de microalgas como Algalbase ([www.algalbase.org](http://www.algalbase.org)) y Nordic microalgae ([www.nordicmicroalgae.org](http://www.nordicmicroalgae.org)).

Las muestras recolectadas fueron analizadas una vez culminada la fase experimental, para lo cual fue necesario preparar la muestra tanto para el análisis de densidad como para la caracterización taxonómica, donde se llegó a identificar hasta el nivel taxonómico más bajo posible.

### **3.3.2.1 Preparación de la muestra para la determinación de densidad y caracterización de microalgas**

Para la fase de análisis de las muestras se siguió la metodología expuesta por Sell y Evans (1982), Winner y McMichael (1997), Confederación Hidrológica del Ebro (2005) y Baird, Eaton y Rice (2017), mediante la utilización del separador de muestras (subsampling) y la cámara Utermöhl de 10 ml.

En primer lugar, se tuvo que homogenizar las muestras, debido a que durante el tiempo de almacenamiento se formaron agregados de algas precipitándose en el fondo de los tubos falcon. Por esta razón, se realizó una ligera agitación combinando giros horizontales y verticales de manera manual entre 1 a 3 minutos. Posteriormente, toda la muestra fue vertida en el separador de muestras, donde fue dividida a la 1/32 y 1/64 (dependiendo de la densidad de individuos), debido a la alta concentración de microalgas presentes en las muestras. Por lo tanto, se consideró realizar con anterioridad varias pruebas para determinar hasta que fracción tenían que ser divididas las muestras, para lograr realizar un correcto conteo e identificación del fitoplancton (Figura 3). Para evitar la adherencia de algunas microalgas en las paredes del divisor se roció una pequeña cantidad de agua destilada en su interior.



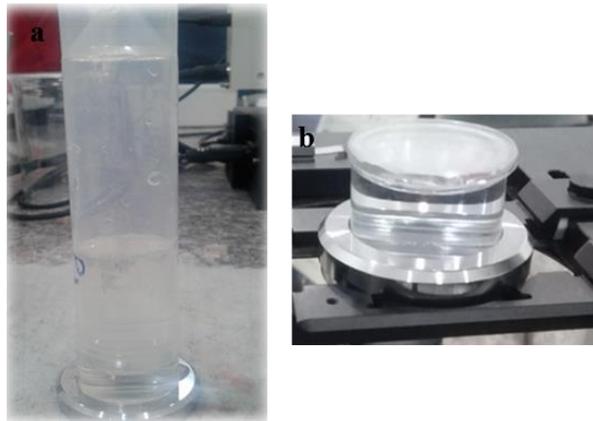
**Figura 3.** a) Vertimiento de la muestra en el divisor b) División de la muestras de plancton

Luego de dividida la muestra (submuestra) para el conteo e identificación se colocó en un tubo falcon nuevo y a ello se sumó el agua usada para retirar las microalgas adheridas a las paredes del separador, el resto de la muestra fue depositada en su sitio inicial. Encima del tubo falco nuevo se colocó la cámara Utermöhl y se realizó un giro de  $180^\circ$  de tal manera que se situó el tubo falcon con la muestra de conteo sobre la cámara Utermöhl, dejándola en esta posición alrededor de 8 a 12 horas en un lugar, fresco, seco y donde no interfiera la luz, evitando la evaporación de la muestra permitiendo de esta manera que se produzca una sedimentación del fitoplancton de forma homogénea para luego ser fijada y analizada.

### **3.3.2.2 Fijación de la muestra**

Una vez transcurrido el proceso de la sedimentación de la muestra, se desplazó el tubo falcon colocado sobre la cámara Utermöhl, procurando que no se derrame el agua sobrante, dejando la cámara en su totalidad llena. A continuación, se tapó la cámara Utermöhl con un cubre objetos circular, evitando la generación de burbujas de aire y finalmente se colocó en el microscopio invertido (Leica

DMI3000 B) para su respectivo análisis cualitativo y cuantitativo (Figura 4) (Confederación Hidrológica del Ebro, 2005).



**Figura 4.** a) Sedimentación de la muestra b) Fijación de la muestra para el análisis

### 3.3.2.3 Proceso de recuento e identificación de microalgas

Para el recuento de los individuos se utilizó el microscopio (Leica DM750) y la metodología usada por la Confederación Hidrológica del Ebro (2005), UNESCO (2009) y Almanza et al. (2016) que consistió en realizar un inventario de los taxones existentes, a través de una visualización previa de la muestra, antes de iniciar con el recuento, con el objetivo de confeccionar una lista con los taxones presentes y tener una visión general de las microalgas que podrían aparecer.

Se desarrolló el recuento de toda la cámara Utermöhl de 10 ml mediante movimientos horizontales de izquierda a derecha (zigzag), a la vez que se contaban los individuos. Se utilizó el microscopio invertido (LEICA DMI3000 B) con oculares de 10  $\mu$  de aumento y con el lente objetivo al 40x de aumento (Figura 5).

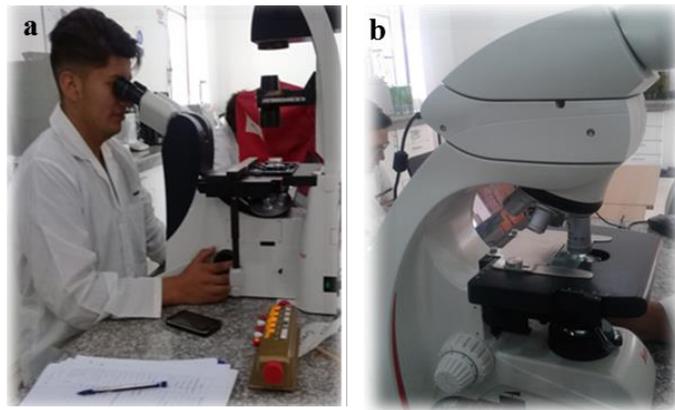


Figura 5. a) Recuento de muestras b) Inventario de taxones

### 3.3.2.4 Determinación de densidad de las comunidades fitoplanctónicas

El análisis cuantitativo de las comunidades fitoplanctónicas se realizó, luego de culminar con el proceso de recuento, ya que era de gran importancia conocer el número de organismos contados para el análisis de densidad. También fue necesario conocer los volúmenes de captación que tenían los recipientes utilizados para la recolección de agua del lago, así como el volumen de agua recogido para las muestras de agua en los tubos falcon y finalmente el volumen de agua analizado en la cámara Utermöhl. Debido a que todos los individuos fueron contados por submuestras, estos datos fueron necesarios para el cálculo de densidad, donde se aplicó la ecuación matemática (Ecuación 1) descrita en trabajos de Polli y Simona (1992), Zalocar (2002), Cabrera (2015) y Baird et al. (2017); expresándose los datos como densidad numérica en individuos por litro (ind/l).

$$A = \frac{(a_1 + a_2 + \dots + a_n) * V_{Tf}}{(V_1 + V_2 + \dots + V_n) * V_{ti}}$$

Ecuación 1

Donde:

A = abundancia de individuos en el medio (ind/l)

$a_1, a_2, a_n$  = número de organismos contados en cada alícuota

$V_{Tf}$  = volumen de las muestras colectadas (l)

$V_1, V_2, V_n$  = volumen de las alícuotas (l)

$V_{ti}$  = volumen total inicial (l)

**FASE II:** Análisis de la capacidad de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* del bioensayo

### 3.3.3 Recolección de agua del lago Yahuarcocha

Para poder realizar la experimentación fue necesario la recolección de agua proveniente del lago Yahuarcocha, para ello se estableció un sitio de recolección de agua, de manera aleatoria debido al estado homogéneo en la composición del agua y profundidad del lago. Esta condición fue establecida en los monitoreos mensuales realizados conjuntamente por el grupo VLIR-UOS y la Universidad Técnica del Norte que determinaron polimixis en el lago, lo que asegura la mezcla y homogeneidad del agua. Además, se tomó en cuenta lo mencionado por Caicedo (2016) quien estableció que tomar muestras o realizar monitoreos en un solo punto es representativo, motivo por el cual se situó el punto de recolección de agua en las cercanías del Cuerpo de Bomberos de Yahuarcocha ubicado en las coordenadas (00°22'37.0" N; 78° 06' 03.9" O).

Por lo tanto, se recolectó aproximadamente 550 litros de agua superficial (hasta 0.50 m de profundidad) del lago con apoyo de una motobomba, y se depositó de manera directa en los 12 recipientes con capacidad de 100 litros, basada en la metodología de Almanza et al. (2016) para posteriormente ser transportadas de manera inmediata al campus San Vicente de Paúl (Figura 6).



**Figura 6.** a) Recolección de agua del lago Yahuarcocha  
b) Recipiente de 100 litros

Se colectaron tres muestras iniciales (Mi) en tubos Falcon de 50 ml debidamente etiquetados con la fecha de recolección, que se utilizaron para identificación

taxonómica y cálculo poblacional de microalgas inicial. También se recolectó una muestra de agua en una botella plástica con capacidad de un litro y con tapa rosca, que fue usada para la extracción y análisis de clorofila-*a*.

#### **3.3.3.1 Conservación de muestras y cadena de custodia**

Las muestras colectadas para la identificación de fitoplanctón inicial se preservaron en tres tubos Falcon de 50 ml y se agregó 2 ml de formaldehído al 97% en una proporción del 4% en cada una de las muestras y fueron depositadas en un cooler evitando el contacto con la luz solar, tomando como guía las directrices que menciona Flores, Gabio, Díaz, Camacho y Díaz (2010). También, la muestra que se obtuvo para la extracción y análisis de clorofila, se transportaron en conjunto, al Laboratorio de Investigaciones Ambientales y Limnología de la Universidad Técnica del Norte (LABINAM) en donde fueron almacenadas en un lugar fresco y oscuro en el caso de las muestras de fitoplancton; mientras que la muestra para la obtención de la clorofila-*a* fue inmediatamente filtrada y extraída.

#### **3.3.4 Acondicionamiento de los limnocorales o peceras**

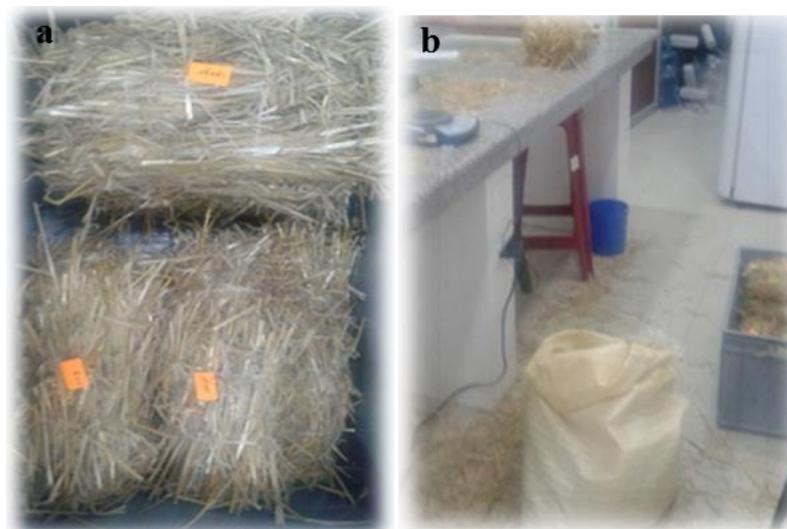
En la implementación del bioensayo se construyeron 15 peceras o limnocorales de vidrio de 30 cm de alto, 30 cm de ancho y 90 cm de largo, previo a su utilización se hicieron pruebas para verificar que no existan pérdidas de agua.

Antes de ser utilizados los limnocorales, fue necesario su acondicionamiento, para lo cual se consideró forrar con papel blanco las paredes de los limnocorales, para evitar que ingresen los rayos solares de forma directa por la parte lateral y prevenir que se caliente en exceso el agua, tratando de replicar la estructura y condiciones que se presentan en la cubeta de agua de Yahuarcocha. También se marcaron los límites de llenado en los limnocorales para alcanzar los 30 litros de agua y finalmente se procedió a etiquetar las peceras según su tratamiento.

#### **3.3.5 Preparación de la hojarasca de *Hordeum vulgare* para el bioensayo**

Previo a la implementación del bioensayo, se tuvo que acondicionar la hojarasca de *Hordeum vulgare*. Para lo cual se empaquetó y se formaron cubos con la hojarasca, con ayuda de hilo nylon y cuerda o piola. De manera simultánea se

pesaron y se etiquetaron individualmente cada uno de los cubos de hojarasca de *Hordeum vulgare*, en una balanza electrónica con capacidad de 200 g según las dosis y número de tratamientos. El peso de los cubos de hojarasca (g/l) se estimó basados en publicaciones y estudios realizados anteriormente por otros autores, cuyas dosis aplicadas tuvieron mayor éxito y rendimiento (Martin y Ridge, 1999; Butler, Reedyk, Murrell, y Mah, 2005; Geiger et al., 2005; Huallacháin y Fenton, 2010). Se estableció 4 g/l de hojarasca de *Hordeum vulgare*, como la dosis intermedia entre todos los tratamientos, de tal manera que se fijaron cantidades mayores y menores a la dosis de 4g/l, para el experimento (Figura 7).



**Figura 7.** a) Cubos de hojarasca de *Hordeum vulgare*  
b) Preparación de la de hojarasca de *Hordeum vulgare*

En el primer tratamiento se pesó 2 g/l hojarasca de *Hordeum vulgare*, para el segundo tratamiento se pesó 4 g/l, al tercer tratamiento se midió 6 g/l de hojarasca de *Hordeum vulgare* y finalmente para el cuarto tratamiento se estimó 8 g/l de hojarasca de *Hordeum vulgare*.

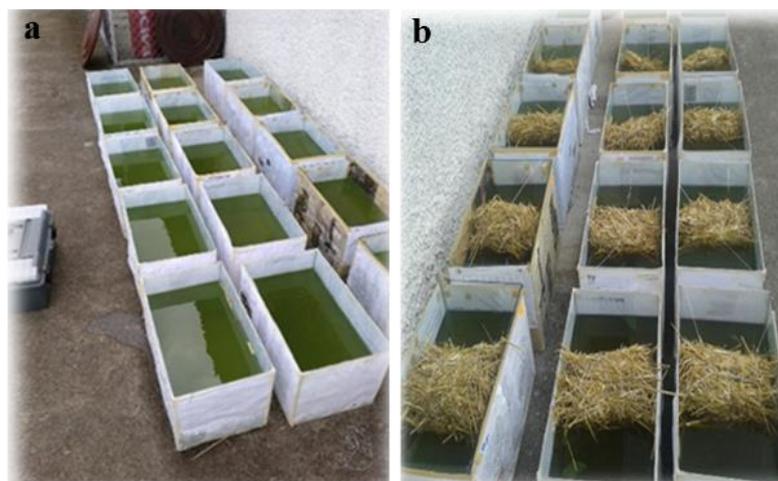
### 3.3.6 Implementación del bioensayo

Los limnocorrales se llenaron con el agua recolectada hasta alcanzar la cantidad de 30 litros y fueron trasladados sobre un montacargas hacia el sitio establecido, en las áreas verdes de los laboratorios del campus San Vicente de Paúl (Figura 8).



**Figura 8.** a) Llenado b) Traslado de los limnocorrales

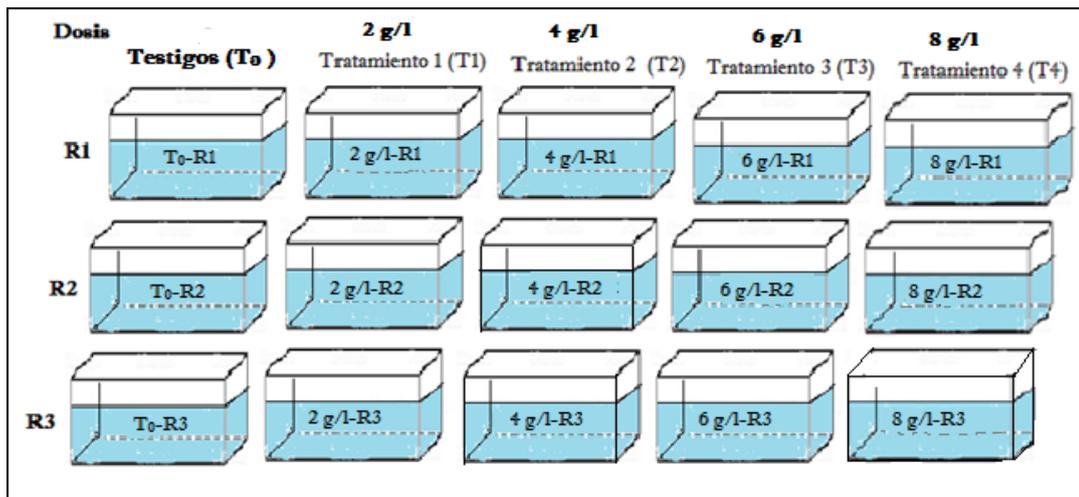
Las peceras se distribuyeron de manera aleatoria y se agregaron los paquetes de hojarasca de *Hordeum vulgare* en la parte central, sujetos con una cuerda y se etiquetaron los limnocorrales según su contenido como testigos y tratamientos (Figura 9).



**Figura 9.** Implementación del bioensayo y colocación de las dosis de hojarasca de *Hordeum vulgare* en cada uno de los limnocorrales

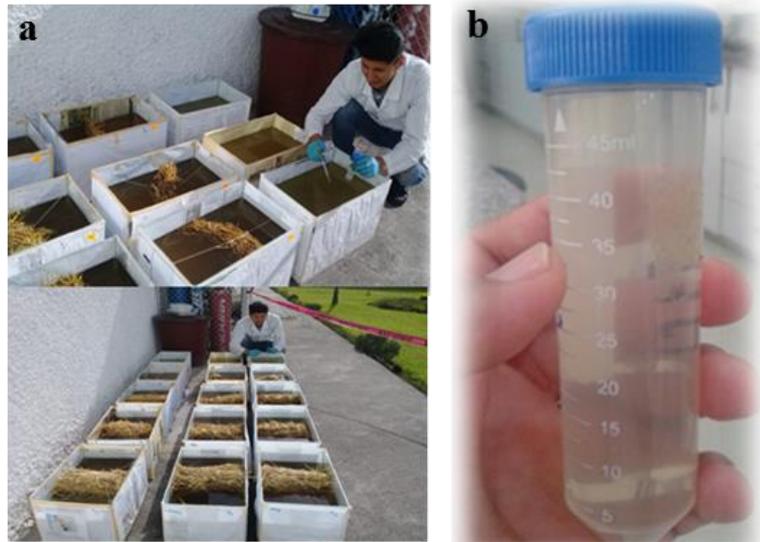
El diseño experimental indestruido al azar por bloques, constó de tres limnocorrales que sirvieron como testigos (0g/l-R1, 0g/l-R2 y 0g/l-R3 ), a los cuales únicamente se les llenaron con agua del lago Yahuarcocha, no se insertó hojarasca de *Hordeum vulgare* en estas peceras. En el tratamiento uno (T1) se añadió 2 g/l de hojarasca de *Hordeum vulgare* a cada una de sus respectivas repeticiones (2g/l-R1, 2g/l-R2 y 2g/l-R3) mientras que al tratamiento dos (T2) se agregó una dosis de 4 g/l de hojarasca de *Hordeum vulgare* (4g/l-R1, 4g/l-R2 y

4g/l-R3), para el tratamiento tres (T3) se agregó una dosis de 6 g/l de hojarasca de *Hordeum vulgare* (6g/l-R1, 6g/l-R2 y 6g/l-R3) y finalmente al tratamiento cuatro (T4) se adicionó 8 g/l (8g/l-R1, 8g/l-R2 y 8g/l-R3). El tiempo de duración del bioensayo acorde a otros estudios (Everall y Lees, 1996; Butler et al., 2005; Geiger et al., 2005; Iredale et al., 2012) fue de treinta días, desde el 23 de mayo hasta el 21 de junio, cabe mencionar que los experimentos estuvieron a la intemperie (Figura 10).



**Figura 10.** Diseño experimental del bioensayo con la cantidad de hojarasca de *Hordeum vulgare* colocada en cada tratamiento

Se consideró tomar muestras de agua del bioensayo para medir la clorofila-*a* y fitoplancton de todos los testigos y tratamientos con sus respectivas repeticiones cada cinco días hasta la culminación del bioensayo, considerando el tiempo de acción inhibitoria de la hojarasca de *Hordeum vulgare* mencionada por Spencer y Lembi (2007) y Iredale et al. (2012). Motivo por el cual, se colectaron las muestras en tubos falcon de 50 ml y se las preservaron al 4% de formol siguiendo el mismo protocolo establecido en la toma de muestras del lago Yahuarcocha realizado con anterioridad al experimento para valorar los posibles cambios en la densidad y composición de microalgas. A su vez también se recolectaron 100 ml de agua en envases plásticos con tapa, debidamente etiquetados de acuerdo con la codificación estipulada de cada uno de los limnocorales, para posteriormente realizar la extracción y medición de clorofila-*a* (Figura 11).



**Figura 11.** a) Medición de parámetros físico-químicos  
b) Toma de muestras del bioensayo

### 3.3.7 Análisis de la capacidad de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* sobre las microalgas

Los análisis implementados, para determinar la capacidad de inhibición de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare*, sobre el crecimiento de las microalgas, especialmente de las cianobacterias, durante el tiempo de experimentación, se destacan a continuación:

#### 3.3.7.1 Análisis estadístico

Los datos periódicos de densidad de los individuos, provenientes de los tratamientos, tuvieron que ser transformados antes de ser analizados por métodos multivariados, debido a que los datos de la composición de las comunidades de microalgas contenían contajes de cero. Para reducir la asimetría de la distribución de los datos de las especies y hacer que las diferencias sean más simétricas se tuvo que ignorar los datos de la muestra inicial y aplicó la ecuación matemática (Ecuación 2) descrita en los trabajos de Legendre y Gallagher (2001) y Legendre y Borcard (2018).

$$y' = \sqrt{y_{ij}}$$

Ecuación 2

Donde:

$y'$  = dato transformado

$y_{ij}$  = dato de abundancia de la especie

Los datos transformados fueron procesados usando InfoStat 2019, Statgraphics Centurion XVI.I y se analizaron usando 4 pruebas estadísticas como son: la prueba de normalidad de Shapiro Wills, de homocedasticidad de Levene y la prueba Anova multifactorial en combinación con la prueba post-hoc de Tukey, con la finalidad de determinar cuáles fueron los tratamientos y los días que mayor efectividad tuvieron en la inhibición del fitoplancton (especialmente cianobacterias). Los gráficos se elaboraron en Sigmaplot 12.0 y Excel 2013 a partir de los datos de densidad de los individuos (Greenacre y Primicerio, 2013).

**FASE III:** Relación de la incidencia de las variables físico-químicas del agua del lago Yahuarcocha, en la eficiencia de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* sobre el fitoplanctón, especialmente cianobacterias, en condiciones de laboratorio.

### **3.3.8 Estimación de los factores ambientales**

Para la ejecución del tercer objetivo de la investigación fue necesario realizar las mediciones de los siguientes factores ambientales descritos a continuación:

#### **3.3.8.1 Medición de parámetros físicos – químicos**

Los parámetros físico-químicos se midieron inicialmente, en el agua superficial del lago (0.50 cm), los cuales incluyeron: temperatura (Temp), potencial hidrógeno (pH), conductividad (Cond), oxígeno disuelto (OD) y se realizaron mediante el sensor sumergible multímetro (YSI Professional Plus). Este procedimiento se estableció basándose en varios estudios como los de Morales (2013), Caicedo (2016) y Van Colen et al. (2017).

Una vez establecido el bioensayo, para determinar las fluctuaciones y posibles cambios por agregar la hojarasca de *Hordeum vulgare*, se midió diariamente los mismos parámetros físicos-químicos realizados en la toma de datos al inicio. Con la finalidad de evitar la anoxia en el bioensayo debido al poco movimiento o inexistente flujo de agua, se consideró oxigenar todos los días mediante ligeros movimientos circulares en el agua de entre 2 y 3 minutos de duración en cada uno de los tratamientos.

La evaporación y disponibilidad de nutrientes que se perderían en agua al pasar los días del experimento se consideró, para ello se añadió cada siete días agua del lago según la cantidad de agua evaporada de los limnocorales, la que se calculó en aproximada entre 150 a 200 ml, que fueron filtrados a través de una red de Nylal® de 32 µm para evitar el ingreso de fitoplancton a los limnocorales, previniendo alteraciones o errores en la estimación de resultados.

### **3.3.8.2 Medición de pigmentos (clorofila)**

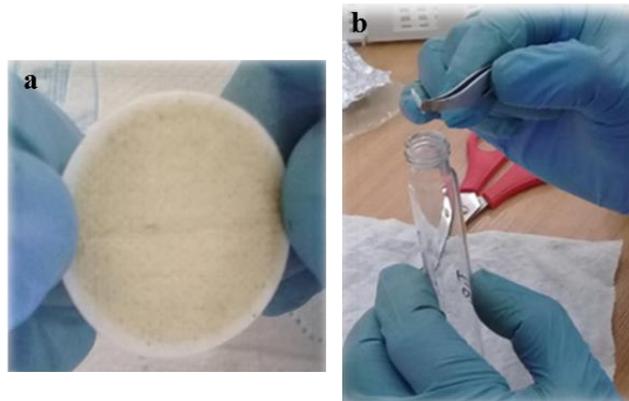
- **Clorofila-*a* (en vivo)**

La medición de la clorofila-*a* en vivo (Cl-*a* EV) se realizó *in-situ*, para conocer el estado inicial del agua del lago como punto de inicio y observar los posibles cambios en todos los tratamientos y testigos. De manera directa con una pipeta plástica de 5 ml se extrajo agua del lago y se vertió en una cubeta de 2 ml para ubicarla en el fluorímetro (AquaFluor) usando el canal de medición (A). En la medición se consideró que el equipo se encuentre en una superficie horizontal fija y se evitó la generación de burbujas de agua al verter el agua, de darse el caso se retiró las burbujas de agua y se consideró que haya poca entrada de luz o luminosidad para evitar datos erróneos. Las unidades de medición que fue emitida por el equipo es la biomasa algal en unidades de fluorescencia (RFU), para su correcta ejecución se tomó en cuenta los protocolos realizados en anteriores trabajos (Mandonx, 2014; Astudillo, 2018). Cabe mencionar que bajo los mismos lineamientos y protocolos se hicieron mediciones diarias de clorofila-*a* de todos los tratamientos y testigos, desde la puesta en marcha del bioensayo hasta la culminación del experimento, para medir y observar los posibles cambios y efectos de la hojarasca de *Hordeum vulgare* al ser añadida en el agua.

- **Clorofila-*a* (extraída)**

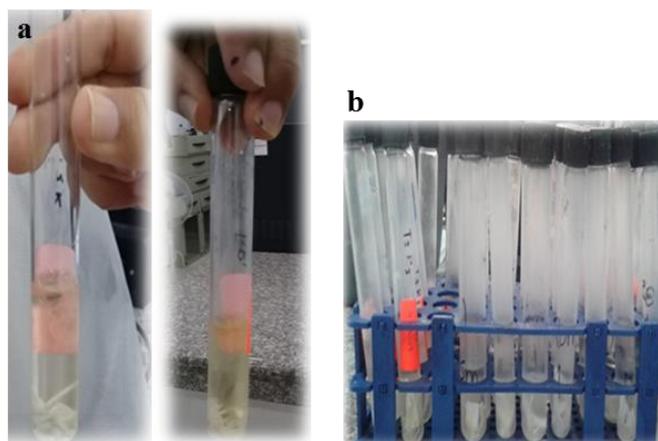
La clorofila-*a* extraída (Cl-*a* EX), se obtuvo de las muestras de agua inicial del lago, así como de las muestras extraídas cada 5 días de los tratamientos del bioensayo como se explicó anteriormente, donde se procedió a realizar de forma inmediata la extracción del pigmento y análisis de la clorofila extraída como se menciona a continuación:

En el laboratorio se filtraron las muestras recolectadas de agua sobre una red Nyltal® de 64  $\mu\text{m}$  evitando que pasen impurezas, restos sólidos, rocas o zooplancton, que de no ser retiradas generarían datos erróneos. Después se hizo uso del sistema de filtración al vacío en donde se colocaron los filtros marca Whatman de fibra de vidrio tipo GF/F de 25 mm de diámetro, luego se extrajo con una jeringuilla 50 ml el agua filtrada anteriormente y se procedió a la filtración de la clorofila inmersa en el agua, simultáneamente se verificó que la clorofila se encuentre adecuadamente adherida al filtro para realizar la extracción y medición de la clorofila (Figura 12).



**Figura 12.** a) Clorofila adherida al filtro de fibra de vidrio  
b) Inserción de los fragmentos de filtros al tubo de ensayo

Los filtros, se doblaron por la mitad y se cortaron en pequeños fragmentos que fueron depositados en tubos de ensayo debidamente etiquetados, que contenían 10 ml de etanol al 90 %; se mezcló ligeramente y de forma manual con movimientos circulares para que actué de mejor manera el etanol. Se llevó a refrigeración durante 24 horas. Una vez retirados de refrigeración los tubos de ensayo, se extrajo cerca de 2 ml de la solución generada procurando tomar de la parte superficial de cada uno y se vertió en tubos eppendorf de 1.5 ml etiquetados según su codificación. Posteriormente fueron colocados sobre una gradilla para tubos y fueron ubicados dentro de un cooler para evitar el ingreso de luz (Figura 13).



**Figura 13.** a) Vertido de metanol b) Refrigeración

Los tubos eppendorf fueron centrifugados a 3000 rpm durante 30 minutos y en una cubeta (limpia y seca) de 2 ml y se llenó con la solución centrifugada de cada uno de los tubos eppendorf y se analizó en el fluorímetro (AquaFluor) programado en el canal (B) para proceder con la medición expresada en unidades de fluorescencia (RTU). Los datos obtenidos fueron transformados a microgramos sobre litro ( $\mu\text{g/l}$ ) mediante una fórmula matemática (Ecuación 3). Cada tubo o muestra fue medida tres veces, de esta forma se evitó errores, considerando otros estudios como referencia (Mandonx, 2014; Almanza et al., 2016; Van Colen et al., 2017).

$$\text{Chl } a \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{l}} \right) = \frac{1,1526 * (\text{VFL}) * \left( \frac{\text{V1}}{\text{V2}} \right)}{2,45}$$

Ecuación 3

Donde:

Chl *a*: Clorofila extraída en ( $\mu\text{g/l}$ )

VFL: Valor fluorimétrico

V1: Volumen del metanol

V2: Volumen filtrado

### **3.3.8.3 Análisis estadístico de la relación de las variables físico-químicas del agua del lago Yahuarcocha, en la eficiencia de inhibición de *Hordeum vulgare* sobre las microalgas, especialmente cianobacterias**

El análisis de relación de la incidencia de las variables físico-químicas, en la eficiencia de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, sobre el crecimiento de microalgas fueron realizados mediante la utilización de los software IBM SPSS Statistics 23, InfoStat 2019, RStudio y Statgrafics Centurion XVI.I y apoyo de otros trabajos similares como Dalal, Shirodkar, Jagtap y Rao (2010), Chung et al. (2015) y Kamal y Ramjee (2019).

En primer lugar, se realizó un análisis descriptivo de las variables físico-químicas. Por otro lado, los datos obtenidos de la clorofila-*a* extraída (Cl-*a* EX) y clorofila-*a* en vivo (Cl-*a* EV) fueron utilizados para determinar la cantidad de biomasa del fitoplancton, que se redujo o incrementó en los tratamientos con relación al testigo. Para lo cual se aplicó un análisis de normalidad de Shapiro Wills y de homocedasticidad de Levene Wilk, para determinar el tipo de test.

En el caso de Cl-*a* EX se analizó con un Anova bifactorial combinado con un test de Tukey, entre los tratamientos y los días, para determinar las diferencias entre uno u otro tratamiento. Mientras que para la Cl-*a* EV, se aplicó el test de Kruskal Wallis combinada con una comparación de pares entre los días y tratamientos. Para de esta manera también corroborar con los análisis de densidad de individuos de los tratamientos realizados anteriormente.

En segundo lugar, se realizó una matriz de correlaciones de Pearson, la cual considera la existencia de una correlación fuerte o significativa cuando ( $p\text{-valor} \geq 0.5$ ), de lo contrario demostraría una correlación medianamente o poco significativa, además también puede señalar correlaciones negativas indicando el incremento de una variable respecto a la disminución de otra. Este análisis se ejecutó, para un mejor entendimiento de la influencia de las variables físico-químicas del agua del lago Yahuarcocha, en la eficiencia de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* sobre las microalgas. Luego, todos los datos de los parámetros físico- químicos, clorofila-*a* extraída y clorofila-*a* en vivo, debido a

que tenían diferentes magnitudes y escalas de medición, fueron estandarizados para que se ajusten a una distribución normal de todas las variables (Ecuación 4), como lo recomienda Kamal y Ramjee (2019).

$$y' = Ln (y_{ij}) \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde:

$y'$  = dato transformado

$y_{ij}$  = dato que se va a transformar

- **Análisis de componentes principales (ACP)**

Posteriormente se aplicó un análisis de media de adecuación de muestreo Keiser Meyer Olkin (KMO) el cual tiene que ser ( $p\text{-valor} \geq 0.5$ ) que demuestre la existencia de correlaciones entre las variables que se midieron y una prueba de esfericidad de Bartlett donde ( $p\text{-valor} = \leq 0.05$ ), para considerar la ejecución de un análisis estadístico de componentes principales (ACP).

Finalmente, se aplicó un ACP para analizar las interrelaciones entre las variables de estudio, donde se realizó una ejecución inicial para estimar los componentes principales (CP), seguido se generó una rotación varimax, para formar una serie clasificada de factores que facilitaron la interpretación de los componentes, al maximizar la varianza en cada componente. Para un mejor entendimiento de los resultados obtenidos se generó un gráfico bidimensional para visualizar de mejor manera la influencia de cada variable en la eficiencia de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare*

- **Análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS)**

Antes de realizar el análisis NMDS fueron estandarizados los datos, sugerido por Kolbe, Miller, Cameron y Culley (2016), para minimizar los efectos de la variación en el tamaño de la muestra y en la escala de las variables. En el caso de los datos de los factores ambientales, estos fueron estandarizados con Ln (Ecuación 4) y los valores de densidad de las microalgas se estandarizaron con la

ecuación de Helliger (Ecuación 5) (Legendre y Gallagher, 2001; Kamal y Ramjee, 2019).

$$y'_{ij} = \sqrt{\frac{y_{ij}}{y_{i+}}}$$

Ecuación 5

Donde:

$y'_{ij}$  = dato transformado

$y_{ij}$  = dato de abundancia de la especie

$y_{i+}$  = dato de abundancia de todas las especies

Posterior a la estandarización de los datos se aplicó el análisis NMDS utilizando Rstudio 3.6 en la cual se asoció los factores ambientales medidos y los grupos de microalgas, determinando el número de ejes propicios que generen un esfuerzo de ordenación reducido de los datos (medida del modelo de ajuste, donde el estrés = < 0.20 se considera aceptable; el estrés > 0.05 proporciona una representación excelente en dimensiones reducidas, > 0.1 es excelente, > 0.2 es bueno y el estrés > 0.3 proporciona una representación pobre). También el NDMS señaló las variables ambientales más significativas (p-valor = ≤ 0.05 que representa 95% de la variación de las especies) y a través de la medida de Bray Curtis se señaló el grado de asociación o correlación (p-valor = > 0.5) que presentaron los factores ambientales con las comunidades de microalgas (Weilhoefer y Pan, 2006; Kolbe et al., 2016).

## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### **4.1 Caracterización taxonómica de las especies de microalgas, especialmente cianobacterias, presentes en agua del lago Yahuarcocha, que se utilizaron en los experimentos de laboratorio**

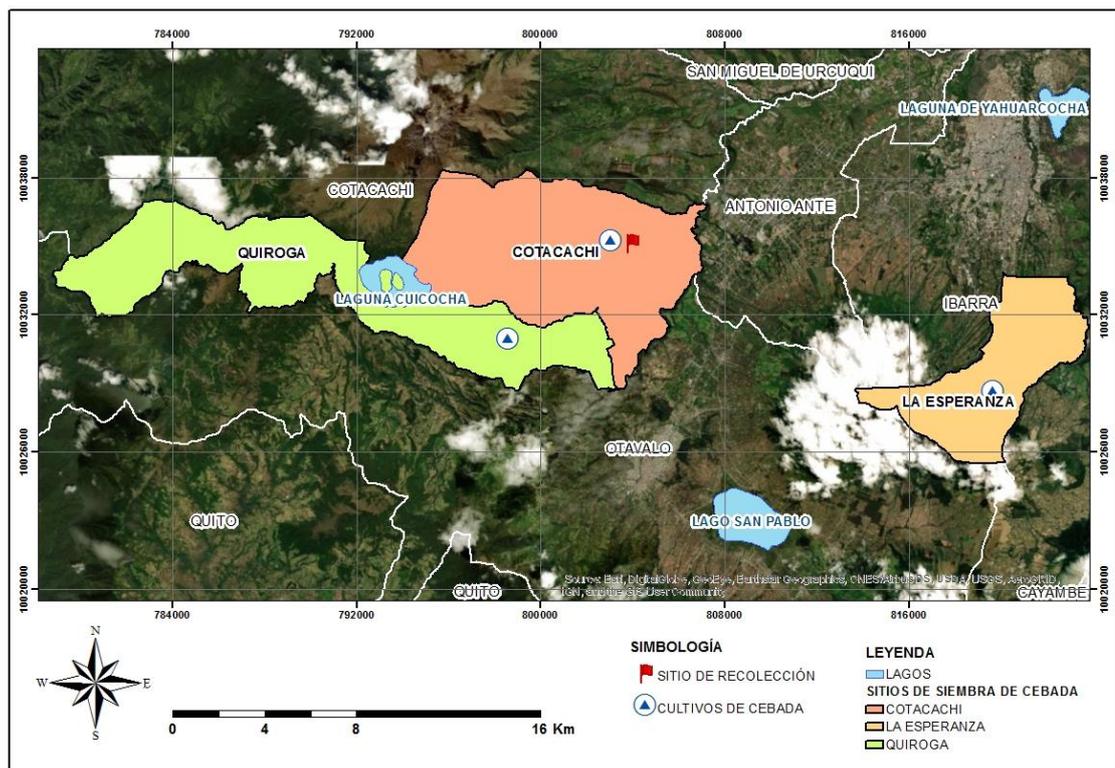
Los resultados demuestran el sitio de recolección y caracterización botánica de la hojarasca de *Hordeum vulgare* utilizada en el bioensayo y las microalgas, especialmente cianobacterias, que se identificaron en el transcurso de la experimentación proveniente del agua del lago Yahuarcocha.

##### **4.1.1 Recolección y caracterización botánica de la hojarasca de cebada utilizada en el bioensayo**

El catón Cotacachi fue el sitio donde se encontró y recolectó la hojarasca de cebada *Hordeum vulgare* (00° 16'47.2" N; 78° 19'04.5" O), debido a que el cultivo presentó las condiciones más óptimas y apropiadas para su utilización como: el ser producido de manera orgánica, tener una madurez adecuada reflejada en su color amarillento opaco, el tamaño y grosor del tallo propicio, según las directrices de Geiger, Henry, Hayes y Haggard (2005) quienes investigaron la importancia de la calidad de cebada, cultivares y condiciones de cultivos óptimos, para la aplicación del método de control de microalgas por descomposición aerobia de la hojarasca de *Hordeum vulgare*. Al considerar los reportes exitosos en el control de algas presenciadas en Gran Bretaña y Estados Unidos, donde una de las posibles causas de éxito fue la calidad del cultivo de *Hordeum vulgare*, la variedad utilizada y haber sido producido el cultivo de manera orgánica, ya que de ser la cebada cultivada con fertilizantes inorgánicos, que presentan altos contenidos de nitrógeno, generaría que *Hordeum vulgare* tenga baja cantidad de lignina, ocasionando que su descomposición sea más acelerada, convirtiéndose la cebada de esta manera menos efectiva a la hora de controlar las floraciones de microalgas.

En el cantón la Esperanza y Quiroga de igual manera se identificaron cultivos de cebada, pero en condiciones no favorables para su uso, ya que la cebada se

encontraba en pleno proceso de crecimiento. Estos lugares se seleccionaron, debido a que se les ha considerado zonas de producción de *Hordeum vulgare* por De la Cruz (2005) y Garófalo (2012). En Imbabura existen también varios lugares donde también se cultiva la cebada como Chaltura y Otavalo (según geoportal MAG), los cuales no fueron visitados en este estudio, considerándose por este motivo a la provincia de Imbabura una las cinco principales productores de cebada, después de Chimborazo, Cotopaxi, Cañar y Pichincha (Villacrés y Rivadeneira, 2005). Existen también fuera de la provincia, sitios productores de cebada, como es el cantón Ambato en la provincia de Tungurahua, donde por lo general la cebada es un monocultivo (Bossio y Cassman, 1991). Por esta razón fue mucho más factible buscar la hojarasca de *Hordeum vulgare* en la provincia de Imbabura, principalmente en las zonas rurales (Figura 14).



**Figura 14.** Georreferenciación de sitios de ubicación de cultivos de cebada en la provincia de Imbabura

La cebada recolectada es una planta herbácea perteneciente a los cereales con una altura de 92.6 cm y raíz fasciculada; cuyo tallo presentó una longitud promedio entre 60 y 80 cm de formar acordada, con 4 entrenudos pronunciados de color verde claro o amarillento; las hojas sostenían una forma linear de longitud

promedio de 21.8 cm y ancho 0.79 cm y se disponían de forma alterna, envainadoras, paralelinervias, con borde liso y pubescencia; la inflorescencia estaba compuesta de alrededor de 32 espiguillas con terminal angulosa de color amarillo opaco con dos glumas respectivamente y el fruto era un cariósipide. Según Cajamarca y Montenegro (2015), la cebada pertenece a la familia Poaceae, subfamilia Poideae, que incluye plantas cultivadas y silvestres, donde todos los tipos cultivados pertenecen a la especie *Hordeum vulgare*, presentado por algunas variedades (Tabla 2).

**Tabla 2.** Clasificación taxonómica de la cebada

<b>Categoría</b>	<b>Nombre</b>
<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Liliopsida
<b>Orden</b>	Poales
<b>Familia</b>	Poaceae
<b>Subfamilia</b>	Poideae
<b>Género</b>	<i>Hordeum</i>
<b>Especie</b>	<i>Hordeum vulgare</i>

La caracterización que se realizó concuerda en algunos aspectos descritos por Córdoba (2015), quien señaló que la cebada de su estudio contiene una raíz fasciculada, con tallo similar a la de la caña, hojas alternas envainadoras, espiga ubicada en el ápice del tallo y con una inflorescencia compuesta de espiguillas constituidas de una y tres flores hermafroditas cada una con dos glumas y glumillas. Pero se diferenció con la descripción realizada por Hagenblad, Leino, Henández y Morales (2018), quienes encontraron en las localidades de las Islas Canarias, diferencias morfológicas y genéticas en la cebada como la ausencia de vello en las hojas basales y glumillas inferiores dentadas y la presencia de una composición mixta en los genes de algunas variedades, provocado por un intercambio de material vegetal y la distribución geográfica de la cebada. Demostrando que, a pesar de ser la misma especie, la morfología de la planta de cebada cambia de acuerdo con la variedad, ambiente y lugar del cultivo. Motivo

por el cual fue necesario realizar una descripción taxonómica de la hojarasca de *Hordeum vulgare* recolectada para el bioensayo.

#### **4.1.2 Clasificación y caracterización taxonómica de las microalgas identificadas.**

En el transcurso de la experimentación entre los meses de mayo y junio del 2019 se obtuvo información referente a la composición de las microalgas provenientes de las muestras tomadas del lago Yahuarcocha y del bioensayo. Donde se puso mayor atención a las microalgas pertenecientes al grupo de las Cyanophytas debido a su alta toxicidad y alta densidad de individuos en el lago, descritos en estudios de Maridueña et al. (2003), Saelens (2015), Caicedo (2016), Ochoa (2017) y Astudillo (2018), por lo que este es el único grupo caracterizado taxonómicamente según el objetivo planteado. Donde a pesar de ello se consideró el número de géneros presentes en cada una de las muestras tomadas.

- **Clasificación taxonómica de las microalgas identificadas**

El fitoplancton del lago Yahuarcocha estuvo conformado principalmente por cinco grupos taxonómicos: Cyanophytas (cianobacterias), Chlorophytas, Bacillariophytas (diatomeas), seguido por Dinophytas y Euglenophytas. Identificando un total de treinta y cuatro géneros de microalgas conformados por 6 géneros pertenecientes al filo Cyanophyta, 8 a Bacillariophyta, 15 a Chlorophyta, 2 a Dinophyta y 2 a Euglenophyta; además se identificó la presencia de un nuevo grupo taxonómico Zygnematophyta con un único género. Ocasionalmente también, en el transcurso del bioensayo se sumaron dieciocho géneros que pertenecían 2 a Cyanophyta, 6 a Bacillariophyta, 9 a Chlorophyta y 1 a Dinophyta. Dando un total de 52 géneros identificados, distribuidos en 9 clases, 22 órdenes y 38 familias durante todo experimento (Tabla 3).

**Tabla 3.** Clasificación taxonómica del fitoplancton identificado. Los géneros que presentan (^) son los géneros encontrados únicamente en las muestras pertenecientes al lago Yahuarcocha; en tanto a los marcados con (\*) corresponden a géneros encontrados tanto en el bioensayo como en el lago; los géneros no marcados corresponden a los hallados únicamente en el experimento

Clase	Orden	Familia	Género		
<b>División: Bacillariophyta</b>					
<b>Bacillariophyceae</b>	Fragilariales	Fragilariaceae	<i>Synedra</i> *		
			<i>Fragilaria</i> *		
			<i>Centronella</i>		
			<i>Diatoma</i> ^		
	Bacillariales	Bacillariaceae	<i>Nitzschia</i> *		
			Naviculales	Naviculaceae	<i>Navicula</i> *
			Pinnulariaceae	<i>Pinnularia</i> *	
	Cymbellales	Gomphonemataceae	<i>Gomphonema</i>		
			Achnanthes	Cocconeidaceae	<i>Cocconeis</i>
	Thalassiosiphales	Catenulaceae	<i>Amphora</i>		
Thalassiosirales	Stephanodiscaceae	<i>Cyclotella</i> *			
<b>Coccinodiscophyceae</b>	Aulacoseirales	Aulacoseiraceae	<i>Aulacoseira</i>		
	Melosirales	Melosiraceae	<i>Melosira</i> *		
	Biddulphiales	Biddulphiaceae	<i>Trigonium</i>		
<b>División: Chlorophyta</b>					
<b>Chlorophyceae</b>	Sphaeropleales	Selenastraceae	<i>Ankistrodesmus</i> *		
			<i>Monoraphidium</i> *		
		Scenedesmaceae	<i>Scenedesmus</i> *		
			<i>Tetradesmus</i>		
			<i>Westella</i>		
			<i>Tetrastrum</i>		
		Neochloridaceae	<i>Golenkinia</i> *		
		Hydrodictyceae	<i>Pediastrum</i> *		
		Schroederiaceae	<i>Schroedeira</i> *		
		Schizochlamydeae	<i>Planktosphaeria</i> *		
		Characiaceae	<i>Ankyra</i>		
		Chlamydomonadales	Volvocaceae	<i>Eudorina</i> *	
		Chlamydomonadaceae	<i>Chlamydomonas</i> *		
		Goniaceae	<i>Gonium</i>		
	Haematococcaceae	<i>Chlorogonium</i> *			
<b>Trebouxiophyceae</b>	Chlorellales	Chlorellaceae	<i>Chlorella</i> *		
			<i>Dictyosphaerium</i> *		
			<i>Apatococcus</i>		
			<i>Micractinium</i>		

		Oocystaceae	<i>Crucigeniella</i> * <i>Oocystis</i> * <i>Lagerheimia</i>
<b>Conjugatophyceae</b>	Desmidiales	Desmidiaceae	<i>Coelastrum</i> * <i>Staurastrum</i>
<b>División: Cyanophyta</b>			
<b>Cyanophyceae</b>	Nostocales	Aphanizomenonaceae	<i>Cylindrospermopsis</i> *
		Nostocaceae	<i>Anabaena</i>
	Spirulinales	Spirulinaceae	<i>Spirulina</i> *
	Synechococcales	Merismopediaceae	<i>Merismopedia</i> *
		Pseudanabaenaceae	<i>Pseudanabaena</i> *
	Chroococcales	Chroococcaceae	<i>Chroococcus</i> *
		Microcystaceae	<i>Microcystis</i> * <i>Sphaerocavum</i>
<b>División: Dinophyta</b>			
<b>Dinophyceae</b>	Gonyaulacales	Ceratiaceae	<i>Ceratium</i>
		Gymnodiniaceae	<i>Gymnodinium</i> *
	Peridinales	Peridiniaceae	<i>Peridinium</i> *
<b>División: Euglenophyta</b>			
<b>Euglenophyceae</b>	Euglenales	Euglenaceae	<i>Euglena</i> * <i>Trachelomona</i> *
<b>División: Zygnematophyta</b>			
<b>Zygnematophyceae</b>	Desmidiales	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i>

La composición del fitoplancton identificado, demostró una modificación en la estructura poblacional de fitoplancton, producto de la eutrofización (Ledesma, Bonansea, Rodríguez y Sánchez, 2013), argumentados en diferentes periodos y estudios. Steinitz (1979) años atrás identificó en el lago Yahuarcocha al menos 10 géneros en cantidades considerables, donde los géneros más abundantes eran *Euglena sanguinea*, *Scenedesmus*, *Pediastrum*, *Synedra*, *Nitzschia*, *Cocconeis* y *Cymbella*. Luego Saelens (2015), en su estudio encontró la presencia de 43 géneros en Yahuarcocha, donde 23 pertenecían al filo Chlorophyta, 9 a Heterokontophyta, 2 a Dinophyta, 6 a Cyanophyta y 3 a Euglenophyta; donde el grupo dominante en marzo del 2014 fue el de las cianobacterias, luego en abril paso a ser dominado por las Chlorophytas y en junio, julio y agosto por

diatomeas. Finalmente, Caicedo (2016) es su investigación, identificó 42 géneros pertenecientes 23 al grupo de Chlorophyta, 8 a Bacillariophyta, 6 a Cyanophyta, 2 a Dinophyta y 2 a Euglenophyta, en este caso el grupo dominante fue el de las cianobacterias. Demostrando de esta manera los cambios poblacionales presenciados en el transcurso de los años.

En lo que respecta al experimento, en el transcurso del bioensayo, se identificaron dos nuevos géneros no registrados en estudios anteriores (Ochoa, 2017; Saelens, 2015; Steinitz, 1979) en el agua del lago Yahuarcocha, como son: *Apatococcus* y *Ankyra* del grupo de las Chlorophytas. Sin embargo, se han encontrado registros de estos géneros anteriormente en el lago San Pablo (Gunkel y Casallas, 2002; Caicedo, 2019). La aparición de estos dos nuevos géneros, pudo ser ocasionado posiblemente por el efecto de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, confirmando lo sugerido por Brownlee et al. (2003), quien observó cambios y aparición de nuevas especies en dos de sus tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* y además confirmó la susceptibilidad que tienen algunos taxones de fitoplancton, frente a la influencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare*.

- **Caracterización taxonómica de las microalgas del grupo Cyanophyta**

La caracterizar taxonómicamente de las microalgas de la división Cyanophyta, se basó en diferentes textos especializados como referencia. Llegando a describir hasta el nivel taxonómico más bajo posible, para este caso se logró identificar hasta género (Tabla 4).

**Tabla 4.** Caracterización taxonómica de la división Cyanophyta (cianobacterias), basado en la descripción de algunos autores

Género	Descripción taxonómica	Autores
<i>Anabaena</i>	Presenta filamentos solitarios, agrupados de manera libre, o esteras. Tricomas presentan una forma recta, curvos enrolados e irregulares, en ocasiones en paquetes, contraídos. Se desarrollan heterocistos solitarios e intercalados a cierta distancia. Las células son esféricas, cilíndricas cortas o largas de color verde azulado o amarillento verdoso brillante u opaco, con contenido granular. Heterocistos de forma ovalada, esférica o	Wehr, Sheath y Kociolek (2015) y Guamán y Gonzalez (2016)

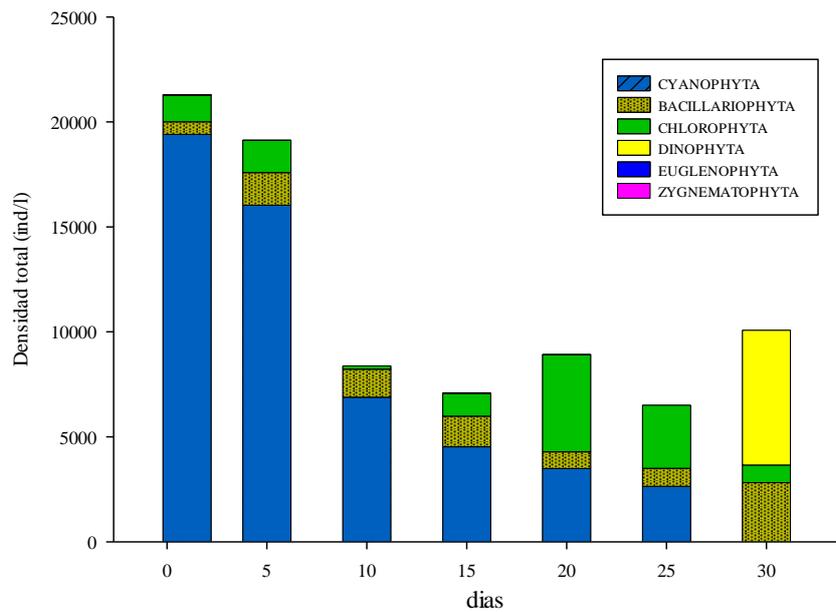
	<p>cilíndrica, generalmente más grandes que las células vegetativas.</p> <p>Acinétos esféricos, cilíndricos u ovalados, solitarios.</p>	
<i>Cylindrospermopsis</i>	<p>Tricomas simples, desnudos solitarios, sin ramificaciones, cilíndricos, delgados en los extremos</p> <p>Las células son cilíndricas a veces con aerótopos.</p> <p>Heterocistos ubicados en los extremos y acinetos lejanos o próximos a los heterocistos</p>	Aboal (2012) y Ochoa (2017)
<i>Chroococcus</i>	<p>Presentes en pequeñas colonias o unicelulares, con distintas vainas.</p> <p>Las células tienen forma circular con divisiones celulares en tres planos, con contenido homogéneo o granular, de color pálido o azul-verde brillante.</p>	Bellinger y Sigee (2010), Aboal (2012) y Guamán y Gonzalez (2016)
<i>Merismopedia</i>	<p>Colonias microscópicas, cuadradas, rectangulares, a veces onduladas, en ocasiones compuesta de subcolonias.</p> <p>Células esféricas o hemisférica de color azul-verde brillante, distribuidas en filas provistas de mucílago hialino que separa una colonia de otra.</p> <p>El mucílago es transparente e incoloro, en algunos casos cada célula tiene su propio mucilago</p>	Wehr y Sheath (2003) y UNESCO (2009)
<i>Microcystis</i>	<p>Colonias microscópicas y visibles al ojo humano con forma irregular, cuyas células se encuentran en ocasiones dispersas.</p> <p>Las células son redondeadas de color verde pálido o marrón, distribuidas indistintamente en el mucilago.</p> <p>El mucilago es transparente y fino delimitado por un amplio margen de células</p>	Wehr, Sheath y Kociolek (2015)
<i>Pseudanabaena</i>	<p>Presenta tricomas solitarios y fragmentados ubicados de manera recta, sin mucilago y los ápices son delgadas y redondeadas.</p> <p>Las células son cilíndricas más largas que anchas, sin constricciones en las paredes transversales</p>	UNESCO (2009) y Guamán y Gonzalez (2016)

<i>Sphaerocavum</i>	<p>Las colonias son microscópicas, huecas o con agujeros en la superficie.</p> <p>Las células son redondeadas, ligeramente alargadas en ocasiones y se distribuyen de manera más o menos esférica, cilíndrica o irregular.</p> <p>El mucílago hialino, incoloro y no sobrepasa el límite de las células</p>	Azevedo y Sant'Anna (2003) y Mendoza (2016)
<i>Spirulina</i>	<p>Los tricomas forman un cilindro enrollado en forma de espiral la cuales están separadas por espacios; el ancho es homogéneo en toda la longitud.</p> <p>Las células son pequeñas que anchas, son difíciles de distinguir de manera individual.</p> <p>Los filamentos carecen de heterocistos</p>	Arenas y Cortella (1996) y Bellinger y Sigee (2010)

#### 4.1.3 Estimación de la densidad en las comunidades fitoplanctónicas

Las comunidades fitoplanctónicas presentaron densidades superiores a 21 000 ind/l entre las muestras del día inicial (colectada en el lago Yahuarcocha) y el día 5, mientras que las menores densidades se registraron a los 25 días del experimento con 6500 ind/l.

La división Cyanophyta fue el grupo dominante durante los primeros 15 días del experimento con densidades amplias (entre 2600 y 19 400 ind/l). Luego de cumplirse 20 días del bioensayo hasta su finalización el grupo dominante cambió a la división de las Chlorophytas con densidades entre 4600 y 6400 ind/l. Por otro lado, las divisiones menos abundantes se mantuvieron estables y estaban conformadas por los grupos, Bacillariophyta (1000 ind/l) durante los 30 días, Euglenophyta, Dinophyta y Zygnematophyta con densidades entre 1 y 3 ind/l (Figura 15).



**Figura 15.** Densidad total de las divisiones taxonómicas de fitoplancton a lo largo del experimento

El cambio poblacional en la composición y abundancia del fitoplancton pudo deberse a las combinaciones de factores ambientales, biológicos y suministro de nutrientes, los cuales pueden ser demostrados en estudios de varios años como el realizado por Pollinger (1990). El cambio de dominancia en las especies, ocurrió de forma similar en el trabajo de Saelens (2015) donde el fitoplancton paso de una comunidad dominada por Chlorophytas o Bacillariophytas a una comunidad dominada exclusivamente por Cyanophytas principalmente por *Cylindrospermopsis*, atribuyéndole como principal factor al fósforo (P) y a la baja depredación del zooplancton. En el bioensayo implementado en este estudio, se descartó la posibilidad de que el suministro de nutrientes fuera el factor en el cambio composicional de individuos, debido a que se añadió nutrientes en el transcurso del experimento. Por lo que, se cree que el cambio composicional puede deberse a la presencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, al promover el crecimiento de Chlorophytas que se vieron favorecidas con la reducción de las cianobacterias. En estudios previos, se han observado estos cambios, pero en lugar de incrementar las poblaciones de Chlorophytas, incrementaron las poblaciones de Bacillariophytas (Brownlee et al., 2003; Fervier et al., 2019).

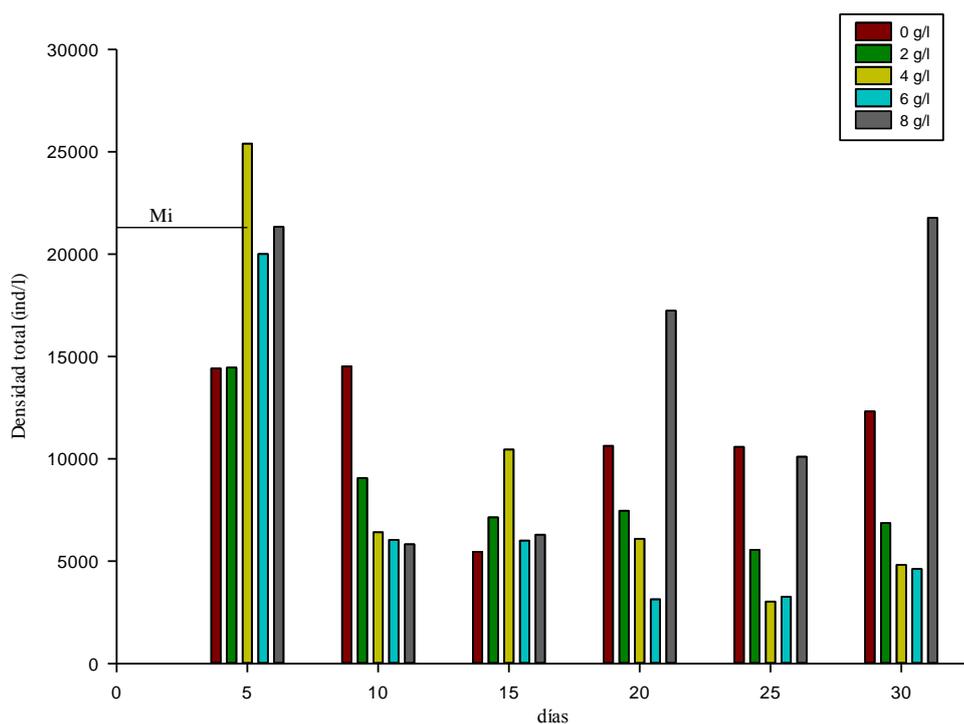
## **4.2 Análisis de la capacidad de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* en limnocorrales**

Los resultados encontrados expresan la capacidad que tiene la hojarasca de *Hordeum vulgare* en inhibir el crecimiento de microalgas, especialmente cianobacterias, provenientes del lago Yahuarcocha en el transcurso de treinta días, a través de un bioensayo expuesto a condiciones ambientales.

### **4.2.1 Efectos de los tratamientos de la hojarasca de *Hordeum vulgare* en el fitoplancton**

El fitoplancton en general sufrió cambios en su abundancia y composición al agregar hojarasca de *Hordeum vulgare*. Al analizar los datos se determinó que cumplen una distribución normal ( $p$ -valor = 0.89) y homocedasticidad ( $p$ -valor = 0.512). Es así como en el análisis estadístico Anova bifactorial aplicado, presentó diferencias significativas ( $p$ -valor = 0.00057) entre las dosis de hojarasca de *Hordeum vulgare* añadida y el tiempo de duración del bioensayo. Mostrando que la utilización de la hojarasca de *Hordeum vulgare* para el control de las poblaciones de fitoplancton, podría ser una alternativa para tener en cuenta.

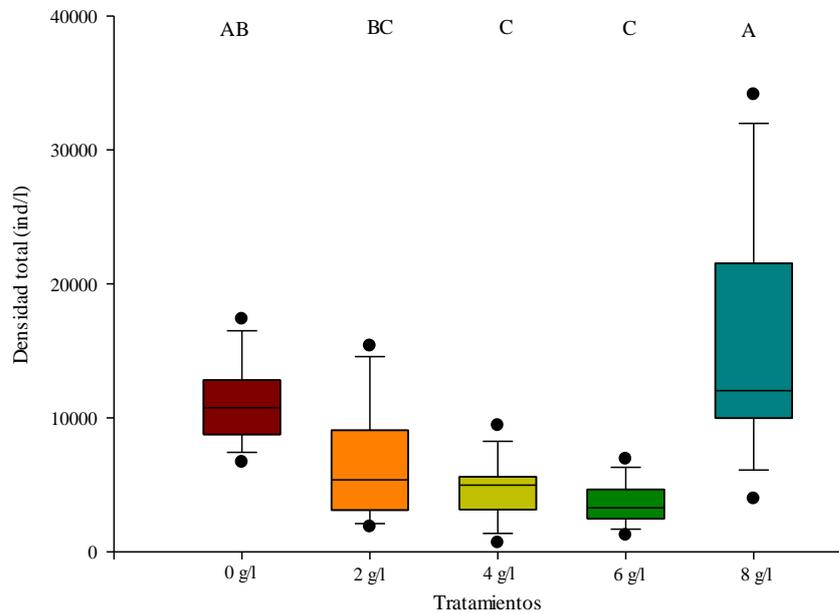
El test de Tukey indicó que la mayor capacidad de inhibición en el crecimiento de fitoplancton fueron generados por el tratamiento 2 (T2) con 4 g/l y tratamiento 3 (T3) con 6 g/l de hojarasca de *Hordeum vulgare*, alcanzando sus mejores rendimientos a los 20 y 25 días de ser insertada la hojarasca de *Hordeum vulgare*. El T2 disminuyó el fitoplancton a una densidad media de 2675 ind/l al cumplir 25 días, con respecto del testigo (0 g/l) que contenía 10 586 ind/l. Mientras que el T3 disminuyó la abundancia de microalgas a 2894 ind/l a los 20 días del experimento con respecto del testigo (10 634 ind/l). Los tratamientos que menos efectividad ejercieron en el control de microalgas fueron el tratamiento (T1) de 2 g/l y tratamiento 5 (T5) con 8 g/l de hojarasca de *Hordeum vulgare* (Figura 16).



**Figura 16.** Capacidad de inhibición del fitoplancton a través de los días de ejecución del experimento, en los tratamientos T1 (■), T2 (■), T3 (■) y T4 (■), con respecto del testigo (■) y densidad inicial (Mi = 21 296 ind/l)

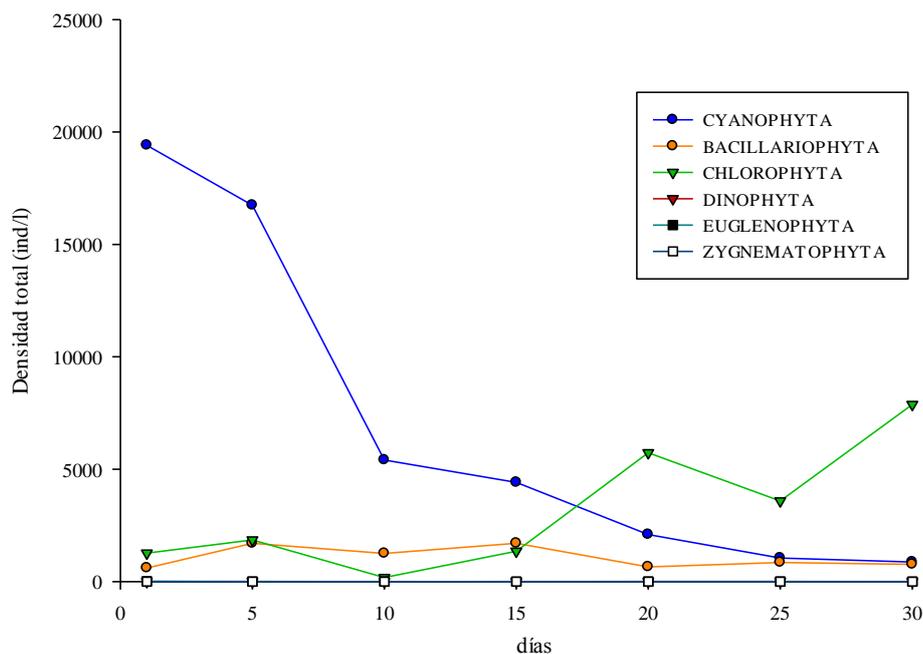
El potencial evidenciando en la inhibición de las microalgas, por el método de descomposición aerobia de hojarasca *Hordeum vulgare*, confirmó lo demostrado anteriormente por Gibson, Welch, Barrett y Ridge (1990) y Pillinger, Cooper y Ridge (1994). De igual manera se relacionó con lo reportado por Iredale et al. (2012) acerca de la liberación de la fracción inhibidora del crecimiento de fitoplancton, con la hojarasca de *Hordeum vulgare* entera, después de tres o más semanas de descomposición. Al igual que Spencer y Lembi (2007) quienes también indicaron que, para que la materia orgánica de la hojarasca de *Hordeum vulgare* en descomposición aerobia produzca cantidades suficientes del producto químico inhibidor para el control efectivo de las algas, toma de una a dos semanas cuando la temperatura del agua es superior a los 20°C, de lo contrario tomaría más tiempo, como en temperaturas frías menores a 10°C donde puede tomar de seis a ocho semanas. Las dosis de hojarasca de *Hordeum vulgare* añadidas por Gibson et al. (1990) y Ball et al. (2001), corresponden a los mejores tratamientos analizados en este estudio (de 4 y 6 g/l) en la capacidad de inhibición en el crecimiento de fitoplancton. Por lo contrario las dosis aplicadas según las recomendaciones de Cooper, Pillinger y Ridge, (1997) y Martin y Ridge (1999) no resultaron eficientes

en el control de fitoplancton, ya que a pesar de haber generado una reducción en las microalgas no fue significativa, ni la más óptima (Figura 17).



**Figura 17.** Comparación de la densidad total de fitoplancton entre los diferentes tratamientos T1 (2 g/l), T2 (4 g/l), T3 (6 g/l) y T4 (8 g/l) con respecto del testigo (0 g/l), a partir del día 20 hasta el día 30 del bioensayo

En el grupo de las Cyanophytas hubo una disminución en la densidad de microalgas en el T2 del 83, 98 y 96 % y en T3 del 93, 94 y 98 % con respecto del testigo, transcurridos 20, 25 y 30 días de haber insertado la hojarasca de *Hordeum vulgare*, respectivamente. Demostrando que por cada 10 ind/l hallados en el testigo, 9 ind/l se eliminaban por la influencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare* en ciertos casos. En el grupo de las Chlorophytas ocurrió lo contrario, donde hubo un incremento en la densidad de individuos con respecto al testigo en más del (3000 %) al pasar 15 días del experimento. Es decir que por cada 1 ind/l hallado en el testigo, existían 3000 ind/l en los tratamientos. Por otra parte, en los otros grupos no se generaron mayores cambios por efecto de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, donde las densidades de los individuos generalmente se mantuvieron estables (Figura 18).



**Figura 18.** Influencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare* en los grupos de microalgas (promedios de todos los tratamientos T1, T2, T3 y T4, a excepción del testigo)

Los resultados analizados en condiciones de laboratorio evidenciaron, que los grupos que en mayor medida se vieron influenciados por los efectos de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, fueron el grupo de las Cyanophytas y de las Chlorophytas (Tabla 5). Lo cual se sostiene con lo observado por Barrett, Littlejohn y Curnow (1999) quienes trataron con hojarasca de *Hordeum vulgare* a un suministro de agua potable con floraciones de cianobacterias, que contenían alrededor de 20 000 ind/l, y que se presentaban en épocas de verano. Donde luego de dos meses de suministrar hojarasca de *Hordeum vulgare*, disminuyó el número de fitoplancton (a 3000 ind/l) y el florecimiento de cianobacterias desapareció en comparación con años anteriores. Sin embargo, contrasta con el trabajo de Ferrier, Butler, Terlizzi y Lacutere (2005), ya que no presenciaron ningún cambio por efecto de la hojarasca, ni en las Cyanophytas (*Microcystis aeruginosa* y *Oscillatoria lutea*) ni Chlorophytas analizadas (*Scenedesmus quadricauda* y *Chlorella vulgaris*). Uno de los factores que pudo generar este cambio composicional en el bioensayo, es la inmovilización de fósforo (P) disuelto, producto de la microflora de la hojarasca de *Hordeum vulgare* sumergida, debido al incremento de la biomasa microbiana en el proceso de descomposición de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, lo cual está cuantitativamente asociado con el

agotamiento de fósforo (P) disuelto en el agua, mencionado por Wingfield et al. (1985). Limitando de esta manera el crecimiento de las cianobacterias y potenciando el de las Chlorophytas, que tienden a crecer en aguas con baja cantidad de nutrientes (Bellinger y Sigeo, 2010). Se conoce, que las comunidades fitoplanctónicas son susceptibles a los cambios físico-químicos, en el ambiente al que pertenecen (Coritoma et al., 2018). Este cambio composicional también pudo deberse, a una posible normalización de los niveles de nutrientes, especialmente del fósforo (P), provocando que las Cyanophytas sean fácilmente desplazadas por su competidor, las Chlorophytas (Burgos, 2013). Este cambio composición de dominio de Cyanophytas a Chlorophytas fue positivo, debido a que normalmente las Chlorophytas no producen densas floraciones en lagos mesotróficos y eutróficos (Bellinger y Sigeo, 2010), además no existe evidencia de ser productoras de toxinas, como en el caso de las cianobacterias (Wehr et al., 2015).

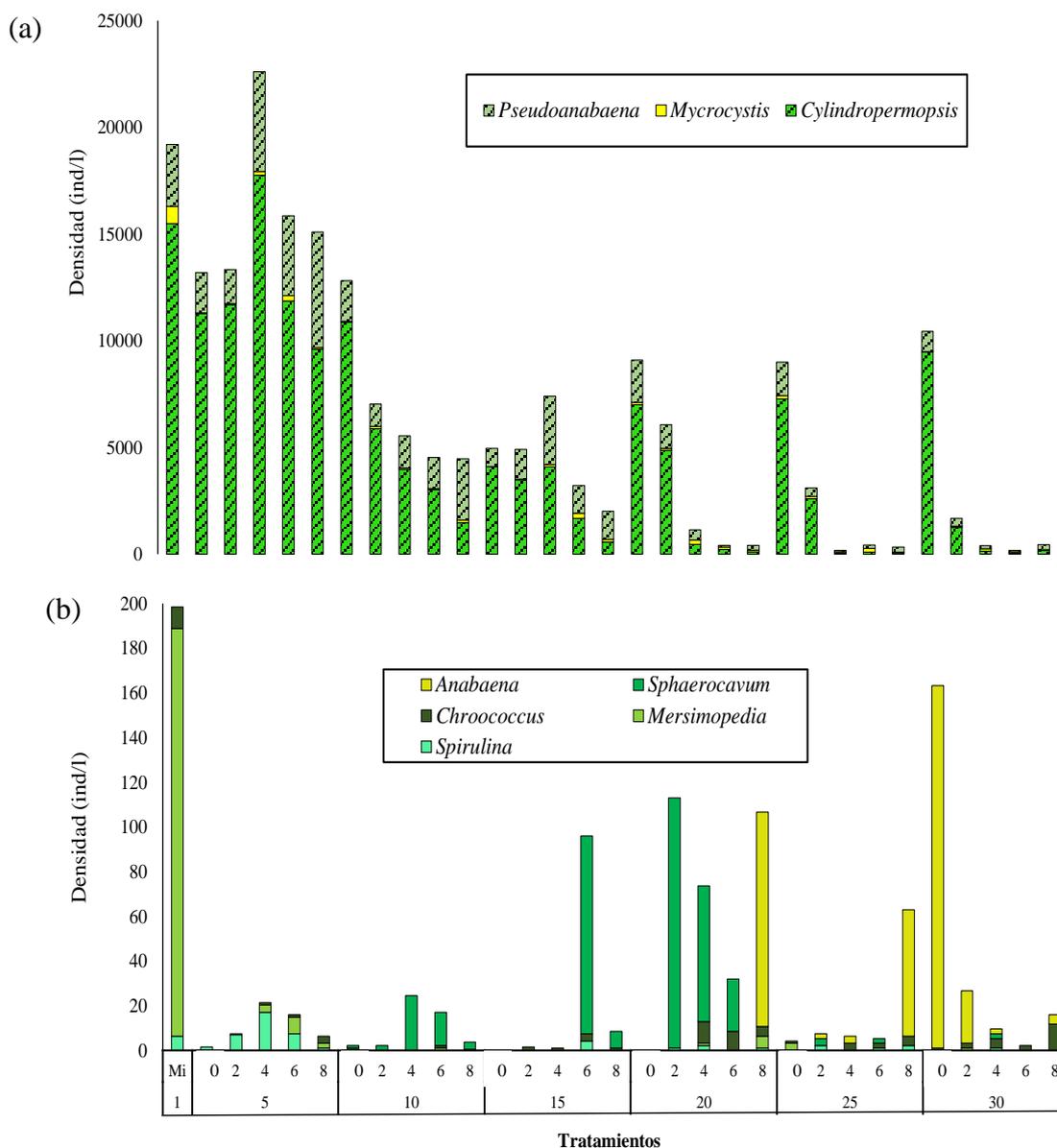
**Tabla 5.** Efectos de los tratamientos T2 con 4 g/l y T3 con 6 g/l de hojarasca de *Hordeum vulgare* en un periodo de treinta días, sobre los grupos de microalgas, expresados en ind/l y porcentaje (%) que demuestra el incremento (+) o reducción (-) de densidad del fitoplancton con respecto del testigo

Divisiones	Variable	día 5	día 10	día 15	día 20	día 25	día 30
Bacillariophyta	0 g/l	947	1668	488	1382	924	1146
	4 g/l	1706	752	2262	894	700	609
	%	+80	-54	+363	-35	-24	-47
	6 g/l	1814	1302	1573	362	396	330
	%	+91	-22	+222	-73	-57	-71
Chlorophytas	0 g/l	260	24	8	158	653	561
	4 g/l	1060	93	786	<b>379</b>	<b>2145</b>	<b>3738</b>
	%	+308	+288	+9725	<b>+ 140</b>	<b>+ 228</b>	<b>+566</b>
	6 g/l	2306	195	1125	<b>2331</b>	<b>2418</b>	<b>4107</b>
	%	+786	+713	>10 000	<b>+1375</b>	<b>+ 270</b>	<b>+632</b>
Cyanophyta	0 g/l	13 207	10 875	4958	6998	7280	10613
	4 g/l	22 627	5567	7410	<b>1216</b>	<b>180</b>	<b>467</b>
	%	+71	-49	+49	<b>-83</b>	<b>-98</b>	<b>-96</b>
	6 g/l	15 884	4543	3309	<b>443</b>	<b>442</b>	<b>181</b>
	%	+20	-58	-33	<b>-93</b>	<b>-94</b>	<b>-98</b>

Dinophyta	0 g/l	3	0	0	0	0	1
	4 g/l	2	0	1	5	0	0
	%	-33	0	+100	+500	0	-100
	6 g/l	2	0	0	0	1	0
	%	-33	0	0	0	+100	-100
Euglenophyta	0 g/l	1	0	0	0	0	0
	4 g/l	1	1	0	2	1	0
	%	0	+100	0	+200	+100	0
	6 g/l	1	1	0	1	0	0
	%	0	+100	0	+100	0	0
Zygnematophyta	0 g/l	1	0	0	0	0	0
	4 g/l	0	0	0	0	0	0
	%	-100	0	0	0	0	0
	6 g/l	0	0	0	0	0	0
	%	-100	0	0	0	0	0

#### 4.2.2 Evaluación de la capacidad de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* en la comunidad cianobacteriana

En la división Cyanophyta los géneros identificados presentaron densidades superiores a los 17 000 ind/l y menores a 3 ind/l en el transcurso del experimento. El género dominante fue *Cylindrospermopsis* con densidades promedio de (50 y mayores de 17 000 ind/l), seguido por el género *Pseudanabaena* (60 y superiores 5400 ind/l) y finalmente *Microcystis* (10 a 810 ind/l). También se identificaron otros géneros con densidades menores a 200 ind/l, en donde se destaca la aparición del género *Sphaerocavum* con densidades menores a 3 ind/l y mayores a 300 ind/l, y el género *Anabaena* con entre 2 y 160 ind/l a partir del día 10 y 20 respectivamente, identificados tanto en el testigo como en varios tratamientos (Figura 19).



**Figura 19.** a) Densidad y dominancia absoluta de los principales géneros de cianobacterias identificados en los tratamientos con dosis de (2, 4, 6 y 8 g/l) de hojarasca de *Hordeum vulgare* y testigo (0 g/l) durante 30 días b) Abundancia de otros géneros de las cianobacterias identificados en los tratamientos y testigo del bioensayo en el transcurso de la experimentación

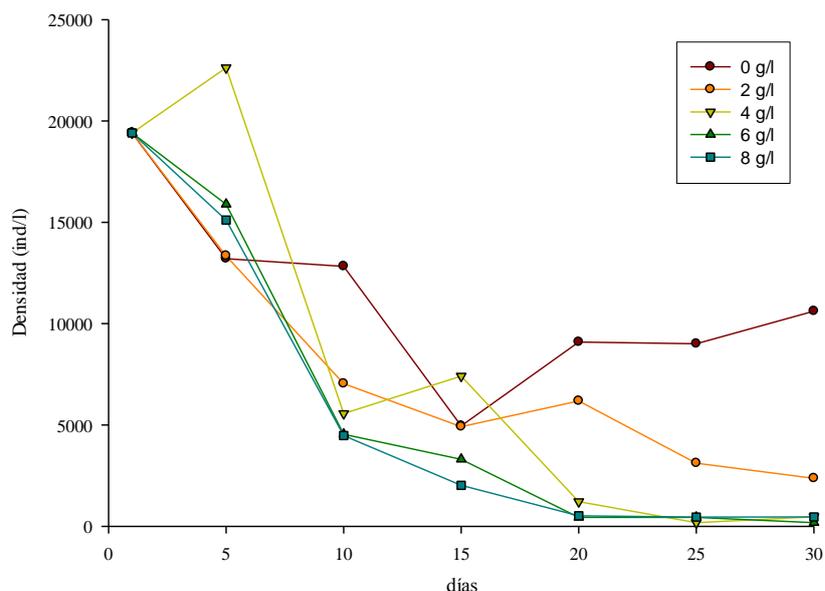
Los resultados obtenidos reflejaron el bloom de cianobacterias al que está sometido el lago Yahuarcocha, donde el género *Cylindrospermopsis* es el principal precursor de las floraciones al ser el género más abundante. Afirmando de esta manera lo dicho por Van Colen et al. (2017), quien evidenció las floraciones de *Cylindrospermopsis* en el lago, a través de concentraciones de echinona, que es un pigmento indicador de cianobacterias. Además, ejecutó un análisis de biomasa de *Cylindrospermopsis*, indicando que la floración de este

género produjo toxinas de cilindrospermopsina por encima del límite entre 525 y 1584  $\mu\text{g/g}$ , lo cual podría causar graves enfermedades como la dermatitis en los humanos que frecuentan Yahuarcocha.

Por otro lado el género *Anabaena* no fue identificado en las muestra de agua del lago a excepción de un testigo del experimento al pasar 30 días, a pesar de ser registrado en anteriores estudios (Saelens, 2015; Caicedo, 2016), en donde incluso fue el género dominante, conformando el 40% del total de individuos identificados. Únicamente fue encontrado en algunas muestras que contenían hojarasca de *Hordeum vulgare*, difiriendo con la susceptibilidad del género *Anabaena* frente a la cebada, señalado por Martin y Ridge (1999). En el caso del género *Sphaerocavum* se registró por primera vez en el trabajo de Ochoa (2017) y se vio potenciado por la influencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, lo cual no se ha registrado en anteriores estudios.

La comunidad cianobacteriana demostró una distribución normal (p-valor = 0.089) y homocedasticidad (p-valor = 0.62) en sus datos. Razón por el cual se aplicó el análisis estadístico Anova bifactorial que demostró una diferencia significativa (p-valor =  $< 0.0001$ ) entre los tratamientos.

Los datos analizados con el test de Tukey indicaron que los tratamientos que mayor influencia tuvieron en la inhibición del crecimiento de la división Cyanophyta fueron el T2, alcanzando su mejor rendimiento al pasar 25 días, reduciendo la comunidad de cianobacterias a una densidad media de (180 ind/l) con respecto del testigo (9009 ind/l). El segundo tratamiento que mayor efecto inhibitorio provocó fue el T3, disminuyendo gran cantidad de individuos durante los días 25 y 30 a una densidad de (442 y 181 ind/l) respectivamente, a comparación con el testigo (9009 y 10 613 ind/l). Los tratamientos que menor efectividad generaron en la inhibición de las cianobacterias fueron el T4 y T1 (Figura 20).



**Figura 20.** Efectos de los tratamientos de hojarasca de *Hordeum vulgare*, T1 (—○—), T2 (—▽—), T3 (—▲—) y T4 (—■—) con respecto del testigo (—●—), en la división Cyanophyta

La descomposición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* especialmente de los T2 y T3, inhibió el crecimiento de las cianobacterias, en condiciones de laboratorio (Tabla 6). Esto contradice al informe de Ferrier et al. (2005) y Fervier et al. (2019), quienes concluyeron que la aplicación de hojarasca de *Hordeum vulgare* no tuvo ningún efecto en el crecimiento de algas filamentosas o planctónicas. Motivo por el cual el bioensayo ejecutado, se apoyó con lo observado en campo por Barrett et al. (1996), que trataron con hojarasca de *Hordeum vulgare* durante dos años a un reservorio de agua potable, con un historial de blooms de cianobacterias en verano, el cual fue eliminado y mantuvo estable el número de células. También Newman y Barrett (1993), quienes sugirieron que particularmente el grupo Cyanophyta es susceptible a la descomposición de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, lo cual se visualizó en los resultados del experimento.

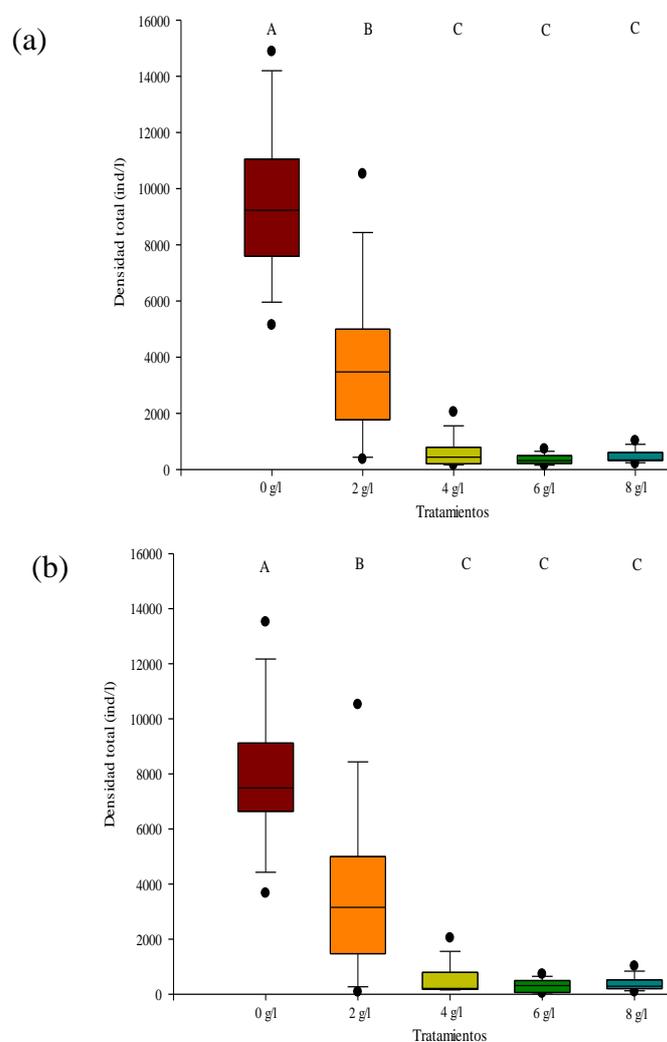
**Tabla 6.** Efectos de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* en un periodo de treinta días, sobre los grupos de cianobacterias, expresados en (ind/l)

Días	0 g/l	2 g/l	4 g/l	6 g/l	8 g/l
1	19 405	-----	-----	-----	-----
5	13 2067	13 342	22 627	15 884	15 110
10	12 828	7036	5567	4542	4476

15	4958	4917	7409	3309	2023
20	9094	6188	1216	443	517
25	9009	3112	<b>180</b>	<b>442</b>	455
30	10 613	2366	467	<b>181</b>	463

#### 4.2.2.1 Inhibición del crecimiento de los géneros *Cylindrospermopsis*, *Microcystis* y *Pseudanabaena* por influencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare*

Los resultados de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* que influyeron en el crecimiento de los géneros más representativos de la comunidad cianobacteriana se expresa a continuación (Figura 21):

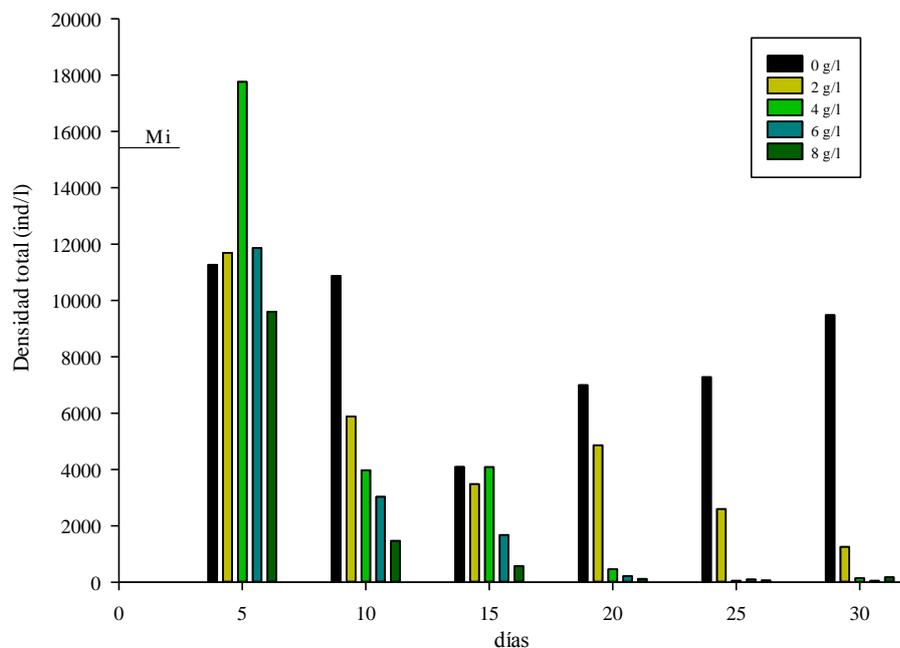


**Figura 21.** Comparaciones de las densidades acumuladas de los tratamientos T1 (2 g/l), T2 (4 g/l), T3 (6 g/l) y T4 (8 g/l) con respecto del testigo (0 g/l), a partir del día 20 hasta el día 30 de experimentación: a) la división Cyanophyta y b) género *Cylindrospermopsis*

- **Género *Cylindrospermopsis***

Los datos obtenidos del género *Cylindrospermopsis* presentó una distribución normal (p-valor = 0.849) y homocedasticidad (p-valor = 0.244). Además, demostraron diferencias significativas (p-valor = < 0.0001) entre los tratamientos del bioensayo.

El test de Tukey determinó que los tratamientos con mayores efectos en la inhibición del género *Cylindrospermopsis* fueron el T2, T3 y T4, reduciendo a partir del día 20 (a 459, 220 y 119 ind/l) respectivamente, en relación con el testigo (6998 ind/l). El máximo rendimiento inhibitorio tuvo, el T2 alcanzado a los 25 días de añadida la cebada, reduciendo a una densidad media de 55 ind/l equivalente al 99% en comparación con el testigo (7280 ind/l). El T3 disminuyendo de igual manera el 99% del generó con respecto al testigo, quedando una densidad media de 51 ind/l a los 30 días de colocado el bioensayo con respecto del testigo (9482 ind/l). Finalmente, el T4 al cumplir 25 días de haber insertada la hojarasca de *Hordeum vulgare* eliminó también, el 99% de los individuos obteniendo una densidad media de 65 ind/l con respecto del testigo (Figura 22).



**Figura 22.** Influencia de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare*, T1 (■), T2 (■), T3 (■) y T4 (■), con respecto del testigo (■) y densidad inicial (Mi = 15 498 ind/l), en el crecimiento de *Cylindrospermopsis*

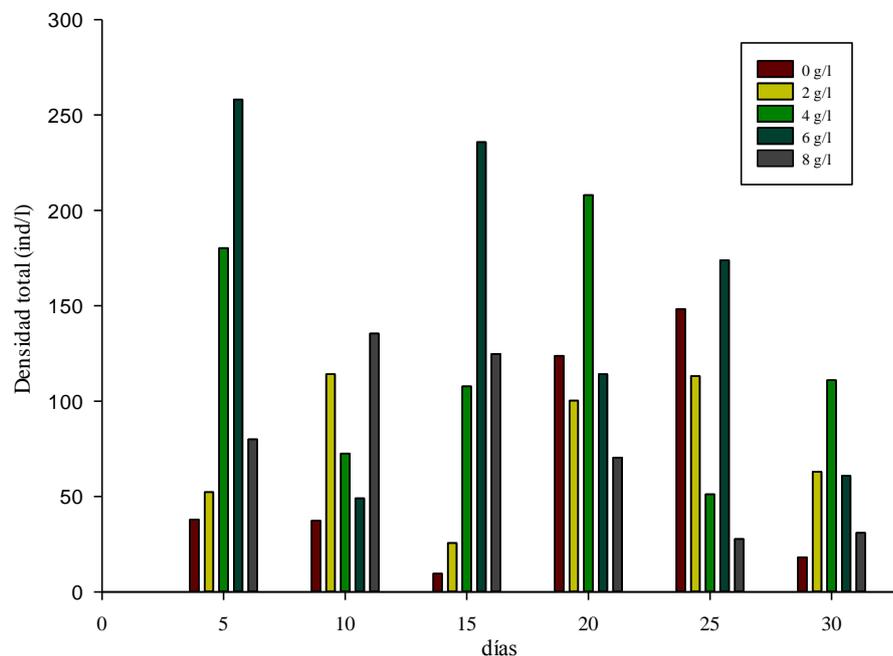
La descomposición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* de todos los tratamientos, incluso el T1, controlaron e inhibieron el crecimiento de la microalga filamentosa *Cylindrospermopsis* en condiciones de laboratorio (Tabla 7). Lo cual contradice el estudio de Fervier et al. (2019) quienes indicaron que en el experimento que desarrollaron, no se observó ningún efecto notable en la biomasa de algas filamentosas. Por otro lado los resultados obtenidos en el bioensayo afirmó lo realizado en trabajos posteriores de Gibson et al. (1990) y Welch et al. (1990) quienes, estudiaron los efectos de la hojarasca de *Hordeum vulgare* tanto en campo como en laboratorio, donde la presencia de la hojarasca en proceso de descomposición redujo la cantidad de algas filamentosas hasta en un 90% en comparación con las muestras que no presentaban hojarasca de *Hordeum vulgare*. Los resultados demostraron la susceptibilidad de *Cylindrospermopsis* ante la presencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, lo cual no se ha visualizado en anteriores investigaciones. Por lo que, aparentemente es la primera vez que se demuestra en esta investigación, la influencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare* en el género *Cylindrospermopsis*. Sin embargo se han realizado pruebas a géneros de la misma clase como *Oscillatoria* y *Anabaena*, que demostraron ser resistentes al efecto de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* (Martin y Ridge, 1999).

- **Género *Microcystis***

Los datos del género *Microcystis* presentaron una distribución normal (p-valor = 0.548) y homocedasticidad (p-valor = 0.550). Además, el análisis Anova bifactorial, mostró diferencias significativas (p-valor = 0.0101) entre las dosis de hojarasca de *Hordeum vulgare* aplicada y los días transcurridos del experimento.

La muestra inicial obtuvo una densidad de 810 ind/l, la cual luego de 5 días se redujo a 38 ind/l. Los tratamientos y días en los que la hojarasca de *Hordeum vulgare* registró la mayor influencia en el crecimiento de *Microcystis* fueron: el T4 con mayor efecto inhibitorio después de 25 días de insertada la hojarasca, disminuyendo la densidad media a 28 ind/l con respecto del testigo (148 ind/l), equivalente a una reducción del 81 %. El segundo tratamiento exitoso fue el T2,

disminuyendo 67% de los individuos a los 25 días, dejando una densidad media de 51 ind/l con respecto del testigo (Figura 23).



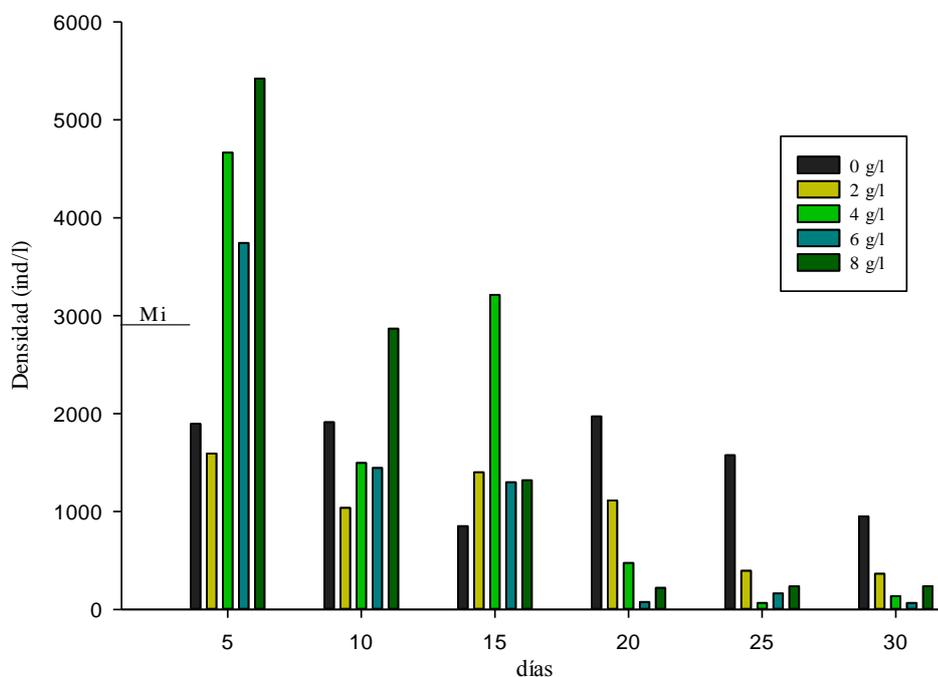
**Figura 23.** Incidencia de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare*, T1 (■), T2 (■), T3 (■) y T4 (■), con respecto del testigo (■), sobre el género *Microcystis*

Los resultados demostraron que los T2 y T4 redujeron el número de individuos del género *Microcystis*, demostrando la capacidad de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* al descomponerse (Tabla 7). El género *Microcystis*, se ha evaluado y analizado en diferentes estudios como los realizados por Murray, Jefferson, Jarvis y Parsons (2009) y Waybright, Terlizzi y Ferrier (2009), indicando la susceptibilidad de *Microcystis*, al verse influenciado por los fenólicos oxidados, compuesto generados al descomponerse la hojarasca de *Hordeum vulgare*. De igual manera Ferrier et al. (2005) a pesar de no haber encontrado diferencias significativas en su estudio con la hojarasca, constató la susceptibilidad de *Microcystis aeruginosa* frente a la hojarasca de *Hordeum vulgare* tanto en el campo como en el laboratorio. En el bioensayo aplicado, el tratamiento (T4) en el que se añadió mayor cantidad de hojarasca de *Hordeum vulgare* (8 g/l), fue donde se registró la mayor reducción de individuos, seguido por T2 (4 g/l). Mientras que, el T3 (6 g/l) a pesar de haber tenido influencia en la mayor parte de bioensayo en el control del fitoplancton, en este caso no tuvo mayor efecto en la inhibición de *Microcystis*.

- **Género *Pseudanabaena***

El género *Pseudanabaena* presentó una distribución normal (p-valor = 0.247) y homocedasticidad (p-valor = 0.529) en sus datos. A su vez el análisis estadístico Anova bifactorial demostró diferencias significativas (p-valor = < 0.0001), tanto entre tratamientos como entre días del experimento.

El test de Tukey demostró, que las dosis de hojarasca de *Hordeum vulgare* y días que mayor influencia tuvieron en el control del crecimiento de género *Pseudanabaena*, fueron el T3 alcanzado su máximo potencial a los 20, 25 y 30 días de transcurridos el experimento, disminuyendo alrededor del 96, 90 y 93 % de individuos equivalente a una densidad media de 67, 163 y 77 ind/l, respectivamente, teniendo como referencia el testigo (1972, 1577 y 950 ind/l). De la misma manera el T2 redujo cerca del 95 y 86 % a los 25 y 30 días del experimento, equivalente a una densidad media de 67 y 137 ind/l, respectivamente con respecto del testigo (1577 y 950 ind/l). También el T4 redujo el 89 y 85% de individuos (221 y 236 ind/l) a pasar 20 y 25 días con respecto del testigo (Figura 24).



**Figura 24.** Inhibición del crecimiento de *Pseudanabaena* por efecto de los tratamientos T1 (■), T2 (■), T3 (■) y T4 (■), con respecto del testigo (■) y densidad inicial (Mi = 2899 ind/l)

Los tratamientos T2, T3 y T4 inhibieron el crecimiento de la microalga filamentosa *Pseudanabaena*, logrando su mejor rendimiento después de los 20 días de insertar la hojarasca de *Hordeum vulgare* (Tabla 7). Esto se diferencia con lo mencionado por Brownlee et al. (2003), ya que, en el experimento que aplicaron, no detectaron cambios significativos en el crecimiento de *Pseudanabaena*. No obstante el estudio realizado se apoyó con lo observado en campo por Caffrey y Monahan (1999), quienes suprimieron el crecimiento de algas filamentosas de los canales Irlandeses, mediante ensayos con hojarasca de *Hordeum vulgare*. Para lo cual se implantaron pacas de hojarasca de *Hordeum vulgare* a lo largo de las orillas, eliminando la cantidad de biomasa de algas filamentosas desde el momento que fue introducida la hojarasca en comparación con la sección no tratada que presentó 113 g m<sup>-2</sup> entre los meses de febrero y marzo. En este estudio se confirmó la susceptibilidad de otro género como es *Pseudanabaena*, frente al efecto de la hojarasca de *Hordeum vulgare* al descomponerse. Solamente Brownlee et al. (2003) y el bioensayo realizado en esta investigación han analizado este género.

**Tabla 7.** Densidad media (expresada en ind/l y %) de los géneros *Cylindrospermopsis* (Cyl), *Microcystis* (Myc) y *Pseudanabaena* (Pse), bajo la influencia de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* más significativos, donde (-) es reducción y (+) es incremento de la densidad de individuos

		<b>Cianobacterias</b>					
Tratamientos	Día	<b>Géneros</b>					
		Cyl		Myc		Pse	
			%		%		%
Testigo (T <sub>0</sub> )	5	11 271	100	38	100	1896	100
	20	6998	100	124	100	1972	100
	25	7280	100	148	100	1577	100
	30	9482	100	18	100	950	100
T1= 2 g/l	5	11 691	+ 4	52	+36	1592	-16
	20	4863	-30	100	-19	1111	-43
	25	2597	-64	113	-24	395	-75
	30	1257	-86	63	+250	365	-62
T2= 4 g/l	5	17 761	+58	180	+374	4665	+146
	20	459	-93	208	+68	476	-75
	<b>25</b>	<b>55</b>	<b>-99</b>	<b>51</b>	<b>-65</b>	<b>67</b>	<b>-95</b>
	30	146	-98	111	+516	<b>137</b>	<b>-86</b>
T3= 6 g/l	5	11 866	+5	258	+578	3744	+97
	20	220	-97	114	-8	<b>77</b>	<b>-96</b>
	25	99	-98	174	+18	163	-90
	<b>30</b>	<b>51</b>	<b>-99</b>	31	+72	<b>67</b>	<b>-93</b>

T4= 8 g/l	5	9602	-15	80	+111	5422	+186
	20	119	-98	70	-44	221	-89
	25	65	-99	28	-81	236	-85
	30	178	-98	31	+72	238	-75

### 4.3 Relación de la incidencia de las variables físico-químicas del agua del lago Yahuarcocha, en la eficiencia de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* sobre el fitoplancton, especialmente cianobacterias

Los resultados analizados demuestran cuales fueron las variables físico-químicas del agua de lago Yahuarcocha, que incidieron en la eficiencia de inhibición de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* sobre el fitoplancton, especialmente cianobacterias. Paralelamente, se presentaron las mediciones de los parámetros físico- químicos y se estimó indirectamente la biomasa de las comunidades fitoplanctónicas, a través clorofila-*a* extraída (expresada en µg/ l) y clorofila-*a* en vivo (expresada en RFU) del bioensayo.

#### 4.3.1 Medición de los parámetros físico-químicos del agua del lago Yahuarcocha

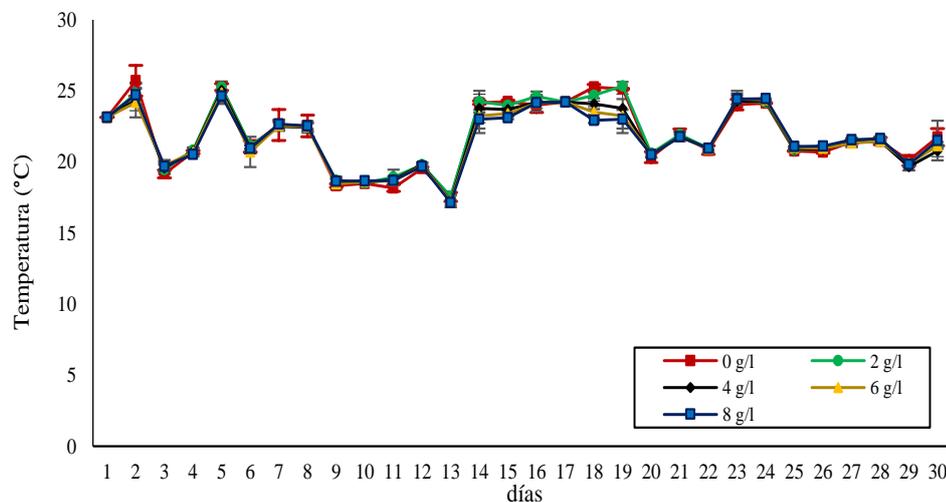
Los datos obtenidos de los parámetros físico-químicos, temperatura (Temp), potencial hidrógeno (pH), conductividad (Cond) y oxígeno disuelto (OD), bajo la influencia de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare*, fueron medidos y analizados como se demuestran a continuación (Tabla 8):

**Tabla 8.** Estadística descriptiva de los parámetros físico-químicos del testigo (0 g/l) y los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* aplicado, donde se expresa el valor promedio y desviación estándar

Tratamientos	Temp (°C)	pH	Cond (µS/cm)	OD (mg/l)
0 g/l	21.50 (± 2.38)	7.30 (± 2.10)	658.78 (± 65.55)	6.40 (± 3.68)
2 g/l	21.89 (± 2.26)	6.59 (± 2.04)	735.68 (± 89.62)	4.75 (± 3.68)
4 g/l	21.30 (± 2.14)	6.33 (± 2.17)	779.93 (± 91.85)	3.18 (± 2.47)
6 g/l	21.63 (± 2.09)	6.04 (± 2.19)	803.77 (± 111.60)	2.14 (± 1.86)
8 g/l	21.64 (± 2.05)	5.87 (± 2.21)	839.44 (± 101.81)	1.52 (± 0.99)

- **Temperatura (Temp)**

La temperatura del agua del lago Yahuarcocha, registró un promedio de 21.79 °C durante el tiempo de duración del experimento. El testigo registró la máxima temperatura dentro del bioensayo en el día 2 con 26.91°C, con respecto a los tratamientos. Por otro lado, el tratamiento que mayor temperatura registró fue T1 con 25.69 °C en el día 19 y los que menor temperatura presentaron fueron el T2, T3 y T4 (17 °C) en el día 13 del experimento. Los mejores tratamientos (T2 y T3) en la inhibición de microalgas obtuvieron una temperatura promedio de 21.30 °C y 21.63 °C durante el experimento (Figura 25).



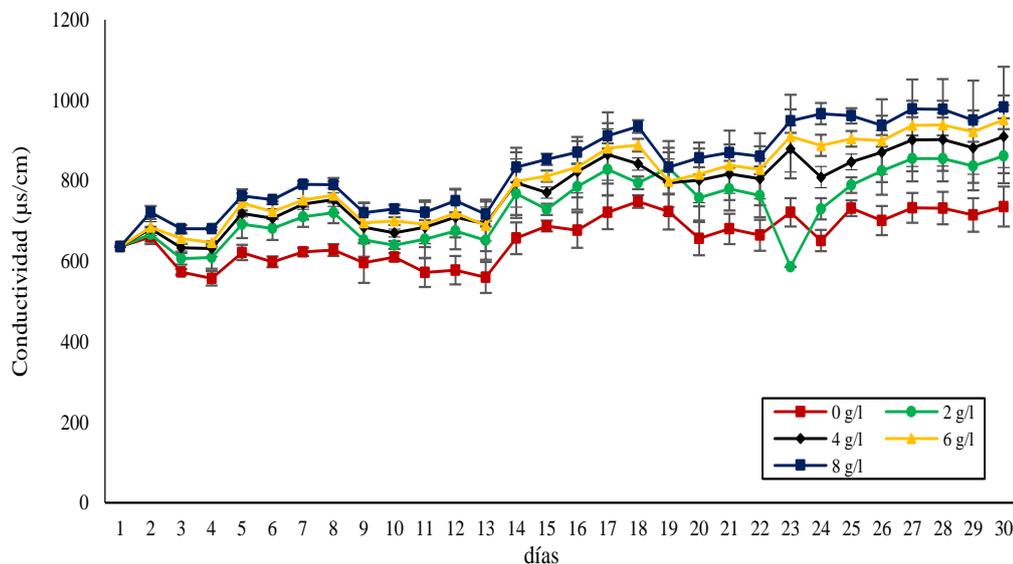
**Figura 25.** Valores de temperatura de los tratamientos T1 (→), T2 (←), T3 (+) y T4 (—), respecto del testigo (—), durante los treinta días de experimentación

La temperatura de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* con respecto del testigo no presentó mayores variaciones, ya que generalmente tanto el testigo como los tratamientos mantuvieron una temperatura promedio similar superior a los 20 °C. Esto corresponde a lo sugerido por Spencer y Lembi (2007), quienes indicaron que el proceso de descomposición de hojarasca de *Hordeum vulgare* y producción del químico inhibidor, depende de la temperatura del agua, ya que ocurre de manera más rápida en aguas cálidas. Por lo que se puede requerir solamente de una o dos semanas para la producción del agente inhibidor, cuando la temperatura del agua es superior a los 20 °C. También, Newman (1999) mencionó que presentar una temperatura alta (20 °C) en el agua es importante en la descomposición de la hojarasca de *Hordeum vulgare*. En el caso del bioensayo

aplicado se requirió de tres a cinco semanas con una temperatura promedio de 21.72 °C, para que la hojarasca de *Hordeum vulgare* se descomponga y libere el químico inhibidor de microalgas.

- **Conductividad (Cond)**

La conductividad promedio durante los 30 días del experimento fue de (759.32  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). El testigo reportó la conductividad promedio más baja (531  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) y la más alta fue del T4 (1012  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). Mientras que los tratamientos (T2 y T3) con mejor rendimiento en el control de fitoplancton registraron conductividades promedio de 779.93 y 803.77  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , respectivamente (Figura 26).



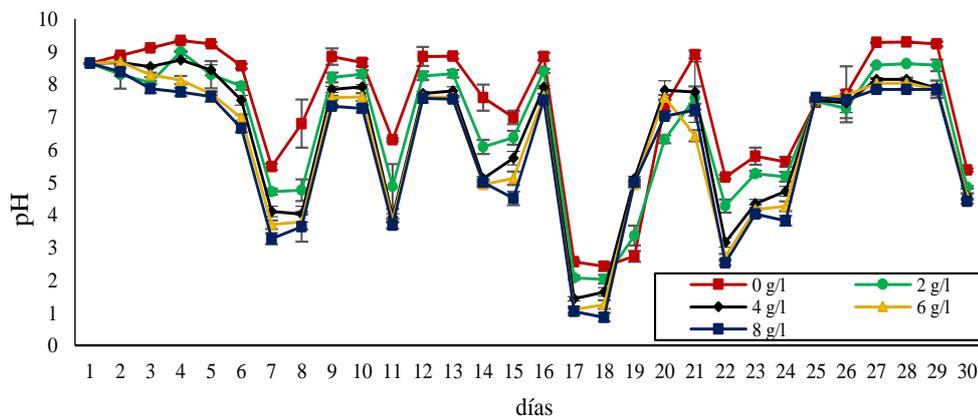
**Figura 26.** Valores de conductividad de los tratamientos T1 ( $\blacktriangleleft$ ), T2 ( $\blacktriangleleft$ ), T3 ( $\blacktriangleleft$ ) y T4 ( $\blacktriangleleft$ ), con respecto del testigo ( $\blacktriangleleft$ ), durante el periodo de experimentación

La conductividad del agua del lago Yahuarcocha (636  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) registrada en la muestra inicial del día uno, fue más alta que la registrada en estudio de Mandonx (2014), quien obtuvo una conductividad de 457.3  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y Portilla (2015) quien también registró 497.86  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Demostrando la gran cantidad de contenido iónico acuoso que presenta el lago Yahuarcocha. Lo que refleja la calidad de agua, ya que cuanto menor es la conductividad, más pura es el agua (Wetzel, 2001). En el bioensayo aplicado exhibieron una mayor conductividad los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare*, con relación al testigo y la muestra inicial, debido

a la adición de un elemento externo o alóctono como es el material vegetal de la cebada; lo cual quizá condujo a un incremento iónico en el agua de los tratamientos (Nyakoojo y Byarujali, 2010). Esto, posiblemente debido a un incremento del carbono orgánico disuelto en el agua, producto de la descomposición de la hojarasca (Pillinger et al., 1994).

- **Potencial hidrógeno (pH)**

En el periodo de aplicación del bioensayo la muestra inicial de agua del lago Yahuarcocha y el agua del testigo presentaron un pH promedio alcalino de 8.64 y 7.30 respectivamente. Por lo contrario, los tratamientos registraron un pH promedio ácido, donde el T4 fue el que mayor acidez presentó (5.87), de igual manera los tratamientos (T2 y T3) considerados como los mejores en el control de crecimiento de fitoplancton obtuvieron un pH de 6.33 y 6.04, respectivamente (Figura 27).



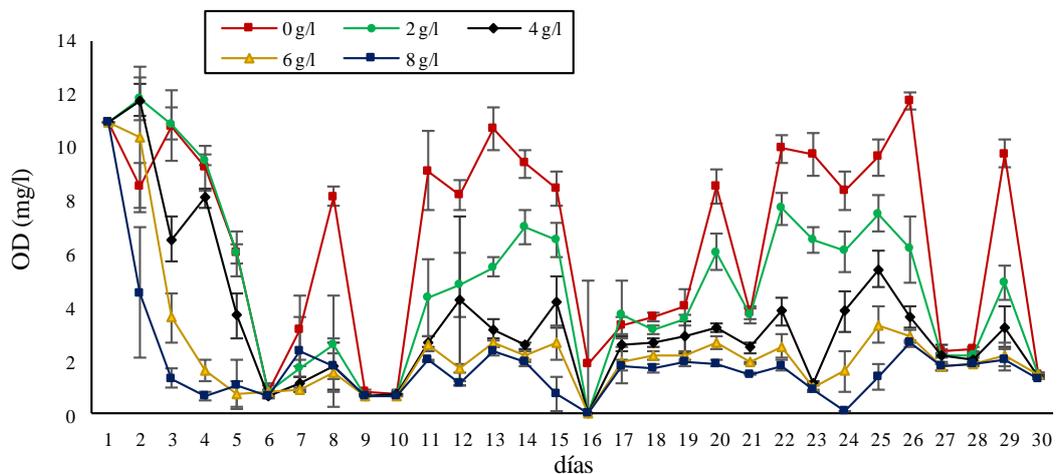
**Figura 27.** Valores del pH del testigo (—+—) y los tratamientos T1 (—+—), T2 (—+—), T3 (—+—) y T4 (—+—), durante el periodo de aplicación del bioensayo

El agua del lago Yahuarcocha presentó un pH alcalino, de similar manera que en anteriores estudios, como los realizados por Steinitz et al. (1979) y Mandonx (2014), que registraron un pH promedio de 8.8, al igual que Portilla (2015) quien reportó un pH de 8.91. En lo que respecta al bioensayo, se visualizó un pH ácido en los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare*, en comparación con el testigo quien obtuvo un pH alcalino. Esto, generado posiblemente, por una reacción entre la luz solar, oxígeno y la hojarasca de *Hordeum vulgare*,

produciendo peróxidos de hidrógeno, mencionado en el reporte de Newman (1999). También se destacó el pH ideal que presentó el agua de Yahuarcocha, para la aplicación del método por descomposición aerobia de material vegetal en el control de microalgas, ya que la lignina de la hojarasca de *Hordeum vulgare* es un importante contribuyente del potencial inhibitor, el cual se oxida más fácilmente en el agua con condiciones básicas como la registrada en el lago Yahuarcocha (Pillinger et al., 1994). Lo cual pudo contribuir en el control de microalgas.

- **Oxígeno disuelto (OD)**

El testigo presentó la mayor cantidad de OD (6.4 mg/l) en la experimentación, mientras que el menor valor presentó el T4 (1.52 mg/l). Los tratamientos (T2 y T3) que mayor influencia tuvieron en el fitoplancton registraron valores de 3.18 y 2.14 mg/l. El día 16 se registró una sustancial reducción del OD para todos los tratamientos obteniendo valores de 0.01 mg/l (Figura 28).



**Figura 28.** Valores del OD del testigo (+) y los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare*, T1 (→), T2 (→), T3 (→) y T4 (→), durante el periodo de aplicación del bioensayo

Los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* obtuvieron una menor cantidad de OD, en comparación con el testigo. El consumo de OD en los tratamientos se cree que fue ocasionado probablemente, por el proceso de degradación microbiana de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, el cual es un proceso que consume oxígeno (Boehrer y Schultze, 2008). Además, se sustenta con el trabajo de Wingfield et al. (1985), quienes observaron un incremento de la

biomasa microbiana, como consecuencia de la microflora de la hojarasca de *Hordeum vulgare* añadida, limitando el crecimiento de cianobacterias. Por lo que se consideró que los resultados obtenidos en este experimento fueron positivos, debido a la probable presencia microbiana tanto endógena como exógena, lo cual pudo incrementar el potencial inhibitor de la hojarasca de *Hordeum vulgare* (Iredale et al., 2012). Otro posible factor que pudo reducir la cantidad de OD en los tratamientos con *Hordeum vulgare*, fue quizá un incremento de nutrientes como el carbono orgánico disuelto en el agua, producto de la descomposición de la hojarasca (Pillinger et al., 1994), lo cual pudo generar un posible agotamiento del OD (Xu et al., 2010) o por lo descrito por Roldán y Ramírez (2008), quienes sugirieron que el principal factor de consumo del OD, es la oxidación de la materia orgánica provocada por la respiración de los microorganismos descomponedores o por la descomposición química de materia orgánica producto de la luz ultra violeta como la que emite el sol. Estos eventos pudieron ocurrir en el bioensayo desarrollado, debido a que se añadió materia orgánica y se expuso a la luz solar.

#### **4.3.2 Estimación indirecta de la biomasa de las comunidades fitoplanctónicas, a través de la clorofila-*a* extraída (Cl-*a* EX) y clorofila-*a* en vivo (Cl-*a* EV)**

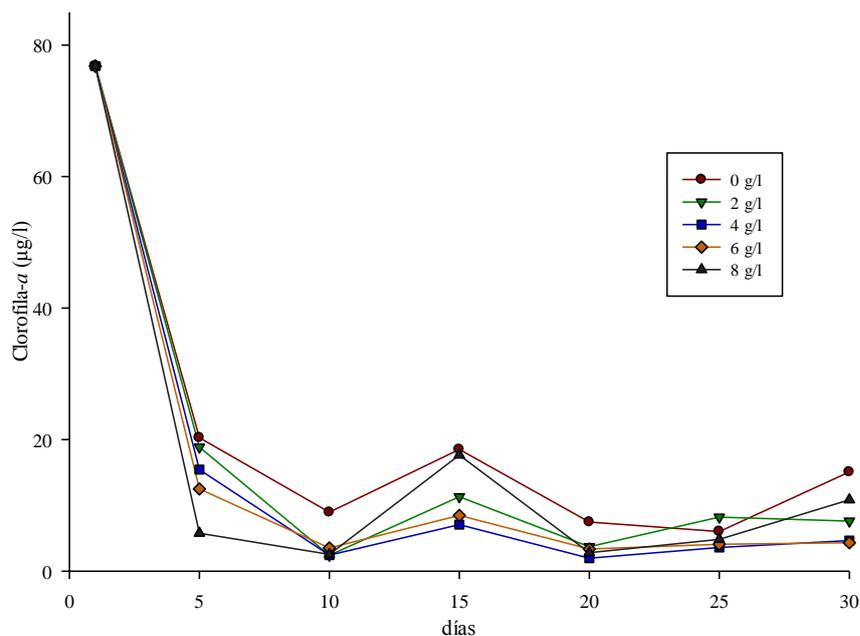
Los datos obtenidos de la clorofila-*a* en vivo y extraída fueron analizados para determinar si existieron cambios o variaciones significativas en los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* con respecto a los testigos, lo cual se demuestra a continuación:

- **Clorofila-*a* extraída (Cl-*a* EX)**

Los datos de la clorofila extraída presentaron una distribución normal (p-valor = 0.78) y homocedasticidad (p-valor= 0.46). Además, los tratamientos presentaron diferencias significativas (p-valor = 0.038) entre las dosis aplicadas y los días. La muestra inicial de clorofila-*a* obtenida directamente del lago Yahuarcocha, no se tomó en cuenta en el análisis y presentó un valor de 76.80 µg/l, la cual luego de 5 días se redujo drásticamente a 20.28 µg/l visualizado en el testigo (0 g/l). Donde,

a pesar de lo ocurrido, se demostró al igual que en los anteriores análisis, que el T2 y T3 fueron los mejores al reducir la biomasa de las comunidades de microalgas; además se sumó el T4 como uno de los tratamientos que también redujeron la biomasa de las comunidades de microalgas.

El T2 disminuyó la cantidad de clorofila-*a* en 1.97 y 2.54  $\mu\text{g/l}$  al pasar 10 y 20 días con respecto del testigo (8.96 y 7.46  $\mu\text{g/l}$ ), equivalente a una reducción del 80 y 66 %, respectivamente. De igual manera, el T3 alcanzó su mejor capacidad inhibidora disminuyendo la cantidad de clorofila-*a* (3.53 y 3.37  $\mu\text{g/l}$ ) en los mismos días que el T2, demostrando una disminución del 61 y 55 %. Por último, el T4 registró también una reducción en la cantidad de clorofila-*a* (2.54 y 2.58  $\mu\text{g/l}$ ) en los mismos días que T2 y T3, registrando una reducción de la clorofila-*a* extraída del 72 y 65 % (Figura 29).



**Figura 29.** Comparación de la clorofila-*a* extraída de los tratamientos, T1 (—▽—), T2 (—■—), T3 (—◇—) y T4 (—▲—) de hojarasca de *Hordeum vulgare* con respecto al testigo (—●—)

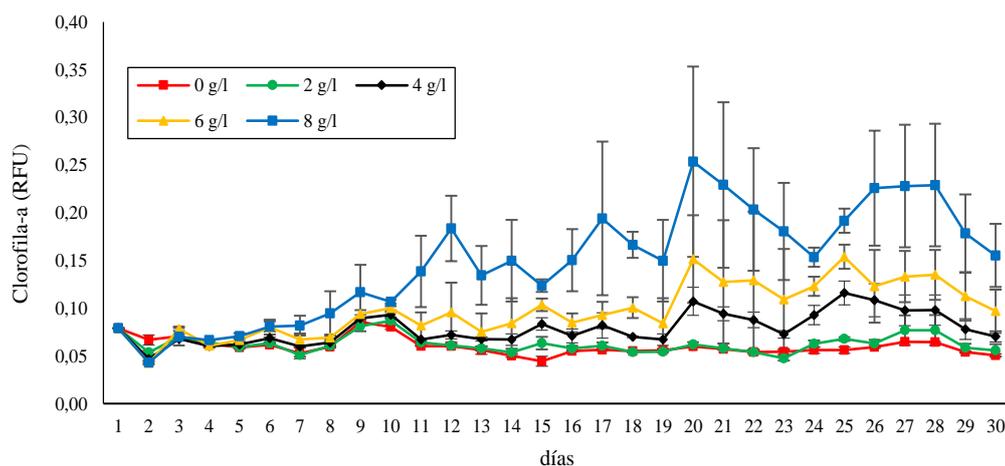
La cantidad de clorofila-*a* inicial que se presenció en este estudio (76.80  $\mu\text{g/l}$ ) fue menor, a la obtenida por Van Colen et al. (2017), quien registró en el mes de marzo del 2015 una cantidad de 185  $\mu\text{g/l}$  de clorofila-*a* en el agua del lago Yahuarcocha. En el caso de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* se observó una reducción de la clorofila-*a*, especialmente en los tratamientos T2, T3 y T4, cuyos porcentajes de reducción variaron entre tratamientos. Por lo que los

resultados expuestos en esta investigación se asemeja con el trabajo de Everall y Lees (1996), quienes obtuvieron una reducción del 60 % de la biomasa de algas de un reservorio de Derbyshire, con relación a otros años. Barrett et al. (1996) por otro lado, registró una reducción del 25% de cianobacterias en un reservorio de agua potable, donde luego de un año de tratamiento con hojarasca de *Hordeum vulgare* observó una eliminación casi por completa de cianobacterias; Esto evidencia en el experimento desarrollado en este estudio, con otros estudios (Caffrey y Monahan, 1999; Ball et al., 2001; Murray et al., 2009), la eficacia que tuvo el método por descomposición con hojarasca de *Hordeum vulgare*, para reducir el crecimiento de microalgas en diferentes sistemas acuáticos.

- **Clorofila-*a* en vivo (Cl-*a* EV)**

Los datos de clorofila-*a* en vivo no demostraron una distribución normal y homocedasticidad. Motivo por el cual se aplicó el test de Kruskal Wallis quien demostró diferencias significativas ( $p\text{-valor} = < 0.0001$ ) entre los tratamientos y los días de aplicación del bioensayo.

La combinación de pares exhibió que los tratamientos T4 y T3 con hojarasca de *Hordeum vulgare*, presentaron la mayor cantidad de Cl-*a* EV. El T4 presentó el mayor valor promedio de Cl-*a* EV (0.25 y 0.23 RTU) después de 20 y 28 días de aplicación del bioensayo. Asimismo el T3 registró su máximo valor (0.15) al pasar 20 y 25 día de aplicación del experimento. Por lo contrario, el testigo y el T2 con hojarasca de *Hordeum vulgare* obtuvieron el valor promedio de Cl-*a* EV más bajo, donde el testigo registró la cantidad de biomasa de microalgas de 0.04 y 0.05 RTU al transcurrir 14 y 15 días del bioensayo, de igual manera T2 presentó 0.05 y 0.06 RTU de Cl-*a* EV al pasar 23 y 30 días del experimento, respectivamente (Figura 30).



**Figura 30.** Comparación de la clorofila-a en vivo de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare*, T1 (→), T2 (←), T3 (→) y T4 (←), en comparación con del testigo (→) durante todo el periodo de aplicación del bioensayo

La cantidad de Cl-a EV inicial del agua del lago Yahuarcocha registrada en el experimento que se desarrolló fue de 0.08 RTU, la cual fue el mismo valor obtenido en el trabajo de Astudillo (2018). En lo que respecta a los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare*, la Cl-a EV se incrementó a medida que las dosis insertadas de cebada también aumentaban y los días transcurrían. Lo cual se cree que ocurrió debido al desprendimiento de la clorofila-a de la hojarasca de *Hordeum vulgare* al descomponerse, ya que es uno de los principales indicadores de la capacidad fotosintética que presentan todas las plantas; este es el principal pigmento de la fotosíntesis cuya función es transformar la energía lumínica absorbida por la luz solar a energía química que es utilizada en el crecimiento de la planta (Jaramillo, Marín y Ocampo, 2018). Por lo que es probable, que la estimación de la biomasa de las microalgas a través de la Cl-a EV de los tratamientos, se haya visto influenciada o alterada por la clorofila de la cebada, dificultando la estimación de la biomasa de las microalgas de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare*, con respecto del testigo. Cabe mencionar que todos los estudios referentes al efecto de la hojarasca de *Hordeum vulgare* sobre la biomasa de las microalgas (Everall & Lees, 1996; Iredale et al., 2012; Welch et al., 1990) fue estimada mediante la Cl-a EX. Por lo que es recomendable estimar la cantidad de biomasa de las microalgas a través de la Cl-a EX, debido a que en el experimento que se ejecutó si se visualizaron cambios en la cantidad de Cl-a EX de los tratamientos de cebada con respecto del testigo.

### 4.3.3 Correlaciones entre las variables físico-químicas con las microalgas

La correlación de Pearson entre las variables físico-químicas, clorofila-*a* extraída, clorofila-*a* en vivo y microalgas fue realizada previo a la aplicación de los análisis de componentes principales (ACP) y escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) para una mejor interpretación de los resultados.

La clorofila-*a* en vivo (Cl-*a* EV) demostró una correlación positiva moderada con las Chlorophytas (0.58). La clorofila-*a* extraída (Cl-*a* Ex) exhibió una correlación positiva alta con la temperatura (Temp) de 0.66. Asimismo, la temperatura registró una correlación positiva moderada con las Cyanophytas (0.57) y todo el fitoplancton (0.51). De igual manera la conductividad exhibió una correlación moderada negativa con el pH (0.57) y Cyanophytas (0.52) y de manera positiva con las Chlorophytas (0.51). Por otro lado, las Cyanophytas demostraron una correlación positiva alta (0.69) con el fitoplancton y una moderada con las Bacillariophytas (0.52). Finalmente, el grupo de las Bacillariophytas y Chlorophytas presentaron una correlación positiva moderada con el fitoplancton de 0.44 y 0.52. En el caso de los otros grupos de fitoplancton no demostraron ninguna correlación significativa con los factores ambientales medidos (Tabla 9).

**Tabla 9.** Matriz de correlaciones de Pearson entre los parámetros físico-químicos, clorofila-*a* en vivo (Cl-*a* EV), clorofila-*a* extraída (Cl-*a* EX), divisiones de fitoplancton Cyanophytas (CYA), Bacillariophyta (BAC), Chlorophyta (CHL), Dinophyta (DIN), Euglenophyta (EUG) y fitoplancton total (F), de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* del bioensayo

Va	Cl- <i>a</i> EV	Cl- <i>a</i> EX	Temp	OD	Cond	pH	CYA	BAC	CHL	DIN	EUG	F
Cl- <i>a</i> EV	1											
Cl- <i>a</i> EX	-0.22	1										
Temp	-0.27	<b>0.66</b>	1									
OD	-0.25	0.16	0.29	1								
Cond	0.44	-0.07	-0.01	-0.13	1							
pH	0.03	-0.11	-0.07	0.16	-0.57	1						
CYA	-0.44	0.41	0.57	0.06	-0.52	0.42	1					
BAC	-0.37	0.17	0.31	0.05	-0.29	0.08	0.52	1				

<b>CHL</b>	0.58	0.02	0.01	-0.22	0.51	-0.22	-0.23	-0.12	1			
<b>DIN</b>	-0.15	0.01	0.11	-0.01	0.11	-0.04	0.01	0.3	-0.05	1		
<b>EUG</b>	-0.11	-0.21	0.11	-0.16	-0.28	0.32	0.02	0.13	-0.14	0.14	1	
<b>F</b>	0.02	0.36	0.51	-0.11	-0.08	0.18	<b>0.69</b>	0.44	0.52	0.06	0.08	1

La clorofila-*a* en vivo se correlacionó moderadamente con el grupo de las de microalgas de las Cyanophytas y Chlorophytas que fueron los más abundantes a lo largo del bioensayo. Esto confirma lo mencionado por Rivera et al. (2005) quien, describe a la clorofila-*a* como una estimación indirecta de la biomasa de las comunidades fitoplanctónicas. La temperatura fue otra variable ambiental que se correlacionó tanto con la clorofila-*a* y el fitoplancton (especialmente las cianobacterias), demostrando lo descrito por Helbling, Banaszak y Villafañe (2015), quienes sugieren que la eutrofización en agua dulce actúa de forma sinérgica con la temperatura, ya que ambientes con aguas cálidas promueve la proliferación masivas de cianobacterias (floraciones), por lo que la temperatura es un factor que se asocia fuertemente con las microalgas.

Asimismo la conductividad se relacionó de forma negativa al grupo de las Cyanophytas y de manera positiva con las Chlorophytas, debido a que dentro de la ecología la conductividad es un factor limitante en la vida de varias especies (Roldán y Ramírez, 2008). También la conductividad se correlacionó negativamente con el pH posiblemente debido a la cantidad de materia orgánica (hojarasca de *Hordeum vulgare*) que se añadió en el bioensayo, la cual probablemente generó cambios o desequilibrios en el pH de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* (Pillinger et al., 1994; Roldán y Ramírez, 2008). Confirmando simultáneamente lo mencionado por Caicedo (2016), quien estableció que la conductividad y el pH son parámetros que se relacionan dentro de la ecología acuática.

- **Análisis de componentes principales (ACP)**

El ACP indicó que se usaron dos componentes principales (CP1 y CP2) para explicar la incidencia de las variables físico-químicas, en la eficiencia de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, sobre el crecimiento de microalgas

del bioensayo. Los CP1 y CP2 fueron suficientes para describir los datos, ya que contribuyeron con el 88 % de la variabilidad de los datos de los resultados originales. Las variaciones explicadas por los dos componentes (CP1 y CP2) fueron del 52 y 36 % respectivamente.

El factor ambiental que en mayor medida contribuyó a la variabilidad del CP1 fue el oxígeno disuelto (OD) con un valor negativo de 0.96. Mientras que en el CP2 fue la clorofila-*a* extraída (Cl-*a* EX), igualmente de forma negativa con un valor de 0.94 (Tabla 10).

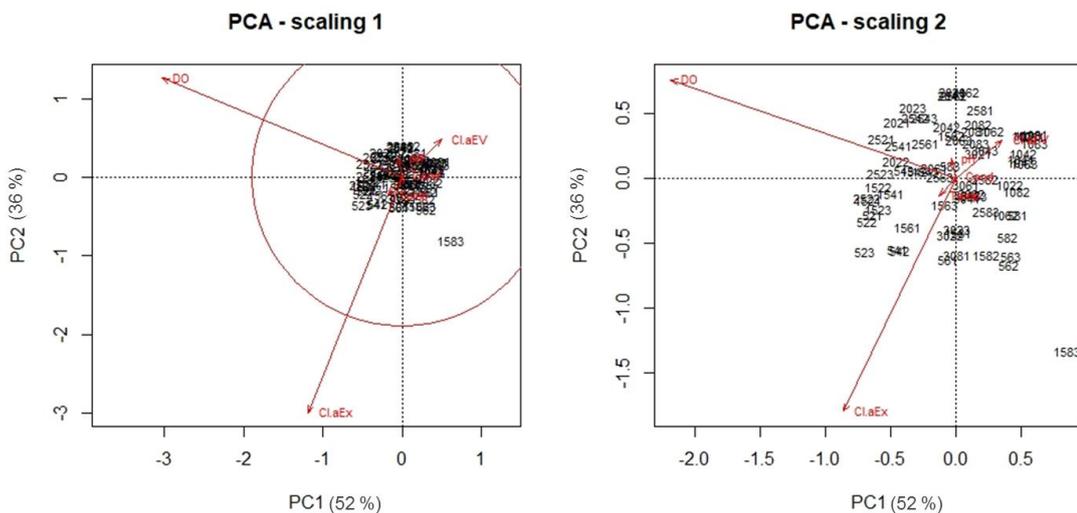
**Tabla 10.** Significancia de las variables analizadas en los componentes principales (CP1 y CP2)

Variables	CP1	CP2
Cl- <i>a</i> EV	0.015	0.20
Cl- <i>a</i> EX	- 0.13	<b>- 0.94</b>
Cond	0.01	0.07
OD	<b>- 0.96</b>	0.13
pH	- 0.03	0.15
Temp	-0.01	- 0.001

El ACP demostró que el factor que en mayor medida influyó en la eficiencia de enhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* sobre las comunidades fitoplanctónicas fue el oxígeno disuelto (OD). Por lo que este análisis se sustenta con lo sugerido por Gómez (2007), quien determinó que el OD es un factor ambiental que limita el crecimiento de las microalgas. Lo cual pudo afectar al crecimiento de las algas de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare*. Este efecto se pudo visualizar indirectamente a través de la clorofila-*a* extraída (Cl-*a* EX) de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare*. La clorofila-*a* en vivo (Cl-*a* EV) no se tomó en cuenta, ya que no tuvo mayor influencia en el análisis ACP.

El ACP exhibió que la cantidad de biomasa de las microalgas disminuyó, probablemente debido a una reducción del OD, ocasionado seguramente por la hojarasca de *Hordeum vulgare*, la cual pudo favorecer el crecimiento microbiano, limitando de esta manera la ploriferación de las microalgas y reduciendo el OD

por el proceso de degradación microbiana. Esto se apoya con lo observado por Wingfield et al. (1985) quien vió un incremento de la biomasa microbiana al añadir la hojarasca de *Hordeum vulgare*, y lo descrito por Boehrer y Schultze (2008) quienes afirmaron que en el proceso de degradación microbiana suele consumir el OD. Además, a pesar que el ACP ejecutado no considerara a la temperatura como una variable significativa, es posible que este factor haya podido provocar una reducción en la biomasa del fitoplancton, producido probablemente por la añadidura de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, ya que la Cl-a EX se encuentra fuertemente correlacionada con la temperatura; este es otro factor ambiental limitante asociado con la biomasa de las microalgas, mencionados por Gómez (2007) y Helbling et al. (2015). En el caso de la hojarasca de *Hordeum vulgare* fue importante la temperatura, debido a que la liberación de los compuestos fenólicos y descomposición de la lignina (principales compuestos inhibidores), dependen de este factor ambiental, ya que el material vegetal se descompone con mayor eficiencia en aguas cálidas como las del bioensayo, lo cual reduce el tiempo de acción del químico inhibidor (Spencer y Lembi, 2007), por lo que se cree que fue también uno de los factores influyentes en la reducción de la Cl-a EX (Figura 31).



**Figura 31.** ACP de las variables físico-químicas con respecto a las observaciones de, clorofila-a extraída y clorofila-a en vivo, de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* durante el tiempo de experimentación, representado en dos escalas con su respectivo porcentaje de variabilidad explicado

- **Análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS)**

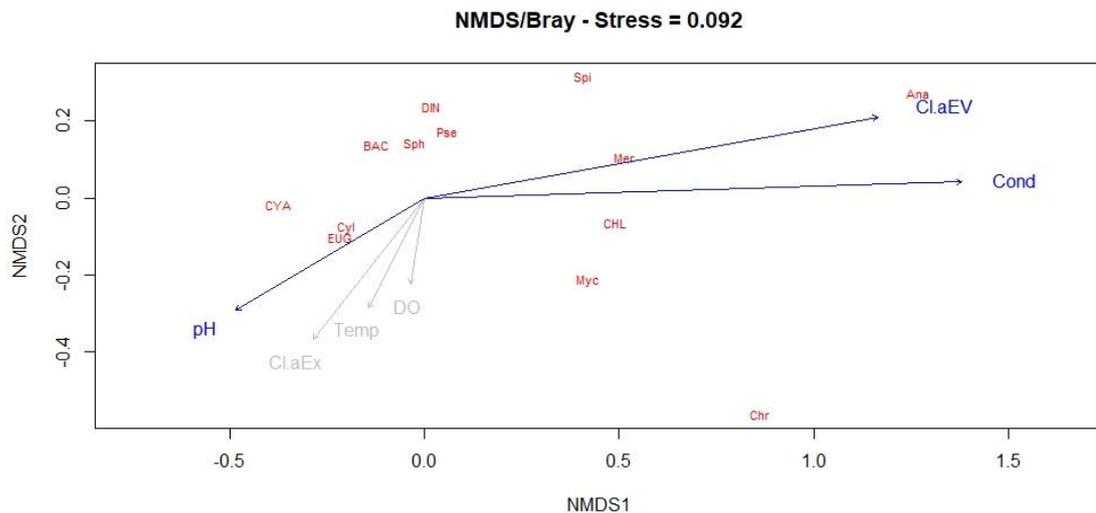
El análisis NMDS, utilizó dos ejes y exhibió una representación excelente de los datos (estrés = 0.092), para evaluar la incidencia de las variables físico-químicas en la eficiencia del control de microalgas de la hojarasca de *Hordeum vulgare*. Esto demostró como los factores ambientales más significativos ( $\leq 0.05$ ) en la eficiencia de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, fueron la conductividad (Cond) y el pH, donde se suma también la estimación indirecta de biomasa de las microalgas, a través de la clorofila-*a* en vivo (Cl-*a* EV). En el caso de la temperatura (Temp) y oxígeno disuelto (OD), a pesar de no haber presentado valores significativos, posiblemente también influenciaron en la eficiencia de la hojarasca de la *Hordeum vulgare*. Por otro lado, la clorofila-*a* extraída (Cl-*a* EX), en este análisis no fue significativa en la representación de la biomasa de las microalgas (Tabla 11).

**Tabla 11.** Significancia y asociaciones del análisis NMDS de los factores ambientales con las comunidades de microalgas

<b>Variables</b>	<b>Eje 1</b>	<b>Eje 2</b>	<b>r<sup>2</sup></b>	<b>Valor-p</b>
<b>Cl-<i>a</i> EV</b>	0.98	0.18	<b>0.50</b>	<b>0.001</b>
<b>Cl-<i>a</i> EX</b>	-0.68	-0.79	0.078	0.075
<b>Cond</b>	0.99	0.030	<b>0.69</b>	<b>0.001</b>
<b>OD</b>	-0.16	-0.99	0.02	0.54
<b>pH</b>	-0.86	-0.52	<b>0.12</b>	<b>0.027</b>
<b>Temp</b>	-0.44	-0.89	0.04	0.28

El eje 1 del NMDS describió una correlación de la Cl-*a* EV ( $r^2 = 0.50$ ) y la conductividad ( $r^2 = 0.69$ ) con toda la comunidad de microalgas, especialmente con el grupo de las Chlorophytas (CHL) y los géneros de cianobacterias, *Spirulina* (Spi), *Merismopedia* (Mer), *Microcystis* (Myc) y *Anabaena* (Ana). Asimismo, el pH obtuvo una correlación baja, pero significativa ( $r^2 = 0.12$ ), asociada principalmente, con las divisiones de Dinophytas (DIN), Bacillariophytas (BAC), Euglenophytas (EUG) y Cyanophytas (CYA) donde se destacan los géneros *Cylindrospermopsis* (Cyl), *Sphaerocavum* (Sph) y *Pseudanabaena* (Pse). El eje 2 del NMDS se vio representado por parte de la temperatura, OD y Cl-*a* EX, donde

a pesar de no obtener valores significativos, se encontraron asociados principalmente con los grupos de microalgas de las Chlorophytas, Euglenophytas y Cyanophytas donde sobresalieron, los géneros *Microcystis* y *Cylindrospermopsis* (Figura 32).



**Figura 32.** Escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) de los grupos de fitoplanctón y géneros de cianobacterias en asociación con los factores ambientales, de los tratamientos con hojarasca de *Hordeum vulgare* del bioensayo

El análisis NMDS demostró, que la conductividad y el pH son quizá los principales factores que se relacionan con la eficiencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, en el control de microalgas. En el caso de las cianobacterias que fue el grupo con mayor densidad en el agua del lago Yahuarcocha, el análisis desarrollado visualizó la influencia que ejerció el pH sobre este grupo, ya que a medida que el pH disminuyó, la abundancia de las cianobacterias también se vio reducida, principalmente afectando al género *Cylindrospermopsis*. Esto fue ocasionado, posiblemente, por la liberación de peróxidos de hidrógeno de la hojarasca de *Hordeum vulgare* descrito en la investigación de Newman (1999) o por lo documentado por Siegfried, Bloomfield y Sutherland (1989) y Blomme (2014), quienes sugieren, que la abundancia de especies se correlaciona con el pH, lo cual es complejo comprender, debido a que el pH depende de muchos factores, como la respiración de las microalgas y otros organismos; la respiración celular que realizan aumentan el dióxido de carbono disuelto ( $\text{CO}_2$ ) causando que descienda el pH e incrementa al absorber el  $\text{CO}_2$  al realizar el proceso de fotosíntesis.

Lo contrario ocurrió con la conductividad, donde a medida que se redujo la cantidad de cianobacterias, el valor de la conductividad incrementó. Como consecuencia posiblemente de la adición de la hojarasca de *Hordeum vulgare*, dando que el estudio realizado por Pillinger et al. (1994) mencionó que la descomposición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* incrementó la cantidad de carbono orgánico disuelto en el agua. Lo cual posiblemente incrementó en los tratamientos del bioensayo la conductividad, producto de la materia orgánica añadida (hojarasca de *Hordeum vulgare*). En el bioensayo la densidad de los géneros dominantes en el agua del lago Yahuarcocha, pertenecientes al grupo de las cianobacterias, *Cylindrospermopsis*, *Microcystis* y *Pseudanabaena*, también se vieron afectados probablemente debido a la conductividad según el análisis NDMS, ya que es un factor ambiental limitante del crecimiento de las microalgas (Gómez, 2007; Nyakoojo y Byarujali, 2010). En el estudio de Roldán y Ramírez (2008) afirmaron, que una alta diversidad de especies corresponden, a menudo, a ecosistemas acuáticos con baja conductividad. Produciéndose este fenómeno en el experimento, pero de manera opuesta, debido a que incrementó la diversidad de microalgas, especialmente del grupo de las Chlorophytas al aumentar la conductividad, el cual fue un factor que se encontró fuertemente asociado con este grupo, visualizado en el análisis NDMS.

El grupo de Chlorophytas, que fue la segunda división de fitoplancton con mayor abundancia en el agua del lago Yahuarcocha, aumentó a medida que el pH se redujo y la conductividad incrementó. Demostrando una vez más lo establecido por Brownlee et al. (2003) y Fervier et al. (2019), quienes observaron cambios composicionales del fitoplancton al añadir la hojarasca de *Hordeum vulgare*. Esto probablemente se debió a los cambios en los factores ambientales (pH y la conductividad), lo cual hizo que incremente o aparezcan nuevas comunidades de microalgas. Cabe mencionar que lo descrito es únicamente una interpretación de los resultados obtenidos, ya que únicamente en este estudio se han relacionado los factores ambientales con la eficiencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare* sobre las comunidades de fitoplancton. Otra posible causa pudo ser el suministro de nutrientes como en el estudio de Salmaso (2000), quien registró un incremento en la abundancia de las Chlorophytas al disminuir las concentraciones de fósforo (P),

nitrógeno (N) y silicio (Si) de manera simultánea. Esto se asocia con lo sugerido por Bellinger y Sigeo (2010) quienes indicaron, que el crecimiento de las Chlorophytas se ven potenciadas en aguas con baja cantidad de nutrientes.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- El Cantón Cotacachi fue el sitio en el que se recolectó la hojarasca de *Hordeum vulgare*, utilizada para el bioensayo, debido a que cumplió con las condiciones de producción y crecimiento necesarios. Además, la caracterización botánica de *Hordeum vulgare*, no presentó mayores cambios morfológicos, con respecto a otros estudios realizados en la provincia.
- En el agua del lago Yahuarcocha, se identificaron treinta y cuatro géneros de microalgas, los cuales incrementaron durante el bioensayo, obteniendo un total de 52 taxones identificados, pertenecientes a las divisiones de Chlorophytas, Bacillariophytas, Dinophytas, Euglenophytas, Zygnematophyta y Cyanophytas. Donde el grupo de cianobacterias presentó la mayor densidad de individuos, conformados principalmente por los géneros *Cylindrospermopsis*, *Microcystis* y *Pseudanabaena* como los más abundantes.
- La hojarasca de *Hordeum vulgare* en los limnocorales, inhibió el crecimiento del fitoplancton, especialmente el grupo de las cianobacterias, donde los tratamientos con mayor efectividad fueron: el tratamiento 2 (T2) con 4 g/l y el tratamiento 3 (T3) con 6 g/l de hojarasca de *Hordeum vulgare*, alcanzando su mejor rendimiento al pasar 20 y 25 días del experimento.
- El grupo de las Chlorophytas, incrementó a medida que las cianobacterias disminuyeron, al ser grupos competidores, lo cual fue positivo, debido a que las Chlorophytas no son generadoras de toxinas y son menos invasivas que las cianobacterias.
- Los géneros pertenecientes al grupo de las cianobacterias fueron inhibidos en su crecimiento, por los tratamientos T2, T3 y T4 de 4, 6 y 8 g/l de hojarasca de *Hordeum vulgare*, respectivamente. Esto afectó a los géneros más abundantes de Yahuarcocha (*Cylindrospermopsis* y *Pseudanabaena*), reduciendo en algunos casos, hasta en un 96 y 99% de individuos con respecto del testigo, al

pasar 20 días del bioensayo. El género *Microcystis*, se vio principalmente influenciado por los T2 y T4 reduciendo el 65 y 81 % respectivamente, al pasar 25 días del experimento.

- Los análisis de componentes principales (ACP) y de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) aplicados, demostraron que los parámetros físico-químicos que se relacionaron con la eficiencia de la hojarasca de *Hordeum vulgare* en la inhibición del crecimiento del fitoplancton, fueron el oxígeno disuelto (OD), potencial hidrógeno (pH) y conductividad (Cond). En el caso de las cianobacterias principalmente se vieron influencias por la conductividad y el pH.

## 5.2 Recomendaciones

- Es necesario realizar la caracterización de las microalgas a nivel de especies, mediante la utilización de técnicas moleculares, lo cual apoyaría en gran medida a esta investigación.
- El método de control de microalgas por descomposición aerobia de materia vegetal (hojarasca de *Hordeum vulgare*), aplicado en condiciones de laboratorio, mostró ser eficiente y exitosa en el control de cianobacterias, motivo por el cual se recomienda aplicar este método y probar el efecto en el lago Yahuarcocha de manera *in-situ*, tomando en cuenta las pautas y resultados obtenidos en este estudio y en otras investigaciones similares.
- La medición de otros parámetros físico-químicos, como la cantidad de nitratos, fosfatos, turbiedad, sólidos totales suspendidos y disueltos y principalmente de cianotoxinas, se deberían realizar, para generar un mejor entendimiento de la influencia que tienen los parámetros físico-químicos del agua del lago Yahuarcocha en la eficiencia de inhibición de la hojarasca de *Hordeum vulgare* en el control de microalgas.

## CAPITULO VI

### REFERENCIAS

- Aboal, M. (2012). *Id-Tax. Catálogo y claves de identificación de organismos fitoplanctónicos utilizados como elementos de calidad en las redes de control del estado ecológico*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- Almanza, V., Parra, O., Bicudo, C., Sant'Anna, C., Figueroa, R., Urritia, R. y González, P. (2016). *Guía para el estudio de Cianobacterias en el sistema lacustre del Gran Concepción: Aspectos ecológicos, toxicológicos, de control-vigilancia y taxonómicos*. Centro de Ciencias Ambientales, EULA-Chile, Univesidad de Concepción.
- Arellano, S., Arroyo, D., Carrión, E. y Merizalde, C. (2019). Geoparques mundiales de la UNESCO y su importancia en el desarrollo sostenible de las comunidades. Estudio de caso: "Geoparque Imbabura." *Siembra*, 6(1), 93–108.
- Arenas, P. y Cortella, A. (1996). Análisis Microscópico de Muestras Comerciales de *Spirulina* (Cyanophyta). *Acta Farm. Bonaerense*, 15(1), 11–19.
- Astudillo, E. (2018). *Pastoreo del mesozooplankton sobre el fitoplancton en el lago Yahuarcocha, Provincia Imbabura* (Tesis de Pregrado). Univesidad Técnica del Norte, Ecuador.
- Azevedo, M. y Sant'Anna, C. (2003). Sphaerocavum, a new genus of planktic Cyanobacteria from continental water bodies in Brazil. *Algological Studies*, 109, 79–92.
- Baird, R., Eaton, A. y Rice, E. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington: American Public Health Association, American Water Works Association y Water Enviroment Federation.
- Ball, A., Williams, M., Vincent, D. y Robinson, J. (2001). Algal growth control by a barley straw extract. *Bioresource Technology*, 77, 177–181.

- Barreno, J. (2010). *El turismo en la cuenca baja de la Laguna de Yahuarcocha en el desarrollo socioeconómico y ambiental de la comunidad San Miguel de Yahuarcocha, en la ciudad de Ibarra, provincia de Imbabura* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ecuador.
- Barrett, P., Curnow, J. y Littlejohn, J. (1996). The control of diatom and cyanobacterial blooms in reservoirs using barley straw. *Hydrobiologia*, 340, 307–311.
- Barrett, P., Littlejohn, J. y Curnow, J. (1999). Long-term algal control in a reservoir using barley straw. *Hydrobiología*, 415, 309–313.
- Barros, S., Geraldés, A. y Conceição, F. (2015). Avaliação do potencial algicida e algistático de extractos vegetais em *Chlorella vulgaris* e *Anabaena cylindrica*. *Captar*, 3(1), 30–39.
- Barsanti, L. y Gualtieri, P. (2006). *Algae: Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. Boca Raton, London and New York: Taylor y Francis Group.
- Bécares, E., Conty, A., Rodríguez, C. y Blanco, S. (2004). Funcionamiento de los lagos someros mediterráneos. *Ecosistemas*, 13(2), 2–12.
- Bellinger, E. y Sigee, D. (2010). *Freshwater Algae, Identification and Use as Bioindicators*. USA: Wiley Blackwell.
- Blomme, J. (2014). *General limnology and zooplankton ecology of two tropical high altitude lakes in Northern Ecuador: Mojanda y Yahuarcocha* (Tesis de Maestría). KU Leuven, Bélgica.
- Boehrer, B. y Schultze, M. (2008). Stratification of lakes. *Review of Geophysics*, 46(2), 1–27.
- Bossio, D. y Cassman, K. (1991). Traditional Rainfed Barley Production in the Andean Highlands of Ecuador: soil nutrient limitations and other constraints. *Mountain Research and Development*, 11(2), 115–126.

- Boyd, P. W., Watson, A., Law, C., Abraham, E., Trull, T., Murdoch, R. y Zeldis, J. (2000). Amesoscale phytoplankton bloom in the polar Southern Ocean stimulated by iron fertilization, *Nature*, 407, 695–702.
- Brownlee, E., Sellner, S. y Sellner, K. (2003). Effects of barley straw (*Hordeum vulgare*) on freshwater and brackish phytoplankton and cyanobacteria. *Journal of Applied Phycology*, 15, 525–531.
- Burgos, M. (2013). *Atlas de Microorganismos Planctónicos Presentes en los Humedales Andaluces*. España: Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía
- Butler, R., Reedyk, S., Murrell, S. y Mah, B. (2005). *Use of Barley Straw for Algal Control in Prairie Dugouts: Final Report*. Agriculture and Agri-Food Canada, Prairie Farm Rehabilitation Administration, Regina Saskatchewan, 43 p.
- Cabrera, S. (2015). *Análisis Temporal y Espacial de las comunidades Zooplanctónicas en los Lagos Andinos Yahuarcocha y Monjanda, Ecuador* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica Del Norte, Ecuador.
- Caffrey, J. M. y Monahan, C. (1999). Filamentous algal control using barley straw. *Hydrobiologia*, 415, 315–318.
- Caicedo, F. (2016). *Evaluación de la dinámica poblacional del fitoplancton con relación a las características físico-químicas del lago altoandino Yahuarcocha* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica Del Norte, Ecuador.
- Caicedo, F. (2019). *The structuring role of three different types of macrophytes on the planktonic communities of lake San Pablo, A tropical Andean system in northern Ecuador* (Tesis de Maestría). Universiteit Antwerpen, Ghent University, Vrije Universiteit Brussel, Belgica.

- Cajamarca, B. y Montenegro, S. (2015). *Selección de una línea promisorio de cebada (*Hordeum vulgare* L.) bio-fortificada, de grano descubierto y bajo contenido en fitatos, en áreas vulnerables de la sierra sur ecuatoriana* (Tesis de Pregrado). Univesidad de Cuenca, Ecuador.
- Campbell, D., Hurry, V., Clarke, A., Gustafsson, P. y Oquist, G. (1998). Chlorophyll fluorescence analysis of cyanobacterial photosynthesis and acclimation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 667–683.
- Carneiro, C., Andreoli, C. y Cunha, C. (2014). Assessing the Pollution Potential of Lake Basins: Concentrations and Loads. *In Reservoir Eutrophication : Preventive Management : An applied example of Integrated Basin Management Interdisciplinary Research* (Second, pp. 163–164). London: IWA Publishing.
- Casallas, J. y Gunkel, G. (2001). Algunos aspectos limnológicos de un lago altoandino: El lago San Pablo, Ecuador. *Limnetica*, 20(2), 215–232.
- Castillo, A. (2010). *La organización del espacio lacustre, desde la superación del planeamiento sectorial* (Tesis de Doctorado). Universidad Politécnica de Madrid, España.
- Chapman, D. y Beim, A. (1996). The use of biological material. En D. Chapman (Ed.), *Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Enviromental Monitoring* (pp. 164-227). Great Britain. UNESCO/WHO/UNEP.
- Chen, J., Liu, Z., Ren, G., Li, P. y Jiang, Y. (2004). Control of *Microcystis aeruginosa* TH01109 with batangas mandarin skin and dwarf banana peel. *Water SA*, 30(2), 279-282.
- Christoffersen, K. y Kaas, H. (2000). *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring, and management*. En I. Chorus y J. Bartram (Eds.), *Limnology and Oceanography*. London and New York: E y FN Spon.

- Chung, S. Y., Venkatramanan, S., Park, N., Rajesh, R., Ramkumar, T. y Kim, B. (2015). An assessment of selected hydrochemical parameter trend of the Nakdong River water in South Korea , using time series analyses and PCA. *Environ Monit Assess*, 187, 4192.
- Cobo, F. (2015). Métodos de control de las floraciones de cianobacterias en aguas continentales, *Limnetica*, 34(1), 247–268.
- Confederación Hidrológica del Ebro. (2005). *Protocolos de muestreo y análisis para fitoplancton*. (V. Eduardo, C. Hoyos, P. Sánchez, y J. Cambra, Eds.). España: Ministerio de Medio Ambiente.
- Cooke, G., Welch, E., Peterson, S. y Nichols, S. (2005). *Management of Lakes and Reservoirs. Management* (3rd ed.). Boca Raton, London. New York, Singapur: Taylor y Francis Group.
- Cooper, J., Pillinger, J. y Ridge, I. (1997). Barley straw inhibits growth of some aquatic saprolegniaceous fungi. *Aquaculture*, 156, 157–163.
- Córdoba, F. (2015). *Caracterización génica y funcional de cebada mutagenizada con respuesta mejorada al aumento del CO<sub>2</sub> atmosférico* (Tesis de Doctorado) . Univesidad de Salamanca, España.
- Coritoma, M., Castro, K., Sánchez, T., Ugaz, L., Pena, E., Prada, D. y Rubina, A. (2018). Evaluación de la diversidad de algas fitoplanctónicas como indicadores de la calidad de agua en las lagunas Altoandinas del Departamento de Pasco (Perú). *Ecología Aplicada*, 17(1), 2002–5474.
- Cui, Y., Jin, L., Ko, S., Chun, S., Oh, H., Lee, C. y Ahn, C. (2017). Periphyton effects on bacterial assemblages and harmful cyanobacterial blooms in a eutrophic freshwater lake: a mesocosm study. *Scientific Reports*, 7(1), 7–7827.
- Dalal, P., Shirodkar, T., Jagtap, B. y Rao, S. (2010). Evaluation of significant sources influencing the variation of water quality of Kandla creek , Gulf of Katchchh , using PCA. *Environ Monit Assess*, 163, 49–56.

- De la Cruz, J. (2005). *Proyecto de seguridad alimentaria para cuatro parroquias indígenas de la zona andina del cantón Cotacachi* (Tesis de Pregrado). Universidad Politecnica Salesiana, Ecuador.
- Everall y Lees. (1996). The Use of Barley - Straw to Control General and Blue-Green Algal Growth in a Derbyshire Reservoir. *Science*, 30(2), 269-276.
- Falkowski, P., Laws, E., Barber, R., & Murray, J. (2003). Phytoplankton and Their Role in Primary, New, and Export Production. *Ocean Biogeochemistry*, 99–121.
- Ferrier, M., Butler, B., Terlizzi, D. y Lacutere, R. (2005). The effects of barley straw (*Hordeum vulgare*) on the growth of freshwater algae. *Bioresource Technology*, 96, 1788–1795.
- Fervier, V., Urrutia, P., Piano, E., Bona, F., Persson, K. y Hansson, L. (2019). Evaluating Nutrient Reduction, Grazing and Barley Straw as Measures Against Algal Growth. *Springer*.
- Flores, L., Gabio, B., Díaz, M., Camacho, O. y Díaz, G. (2010). Recolección y preservación de macroalgas marinas: una guía para estudios ficológico. *Intropica*, 5, 4–11.
- Gallo, N. y Apolo, B. (2012). *Fundamentos de Ficología*. Quito: Gráficas Ortega.
- Garófalo, J. (2012). *Extracción de nutrientes por el cultivo de cebada* (Tesis de Pregrado). Univesidad Central del Ecuador, Ecuador.
- Geiger, S., Henry, E., Hayes, P. y Haggard, K. (2005). Barley Straw - Algae Control. *Aquatic Scientific*, (18), 4-6.
- Gibson, M., Welch, I., Barrettl, P. y Ridge, I. (1990). Barley straw as an inhibitor of algal growth II : laboratory studies. *Journal of Applied Phycology*, 2, 241–248.
- Gobierno Autónomo Decentralizado de Antonio Ante. (2012). Actualización Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Antonio Ante.

- Gobierno Autónomo Decentralizado de Imbabura. (2015). Actualización del Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de la Provincia de Imbabura 2015-2035.
- Gómez, L. (2007). Microalgas: Aspectos Ecológicos y Biotecnológicos. *Revista Cubana de Química*, 19, 3–20.
- Greenacre, M. y Primicerio, R. (2013). *Multivariate Analysis of Ecological Data*. Bilbao: Fundación BBVA.
- Guamán, M. y Gonzalez, N. (2016). *Catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador. Anales de Medicina Interna*. Corporación para la Investigación Energética.
- Gunkel, G. (2003). Limnología de un Lago Tropical de Alta Montaña, en Ecuador: Características de los sedimentos y tasa de sedimentación. *Revista de Biología Tropical*, 51(2), 381–390.
- Gunkel, G. y Casallas, J. (2002). Limnology of an equatorial high mountain lake - Lago San Pablo, Ecuador: The significance of deep diurnal mixing for lake productivity. *Limnologica*, 32, 33–43.
- Hagenblad, J., Leino, M., Henández, A. y Morales, D. (2018). Morphological and genetic characterization of barley (*Hordeum vulgare*) landraces in the Canary Islands. *Genet Resour Crop Evol*, 66, 465-480.
- Hampel, H., Cocha, J. y Vimos, D. (2010). Incorporation of aquatic ecology to the hydrological investigation of ecosystems in the high Andes. *Maskana*, 1(1), 91–100.
- Helbling, W., Banaszak, A. y Villafañe, V. (2015). Global change feed-back inhibits cyanobacterial photosynthesis. *Scientific Reports*, 5(1).
- Holmes, J. (2010). Barley Straw : A Natural Algae Inhibitor. *Coffs Harbour Water*, 33–39.
- Huallacháin, D. y Fenton, O. (2010). Barley (*Hordeum vulgare*) induced growth inhibition of algae : a review. *J Appl Phycol*, 22, 651–658.

- Huisman, J., Codd, G., Paerl, H., Ibelings, B., Verspagen, J. y Visser, P. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 471–483.
- Hutchinson, G. E. y Löffler, H. (1956). The Thermal Classification of Lakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 42(2), 84–86.
- Iredale, R., McDonald, A. y Adams, D. (2012). A series of experiments aimed at clarifying the mode of action of barley straw in cyanobacterial growth control. *Water Research*, 46(18), 6095–6103.
- Jácome, E. (2014). Vegetación acuática y estado trófico de las lagunas andinas de San Pablo y Yahuarcocha, provincia de Imbabura, Ecuador. *Revista Ecuatorina de Medicina y Ciencias Biológicas*, 35(2477–9113), 121–131.
- Jácome, G., Valarezo, C. y Yoo, C. (2018). Assessment of water quality monitoring for the optimal sensor placement in lake Yahuarcocha using pattern recognition techniques and geographical information systems. *Environ Monit Assess*, 190, 259.
- Jaramillo, M., Marín, Y. y Ocampo, D. (2018). Efectos en el nivel fotosintético en res especies de plantas acuáticas sometidas a un tratamiento con agua residual de origen minero. *Bo.Cien.Mus.Hist. Nat.U. de Caldas*, 22(1), 43–57.
- Jeppesen, E., Meerhoff, M., Jacobsen, B., Hansen, R., Søndergaard, M., Jensen, J. y Branco, C. (2007). Restoration of shallow lakes by nutrient control and biomanipulation - The successful strategy varies with lake size and climate. *Hydrobiología*, 581(1), 269–285.
- Jöhnk, K., Huisman, J., Sharples, J., Sommeijer, B., Visser, P. y Stroom, J. (2008). Summer heatwaves promote blooms of harmful cyanobacteria. *Global Change Biology*, 14(3), 495–512.
- Kamal, J. y Ramjee, C. (2019). Principal Component Analysis for Water Quality Assessment of the Ganga River in Uttar Pradesh, India. *Water Resources*, 46(5), 789–806.

- Khan, F. y Ansari, A. (2005). Eutrophication : An Ecological Vision. *The Botanical Review*, 71(4), 449–482.
- Kieffer, L., de la Sierra, P., Devercelli, M., Luna, J., Claret, M. y Leiz, E. (2015). Ensayos en laboratorio para el control de floraciones algales mediante ultrasonido. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 26(1851–1716), 224–243.
- Kolbe, S., Miller, A., Cameron, G. y Culley, T. (2016). Effects of natural and anthropogenic environmental influences on tree community composition and structure in forests along an urban-wildland gradient in southwestern Ohio. *Urban Ecosyst*, 19(2), 915–938.
- Kotov, A. y Stifter, Pavel. (2006). *Cladocera: Family Ilyocryptidae (Branchiopoda: Cladocera: Anomopoda)*. Rusia: Blackhuys.
- Lam, A., Prepas, E., Spink, D. y Hrudey, S. (1995). Chemical control of hepatotoxic phytoplankton blooms: Implications for human health. *Water Research*, 29(8), 1845–1854.
- Ledesma, C., Bonansea, M., Rodriguez, C. y Sánchez, A. (2013). Determinación de indicadores de eutrofización en el embalse Río Tercero, Córdoba (Argentina). *Ciencia Agronómica*, 44(3), 419–425.
- Legendre, P. y Borcard, D. (2018). Box-Cox-chord transformation for community composition data prior to beta diversity analysis. *Ecografía*.
- Legendre, P. y Gallagher, E. D. (2001). Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia*, 129, 271–280.
- López, J., Manzano, M., Hurtado, M., Piña, P., Ubisha, O., Guzón, O. y Hernández, F. (2016). *Fitoplancton: pequeños centinelas del océano*.
- Mandonx, T. (2014). *Trophic status and phytoplankton ecology of two lakes in northern Ecuador: Yahuarcocha y Mojanda* (Tesis de Maestría). K.U Leaven Kulak.

- Maridueña, A., Chalén, N., Coello, D., Cajas, J., Solís, E., Solís, P. y Aguilar, F. (2011). Mortandad De Peces En La Laguna De Yahuarcocha, Cantón Ibarra, Provincia De Imbabura. Febrero 2003. *Boletín Especial*, 2(1).
- Martin, D. y Ridge, I. (1999). The relative sensitivity of algae to decomposing barley straw. *Journal of Applied Phycology*, 11(3), 285–291.
- Mendoza, L. (2016). El género *Sphaerocavum* y dominancia de *S. brasiliense* y *Microcystis wesenbergii* (Microcystaceae, Cyanophyceae) en la floración algal de la laguna Huacachina, Perú. *Revista Peruana de Biología*, 23(1), 53–60.
- Miller, M., Kannan, M. y Colinvaux, P. (1984). Limnology and primary productivity of lakes in Ecuador. *Verch. Internat. Verin. Limnool*, 1264–1270.
- Morales, S. (2013). *Zonificación Ecológica -Ambiental Del Cantón Otavalo, Provincia de Imbabura* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica Del Norte, Ecuador.
- Morán Tituaña, A., Mendoza Cadena, T., y Chávez Guerrero, P. (2018). Evaluación de la calidad de hábitat de *Astroblepus ubidiai*, en drenajes de la cuenca del lago San Pablo, cantón Otavalo, provincia de Imbabura. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 19(2).
- Murray, D, Jefferson, B., Jarvis, P. y Parsons, S. (2009). Inhibition of three algae species using chemicals released from barley straw. *Environmental Technology*, 31(4), 455–466.
- Murray, D. (2009). *The potential of barley straw as an algal and cyanobacterial growth control* (Tesis de Doctorado). Cranfield University, Inglaterra.
- Nahorniak, J., Abbott, M., Letelier, R. y Pegau, S. (2001). Analysis of a method to estimate chlorophyll-a concentration from irradiance measurements at varying depths. *Journal of Atmospheric and Oceanic Technology*, 18(12), 2063–2073.

- Newcombe, G., House, J., Ho, L., Baker, P. y Burch, M. (2010). *Management Strategies for Cyanobacteria (Blue-Green Algae): A Guide for Water Utilities. Water Quality Research Australia* (Informe 74). Adelaide.
- Newman, J. y Barrett, P (1993). Control of *Microcystis aeruginosa* by decomposing barley straw. *J. aquat. Plant mgmt*, 31, 203-206.
- Newman J.R. 1999. CAPM Information Sheet 3: Control of Algae Using Straw. IACR-Centre for Aquatic Plant Management, 15 p.
- Nyakoojo, C. y Byarujali, S. (2010). An ecological study of two shallow, equatorial lakes: Lake Mburo and Lake Kachera, Uganda. *African Journal of Ecology*, 48, 860–864.
- Ochoa, M. E. (2017). *Evaluación del crecimiento de cianobacterias en relación a los parámetros físico- químicos del agua en el Lago Yahuarchocha* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ecuador.
- Osgood, R. A. (2012). Controlling *Wolffia* using alum in a pond. *Lake and Reservoir Management*, 28(1), 27–30.
- Pabón, J. (2015). *Distribución y Evaluación de la Vegetación Macrofítica en el Lago Yahuarcocha, Provincia de Imbabura* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ecuador.
- Pęczuła, W. (2012). Methods applied in cyanobacterial bloom control in shallow lakes and reservoirs. *Ecological Chemistry England*, 19(07), 795–806.
- Perry, R. (2010). *Guide to the Common Inshore Marine Plankton of Southern California*. Malibu High School, and UCLA OceanGLOBE.
- Pillinger, J., Cooper, J. y Ridge, I. (1994). Role of phenolic compounds in the anti-algal activity of barley straw. *Journal of Chemical Ecology*, 20(7), 1557–1569.

- Polli, B. y Simona, M. (1992). Qualitative and quantitative aspects of the evolution of the planktonic populations in Lake Lugano. *Aquatic Science*, 54(3), 303–320.
- Pollinger, U. (1990). Efectos de la latitud en la composición y abundancia de fitoplancton en grandes lagos. En M. Tilzer y C. Serruya (Eds.), *Large Lakes: Ecological Structure and Function* (pp. 368–369). Springer, Berlín, Heidelberg: Serie Brock / Springer en Biociencia Contemporánea.
- Portilla, K. (2015). *Evaluación del comportamiento de los parámetros físicos del agua, para determinar el estado trófico del lago Yahuarcocha, provincia de Imbabura* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ecuador.
- Rastogi, R., Madamwar, D. y Incharoensakdi, A. (2015). Bloom dynamics of cyanobacteria and their toxins: Environmental health impacts and mitigation strategies. *Frontiers in Microbiology*, 6(1254), 1–22.
- Ridge, I., Walters, J. y Street, M. (1999). Shifts in measures of attitudes of medical students toward those of their professors relative to the doctor image and the doctor-patient relationship: Implications for prediction of a clinically oriented criterion. *Kluwer Academic Publishers*, 395(396), 173–180.
- Rivera, C., Zapata, A., Pinilla, G., Donato, J., Chaparro, B. y Jiménez, P. (2005). Comparación de la Estimación de la Clorofila-a mediante los Métodos Espectrofotométricos y Fluormétricos. *Acta Biológica Colombiana*, 10(2), 95–103.
- Rodríguez, F. (2006). Cuencas Hidrográficas, Descentralización y Desarrollo Regional Participativo. *Revistas de Las Sedes Regionales*, 7(12), 113–125.
- Roldán, G. y Ramírez, J. (2008). *Fundamentos de limnología neotropical*. Medellín: Editorial Universidad de Antioquia, Colombia.
- Saelens, P. (2015). *Ecological functioning of a eutrophic, high-altitude shallow lake in Ecuador, Laguna Yahuarcocha* (Tesis de Maestría). KU Leuven.

- Salazar, D. (2015). *Estudio de impacto ambiental: ordenamiento de las actividades deportivas, recreativas y de alimentación que se realizan en la laguna Yahuarcocha del cantón Ibarra*, Ecuador.
- Salmaso, N. (2000). Factors affecting the seasonality and distribution of cyanobacteria and chlorophytes: a case study from the large lakes south of the Alps , with special reference to Lake Garda. *Hidrobiologia*, 438, 43–63.
- Sell, D. y Evans, M. (1982). A statistical analysis of subsampling and an evaluation of the Folsom plankton splitter A statistical analysis of subsampling and an evaluation of the Folsom plankton splitter. *Hidrobiología*, 94, 223-230.
- Sheath, R. y Wehr, J.(Ed.). (2003). *Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification*. United States of America: Editorial Elsevier Science
- Spencer, D. y Lembi, C. (2007). Evaluation of Barley Straw as an Alternative Algal Control Method in Northern California Rice Fields. *Journal of Aquatic Plant Management*, 45, 84–90.
- Steinitz, M. (1979). *Comparative limnology of Ecuadorian lakes a study of species number and composition of plankton communities of Galapagos Islands and the Equatorial andes dissertation* (Tesis de Doctorado). The Ohio State University, United States Of America.
- Steinitz, M. (1997). The lakes in Andean protected areas of Ecuador. *The George Wright*, 14(3), 33–43.
- Steinitz, M., Colimvauk, P. y Kamnan, R. (1979). Limnological studies in Ecuador. *Hydrobiology*, 1, 61-105.
- UNESCO. (2009). *Cianobacterias Planctónicas del Uruguay*. (S. Bonilla, Ed.). Programa Hidrológico Internacional.

- Van Colen, W., Portilla, K., Oña, T., Wyseure, G., Goethals, P., Velarde, E. y Muylaert, K. (2017). Limnology of the neotropical high elevation shallow lake Yahuarcocha (Ecuador) and challenges for managing eutrophication using biomanipulation. *Limnologica*, 67, 37–44.
- Villacrés, E. y Rivadeneira, M. (2005). Barley in Ecuador: Production, Grain Quality for Consumption, and Perspectives for Improvement. En S. Grandó y H. Gomez (Eds.), *Food Barley: Importance, Uses and Local Knowledge* (pp. 127–137). Hammamet, Tunisia: Proceedings of the International Workshop on Food Barley Improvement.
- Visser, P., Ibelings, B., Van Der Veer, B., Koedood, J. y Mur, L. (1996). Artificial mixing prevents nuisance blooms of the cyanobacterium *Microcystis* in Lake Nieuwe Meer, the Netherlands. *Blackwell Science Ltd*, 36, 435–450.
- Vitta, Y., Fernández, A. y Pilar, C. (2009). Determinación Selectiva De Clorofila a Por Fluorescencia Molecular. *Bistua*, 7, 1–11.
- Waybright, T., Terlizzi, D. y Ferrier, M. (2009). Chemical characterization of the aqueous algistatic fraction of barley straw (*Hordeum vulgare*) inhibiting *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Applied Phycology*, 21, 333–340.
- Wehr, J. y Sheath, R. (2003). *Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification*. Academic Press. United States of America: Elsevier Science.
- Wehr, J., Sheath, R. y Kociolek, P. (2015). *Freshwater Algae of North America, Ecology and Classification*. Elsevier.
- Weilhoefer, C. y Pan, Y. (2006). Diatom assemblages and their associations with environmental variables in Oregon Coast Range streams, USA. *Hydrobiologia*, 561, 207–219.
- Welch, Barrett, Gibson y Ridge. (1990). Barley straw as an inhibitor of algal growth II: laboratory studies. *Journal of Applied Phycology*, 2(3), 241–248.

- Wingfield, G., Greaves, M., Bebb, J. y Seager, M. (1985). Microbial Immobilization of Phosphorus as a Potential Means of Reducing Phosphorus Pollution of Water. *Environmental Contamination and Toxicology*, 587–596.
- Winner, B. y Mcmichael, R. (1997). Evaluation of a New Type of Box Splitter Designed for Subsampling Estuarine Ichthyofauna. *Taylor y Francis*, 126, 1041–1047.
- Wetzel, R. (1981). *Limnology*. Barcelona: Ediciones Omega, S.A
- Wetzel R. (2001). *Limnology Lake and River Ecosystems*. Academic press, San Diego, 1006 pp.
- Xu, J., Yin, K., Lee, J. H., Liu, H., Ho, A., Yuan, X. y Harrison, P. (2010). Long-Term and Seasonal Changes in Nutrients , Phytoplankton Biomass , and Dissolved Oxygen in Deep Bay , Hong Kong. *Stuaries and Coasts*, 33, 399–416.
- Zalocar, Y. (2002). Structure and variation of the Paraguay River phytoplankton in two periods of its hydrological cycle. *Hidrobiologia*, 472, 177–196.

## ANEXOS

### Anexo 1. Ficha de campo para la recopilación de datos diarios de los factores ambientales

<b>Nombre del Tesista</b>	Kevin Paul Patiño Cabrera		
<b>Fecha de Análisis:</b>	04-06-2019		
<b>Código:</b>	180 g/l-R1		
<b>Hora:</b>	10:00		
<b>Parámetros físico-químico</b>			
<b>Clorofila A</b>	0.068	0.068	0.072
<b>pH</b>	7.93	7.90	7.87
<b>Conductividad (µS/cm)</b>	666	654	640
<b>DO (mg/l)</b>	2.62	2.65	2.67
<b>Temperatura (C°)</b>	17	17.7	17.3

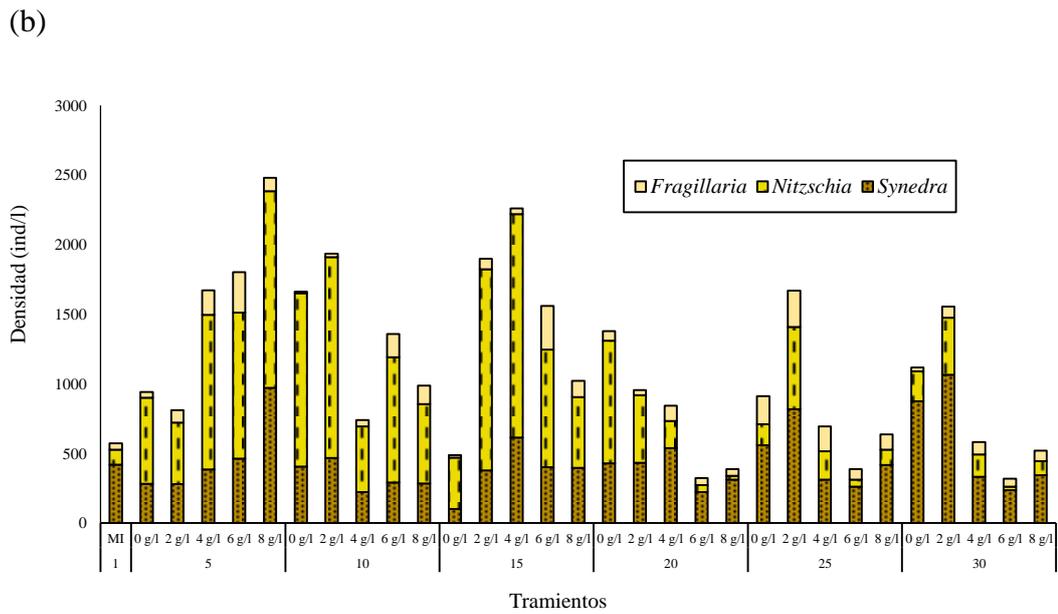
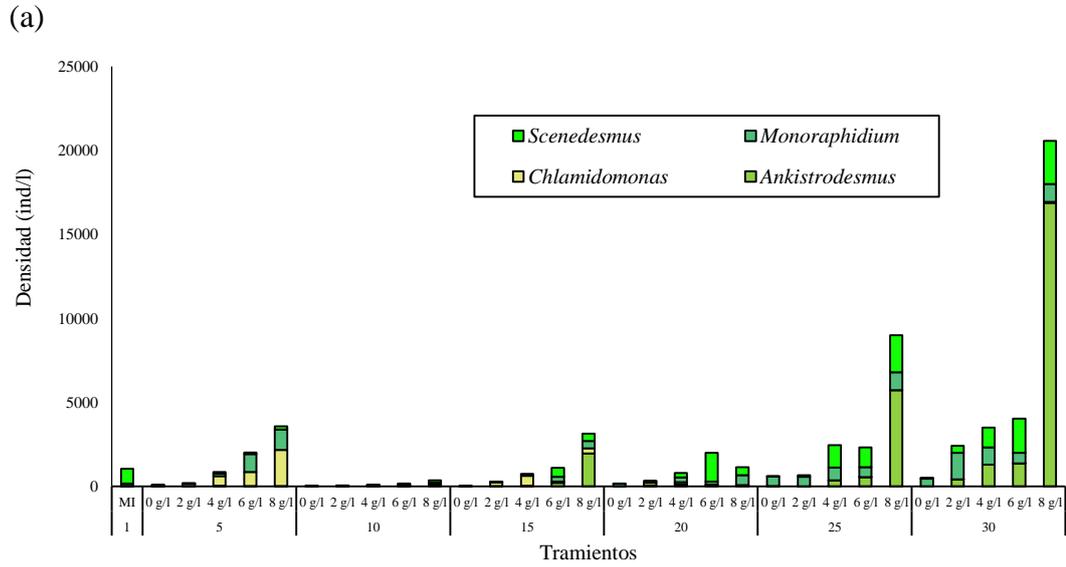
### Anexo 2. Ficha de conteo de individuos de fitoplancton

<b>Lago:</b>	Yahuarcocha		
<b>Código de la muestra</b>	2g/l-R2		
Fecha de colección:	06-06-19	Fechas de análisis	07-08-19
Volumen (ml)	50 ml	División de la muestra	1/64
<b>Géneros</b>	<b>Número de individuos registrados</b>		<b>Total</b>
<i>Cylindrospermopsis</i>	1000+750		1750
<i>Pseudanabaena</i>	837		
<i>Chlamydomonas</i>	87		
<i>Fragilaria</i>	36		
<i>Monoraphidium</i>	10		
<i>Chlorella</i>	12		
<i>Scenedesmus</i>	5		
<i>Chroococcus</i>	1		
<i>Nitzschia</i>	802		
<i>Synedra</i>	256		
<i>Microcystis</i>	30		

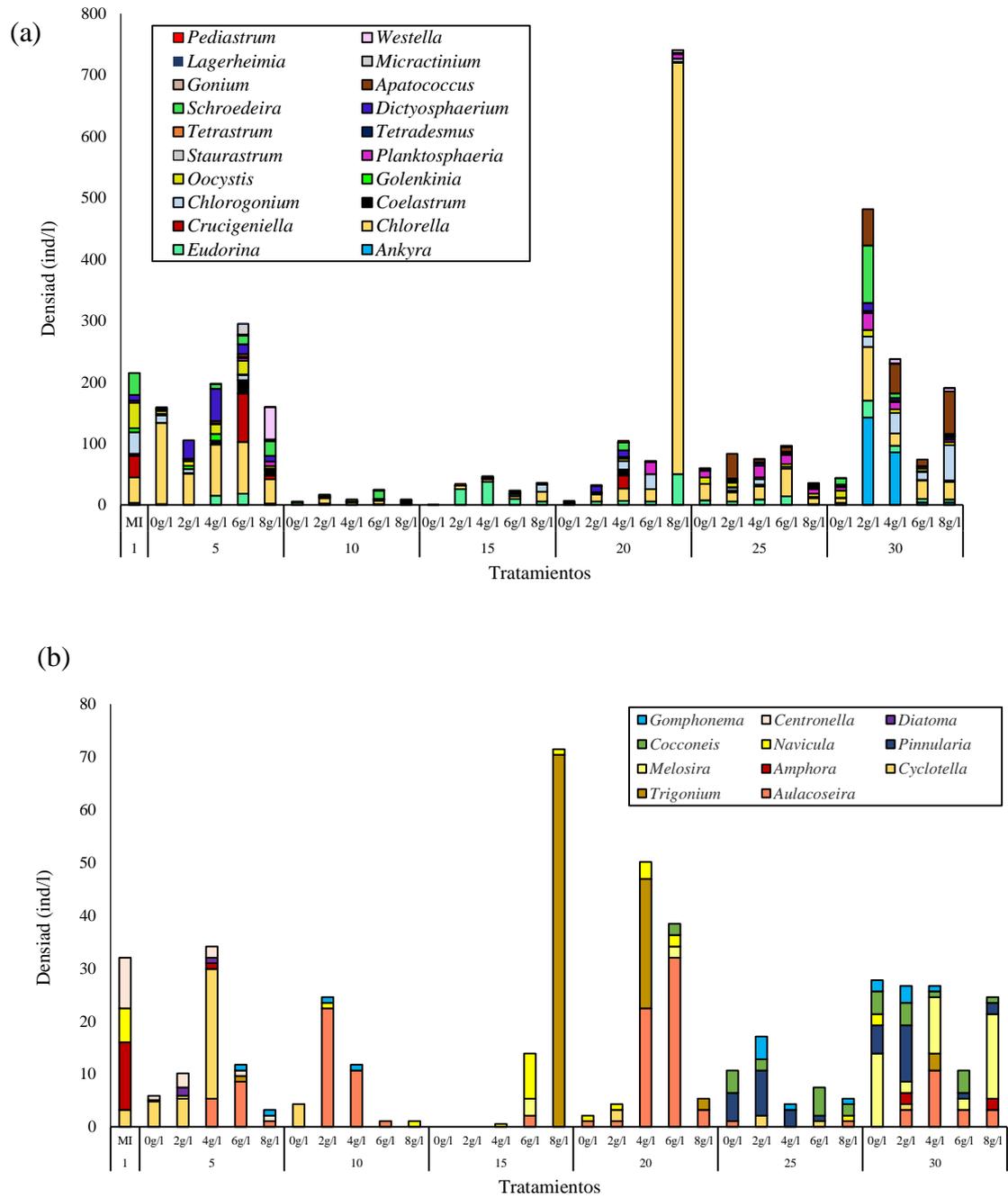
**Anexo 3.** Valores promedio de la densidad de los géneros más abundantes de cianobacterias, durante el bioensayo

Días	Tratamientos	<i>Cylindrospermopsis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Pseudanabaena</i>
1	Mi	15498	810	2899
5	0 g/l	11271	38	1896
	2 g/l	11691	52	1592
	4 g/l	17761	180	4665
	6 g/l	11866	258	3744
	8 g/l	9602	80	5422
10	0 g/l	10875	37	1914
	2 g/l	5883	114	1037
	4 g/l	3974	73	1495
	6 g/l	3031	49	1445
	8 g/l	1469	135	2868
15	0 g/l	4098	10	851
	2 g/l	3488	26	1402
	4 g/l	4087	108	3213
	6 g/l	1677	236	1300
	8 g/l	571	125	1319
20	0 g/l	6998	124	1972
	2 g/l	4863	100	1111
	4 g/l	459	208	476
	6 g/l	220	114	77
	8 g/l	119	70	221
25	0 g/l	7280	148	1577
	2 g/l	2597	113	395
	4 g/l	55	51	67
	6 g/l	99	174	163
	8 g/l	65	28	236
30	0 g/l	9482	18	950
	2 g/l	1257	63	365
	4 g/l	146	111	137
	6 g/l	51	61	67
	8 g/l	178	31	238

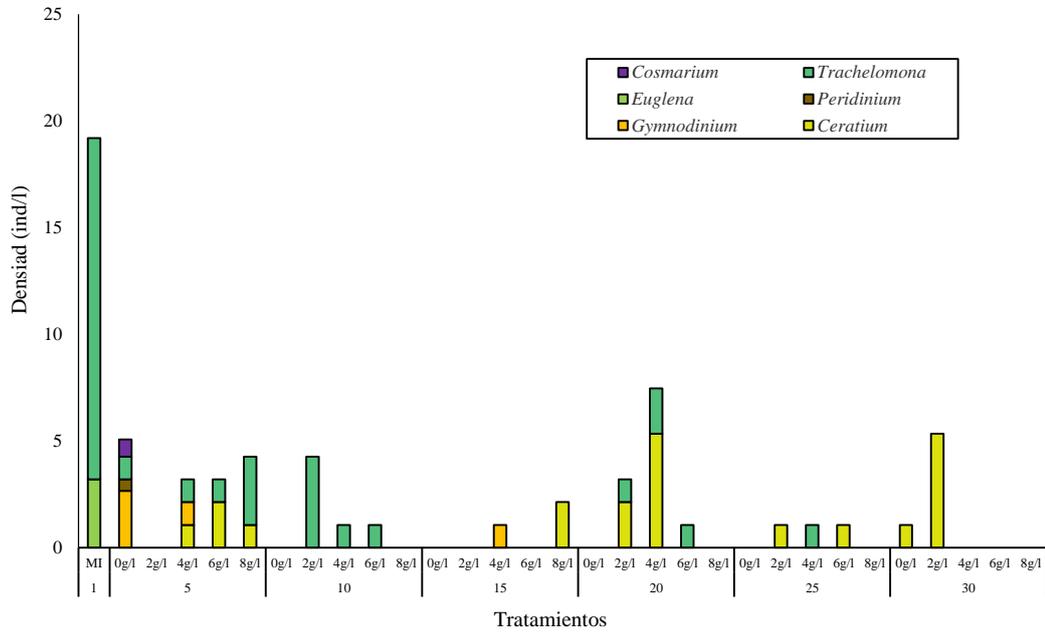
**Anexo 4.** Densidad absoluta (ind/l) de los géneros de Chlorophytas (a) y Bacillariophytas (b) más abundantes, en cada uno de los tratamientos de hojarasca de *Hordeum vulgare* en el transcurso del bioensayo



**Anexo 4.** Densidad absoluta (ind/l) de otros géneros de Chlorophytas (a) y Bacillariophytas (b) menos abundantes, en cada uno de los tratamientos de hojarasca de *Hordeum vulgare* en el transcurso del bioensayo



**Anexo 5.** Densidad absoluta (ind/l) de otros géneros de Dinophyta, Euglenophyta y Zygnematophyta, en cada uno de los tratamientos de hojarasca de *Hordeum vulgare* en el transcurso del bioensayo



**Anexo 6.** Valores promedio de la conductividad medida, durante todo el bioensayo

Conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )					
Días	0 g/l	2 g/l	4 g/l	6 g/l	8 g/l
1	636	636	636	636	636
2	660.33	667.00	681.00	684.67	721.00
3	573.33	606.00	633.67	656.00	680.33
4	557.67	609.00	631.00	646.33	681
5	621.67	691.67	719.00	744.67	762
6	598.33	681.67	706.67	723.33	753
7	623	710	742	751.67	790.67
8	627.67	720.33	753.00	763.67	789.67
9	596	653.00	684.67	695.33	720.67
10	610.19	640.07	669.94	699.81	729.68
11	572.00	654.33	684.67	691.33	721.00
12	577.33	675.33	709.33	719.67	750.00
13	559.67	651.67	692.33	689	717
14	657.00	768.00	794.33	798.33	833.67
15	687.45	728.86	770.27	811.68	853.10
16	677.00	785.33	822.33	833.67	870.33
17	721.33	828.33	865.00	881.33	911.67
18	748.23	794.88	841.53	888.18	934.83
19	723.00	832.00	794.33	798.33	833.67
20	656.00	758.00	801.00	815.67	856.67
21	680.33	779.33	816.67	838.33	870.00
22	664.33	762.67	804.67	828.33	860.33
23	721.33	586.33	879.33	909.67	948.33
24	651.30	730.12	808.93	887.74	966.55
25	731.65	789.09	846.53	903.97	961.40
26	701.00	824.67	870.33	899.33	937.33
27	732.67	855.00	901.67	937.67	978.33
28	732	855.33	902.33	938.67	977.67
29	714.67	836.00	881.67	922.00	950.67
30	735.67	861	910	951	983.33

**Anexo 7.** Valores promedio del oxígeno disuelto (OD) medido, durante todo el periodo del bioensayo

OD ( mg/l)					
Días	0 g/l	2 g/l	4 g/l	6 g/l	8 g/l
1	10.91	10.91	10.91	10.91	10.91
2	8.49	11.80	11.73	10.38	4.54
3	10.80	10.87	6.55	3.60	1.31
4	9.20	9.51	8.09	1.63	0.64
5	5.99	6.00	3.66	0.74	1.07
6	0.80	0.83	0.67	0.81	0.66
7	3.10	1.67	1.09	0.87	2.33
8	8.14	2.61	1.76	1.53	1.78
9	0.78	0.69	0.68	0.66	0.65
10	0.75	0.72	0.69	0.66	0.63
11	9.10	4.35	2.68	2.61	1.98
12	8.18	4.82	4.23	1.69	1.12
13	10.69	5.50	3.16	2.62	2.33
14	9.36	6.99	2.56	2.16	1.91
15	8.44	6.52	4.17	2.67	0.75
16	1.83	0.01	0.01	0.01	0.01
17	3.31	3.74	2.61	1.95	1.80
18	3.64	3.16	2.68	2.20	1.71
19	4.02	3.58	2.87	2.16	1.91
20	8.52	6.06	3.21	2.66	1.88
21	3.76	3.69	2.47	1.91	1.46
22	9.94	7.69	3.84	2.51	1.81
23	9.71	6.51	1.14	0.99	0.87
24	8.35	6.10	3.84	1.59	0.09
25	9.61	7.51	5.42	3.32	1.38
26	11.75	6.16	3.63	2.93	2.62
27	2.34	2.16	2.20	1.76	1.75
28	2.43	2.19	2.01	1.88	1.83
29	9.73	4.92	3.26	2.20	2.01
30	1.43	1.42	1.39	1.43	1.32

**Anexo 8.** Valores promedio del potencial hidrogeno (pH) medido, durante todo el periodo del bioensayo

pH					
Días	0 g/l	2 g/l	4 g/l	6 g/l	8 g/l
1	8.64	8.64	8.64	8.64	8.64
2	8.89	8.30	8.66	8.69	8.38
3	9.12	8.05	8.55	8.29	7.87
4	9.34	9.00	8.75	8.13	7.76
5	9.24	8.30	8.44	7.71	7.63
6	8.56	7.94	7.51	6.98	6.66
7	5.47	4.71	4.10	3.70	3.27
8	6.80	4.75	4.03	3.79	3.64
9	8.85	8.21	7.84	7.59	7.33
10	8.67	8.32	7.92	7.61	7.26
11	6.30	4.87	3.95	3.83	3.68
12	8.85	8.26	7.72	7.62	7.57
13	8.86	8.32	7.80	7.61	7.55
14	7.60	6.08	5.11	4.93	5.00
15	6.98	6.36	5.74	5.12	4.50
16	8.85	8.41	7.91	7.64	7.51
17	2.56	2.07	1.43	1.10	1.04
18	2.42	2.03	1.64	1.25	0.86
19	2.73	3.37	5.11	4.93	5.00
20	7.35	6.31	7.82	7.60	7.02
21	8.91	7.58	7.76	6.43	7.22
22	5.16	4.28	3.15	2.72	2.53
23	5.80	5.26	4.35	4.16	4.03
24	5.62	5.17	4.72	4.27	3.82
25	7.44	7.48	7.52	7.55	7.59
26	7.70	7.27	7.43	7.66	7.52
27	9.28	8.59	8.15	8.02	7.84
28	9.29	8.63	8.15	8.04	7.85
29	9.24	8.59	7.88	7.85	7.85
30	5.37	4.85	4.58	4.56	4.41