



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

**EVALUACIÓN EN EL LABORATORIO DE LA SENSIBILIDAD DE
Spirogyra spp. COMO BIOINDICADOR DE LOS PLAGUICIDAS:
DIAZINON, LAMBDA CYHALOTRINA Y SPINOSAD**

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTOR: JUAN ANDRES CHILQUINGA VILLACIS

DIRECTOR: Ing. JUAN CARLOS GONZÁLEZ GARCÍA, PhD.

Riobamba – Ecuador

2022

©2022, Juan Andrés Chiliquinga Villacis

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, JUAN ANDRES CHILQUINGA VILLACIS, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 07 de junio de 2022

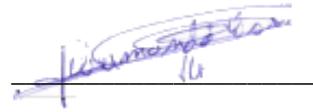
A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'J. Chiquinga Villacis', is written over a faint, illegible stamp or watermark.

Juan Andrés Chiquinga Villacis

C.I. 0503554776

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación, Tipo: Proyecto de Investigación, **EVALUACIÓN EN EL LABORATORIO DE LA SENSIBILIDAD DE *Spirogyra spp.* COMO BIOINDICADOR DE LOS PLAGUICIDAS: DIAZINON, LAMBDA CYHALOTRINA Y SPINOSAD**, realizado por el señor **JUAN ANDRES CHILQUINGA VILLACIS**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. María Soledad Núñez Moreno MSc. PRESIDENTA DEL TRIBUNAL		2022-06-07
Ing. Juan Carlos González García PhD. DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACION		2022-06-07
Ing. Lourdes Cumandá Carrera Beltrán MSt. MIEMBRO DEL TRIBUNAL		2022-06-07

DEDICATORIA

A mi Madre Luz Villacis, mi Abuelita Clara Chilibuina por ser ese ejemplo de lucha y constancia para salir adelante, además de ser mi motor de vida e inspiración diaria alentándome a no rendirme ante las situaciones de la vida.

Al Ing. Andrés Escobar por siempre tener la predisposición para brindarme un consejo generando en mi persona el interés y persistencia a través de su ejemplo de superación.

Al restaurante Mar y Sierra y con él a mi familia de corazón la Dra. María Elena Oleas, Ing. Rubén Espín, Lcda. Gabriela Espín, Ing. Julio Cepeda, por ser parte importante de este logro siendo una fuente de inspiración ya que con sus palabras motivaron a que culmine esta meta.

Juan

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por abrirme sus puertas acogiéndome como un politécnico y por todo el conocimiento impartido durante este tiempo.

Al Ing. Juan Carlos González por su apoyo y generosidad al brindándome las pautas necesarias, permitiéndome el desarrollo de mi Trabajo de Titulación.

A la Ing. Soledad Núñez. Por aportar sus conocimientos en el desarrollo y culminación de este proyecto de investigación.

Al Ing. Santiago Carrera por siempre poner a disposición el laboratorio y sus conocimientos para los análisis realizados en esta investigación.

A mis hermanos por su cariño, ayuda y palabras de aliento, estando siempre pendiente de mi bienestar sin importar la distancia.

A mi mejor amiga Liseth Paredes por ser mi compañera de alegrías y por estar siempre presente con sus consejos, alegrarme los días y hacer más llevadera la etapa universitaria.

Juan

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1.	MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	5
1.1.	Antecedentes de la investigación.....	5
1.2.	Bases teóricas.....	6
1.2.1.	<i>Bioindicadores.....</i>	6
1.2.3.	<i>Spirogyra spp.....</i>	8
1.2.4.	<i>Los plaguicidas.....</i>	9
1.2.4.1.	<i>Conceptualización de plaguicida.....</i>	9
1.2.4.2.	<i>Plaguicidas en el sector agrícola.....</i>	9
1.2.4.3.	<i>Uso de plaguicidas en el Ecuador.....</i>	10
1.2.4.4.	<i>Clasificación de los plaguicidas.....</i>	11
1.2.4.5.	<i>Plaguicidas organofosforados.....</i>	11
1.2.4.6.	<i>Propiedades de los plaguicidas.....</i>	11
1.2.4.7.	<i>Factores físico químicos que influyen en el destino de los contaminantes.....</i>	12
1.2.4.8.	<i>Plaguicidas utilizados en la investigación.....</i>	13
1.2.5.	<i>Bioacumulación.....</i>	15

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO.....	16
2.1.	Parte Experimental.....	16
2.1.1.	<i>Lugar de recolección de la muestra.....</i>	16
2.1.2.	<i>Recolección de la muestra.....</i>	16
2.1.2.1.	<i>Materiales.....</i>	16

2.1.2.2.	<i>Método</i>	17
2.1.3.	<i>Identificación de la especie</i>	17
2.1.3.1.	<i>Materiales</i>	17
2.1.3.2.	<i>Equipo</i>	17
2.1.3.3.	<i>Método</i>	17
2.1.4.	<i>Identificación de los plaguicidas utilizados con mayor frecuencia</i>	18
2.1.4.1.	<i>Materiales</i>	18
2.1.4.2.	<i>Método</i>	18
2.1.5.	<i>Método de cultivo algal</i>	18
2.1.5.1.	<i>Materiales</i>	18
2.1.5.2.	<i>Método</i>	18
2.1.6.	<i>Cálculo de la biomasa</i>	19
2.1.6.1.	<i>Materiales</i>	19
2.1.6.2.	<i>Equipo</i>	19
2.1.6.3.	<i>Método</i>	19
2.1.7.	<i>Adición de nutrientes</i>	19
2.1.7.1.	<i>Materiales</i>	19
2.1.7.2.	<i>Método</i>	19
2.1.8.	<i>Control de variables</i>	20
2.1.8.1.	<i>Materiales</i>	20
2.1.8.2.	<i>Equipo</i>	20
2.1.8.3.	<i>Método</i>	20
2.1.9.	<i>Adición de plaguicidas</i>	20
2.1.9.1.	<i>Materiales</i>	20
2.1.9.2.	<i>Método</i>	20
2.1.10.	<i>Determinación de bioacumulación</i>	21
2.1.10.1.	<i>Materiales</i>	21
2.1.10.2.	<i>Equipo</i>	22
2.1.10.3.	<i>Método</i>	22
2.1.11.	<i>Tratamiento del agua producto de la experimentación</i>	22
2.1.11.1.	<i>Materiales</i>	22
2.1.11.2.	<i>Reactivo</i>	23
2.1.11.3.	<i>Método</i>	23
2.2.	<i>Análisis estadístico</i>	23
2.2.1.	<i>Programa computacional</i>	23
2.2.1.1.	<i>Método</i>	23

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	25
3.1.	Resultados de la identificación de la especie.....	25
3.2.	Resultados de la identificación de los plaguicidas utilizados con mayor frecuencia	26
3.3.	Resultados obtenidos del control de variables pH, temperatura, conductividad y sólidos totales.....	26
3.4.	Resultados obtenidos de la observación a la biomasa de <i>Spirogyra spp.</i>	64
3.5.	Resultados del tratamiento de aguas proveniente de la experimentación.....	667
3.6.	Resultados del análisis estadístico.....	667
	CONCLUSIONES.....	68
	RECOMENDACIONES.....	69
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Resumen del aumento de los volúmenes de importación de plaguicidas durante cinco años hasta el año 2000.....	10
Tabla 1-2:	Concentraciones de los plaguicidas.....	21
Tabla 1-3:	Taxonomía de <i>Spirogyra spp.</i>	26
Tabla 2-3:	Evaluación de las variables previo a la añadidura de los plaguicidas a los cultivos.....	26
Tabla 3-3:	Medición de las variables posterior a 72h de exposición a plaguicida en los cultivos.....	30
Tabla 4-3:	Cultivo Blanco (Diazinón).....	34
Tabla 5-3:	Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Diazinón 5ml.....	35
Tabla 6-3:	Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Diazinón 10 ml.....	38
Tabla 7-3:	Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Diazinón 20 ml.....	41
Tabla 8-3:	Cultivo Blanco Cyhalotrina.....	44
Tabla 9-3:	Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Cyhalotrina a 10ml.....	48
Tabla 10-3:	Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Cyhalotrina a 20ml.....	51
Tabla 11-3:	Cultivo Blanco Spinosad.....	54
Tabla 12-3:	Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Spinosad 0,5ml.....	55
Tabla 13-3:	Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Spinosad 1 ml.....	58
Tabla 14-3:	Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Spinosad 2 ml.....	61
Tabla 15-3:	Observación de la biomasa antes y después de la adición del plaguicida Diazinón (20ml).....	64
Tabla 16-3:	Observación de la biomasa antes y después de la adición del plaguicida Cyhalotrina (20ml).....	65
Tabla 17-3:	Observación de la biomasa antes y después de la adición del plaguicida Spinosad (2ml).....	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2-1.	Estructura química diazinón.....	13
Figura 3-1.	Estructura química Lambda Cyhalotrina.....	14
Figura 4-1.	Estructura química Spinosad.....	15
Figura 1-2.	Mapa de localización punto de muestreo de Spirogyra spp.	16
Figura 2-2.	Escala colorimétrica	24

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3.	Plaguicida de preferencia.....	26
Gráfico 2-3.	Medición del pH antes de la dosificación con plaguicidas	28
Gráfico 3-3.	Medición de la conductividad antes de la dosificación de plaguicidas.....	28
Gráfico 4-3.	Medición de TDS antes de dosificación de plaguicidas	29
Gráfico 5-3.	Medición de la temperatura antes de la dosificación de plaguicidas	29
Gráfico 6-3.	Medición del pH posterior a 72h de exposición a plaguicidas en los cultivos ..	31
Gráfico 7-3.	Medición de la conductividad posterior a 72h de exposición a plaguicidas en los cultivos.....	31
Gráfico 8-3:	Medición de TDS posterior a las 72 horas de adición de plaguicidas ..	32
Gráfico 9-3:	Medición de la temperatura posterior a las 72 horas de adición de plaguicidas	32

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA
- ANEXO B:** UTILIZACIÓN DE LOS INSTRUMENTOS EN EL LABORATORIO
- ANEXO C:** MEDICIONES EN EL LABORATORIO
- ANEXO D:** MEDICIÓN DE LA CANTIDAD DE ESPECIE ALGAL
- ANEXO E:** PICOS DE LOS PESTICIDAS EN LAS MUESTRAS CONTAMINADAS
- ANEXO F:** RESULTADOS EN EL LABORATORIO LASA
- ANEXO G:** RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ESTADÍSTICO SPSS V25.0
- ANEXO H:** ENCUESTA APLICADA A LOS POBLADORES DEL BARRIO

RESUMEN

El proyecto tuvo como objetivo evaluar en el laboratorio la sensibilidad de *Spirogyra spp.*, como bioindicador de los plaguicidas: Diazinón, Lambda Cyhalotrina y Spinosad. Se realizó un estudio experimental, se recolectó la muestra de algas en el barrio Alacao del cantón Guano, la identificación de la especie se ejecutó mediante la observación en el microscopio y la comparación con la imagen de la guía de campo, para la selección de los plaguicidas se aplicó una encuesta a los agricultores del sector, se cultivó las algas en unidades experimentales, se adicionó nutrientes para la adaptación, crecimiento y reproducción; se realizó el control de variables experimentales, una vez adaptadas las algas empezaron los ensayos de sensibilidad con la adición de los plaguicidas en diferentes concentraciones durante 72 horas, se observaron los cambios físicos y se analizó cambios en el color, forma, tamaño y consistencia de los organismos. En la etapa final, se determinó bioacumulación de los plaguicidas en las algas, los resultados fueron comprobados en el laboratorio LASA. Posteriormente, se trabajó en el tratamiento del agua, análisis de picos y el análisis estadístico. Como resultados, la *Spirogyra spp.*, puede ser utilizada como bioindicador de la contaminación del agua por plaguicidas, se observaron cambios en la morfología de la especie posterior al adicionamiento de los plaguicidas en el color, forma y tamaño de la especie. Se concluye que, *Spirogyra spp.*, puede ser utilizada como bioindicador de la presencia de los plaguicidas Diazinón, Lambda Cyhalotrina y Spinosad; además, se determinó la presencia de bioacumulación de *Spirogyra spp.*; bioacumuló menor a 10 ug/Kg del plaguicida Diazinón y 534,05 mg/Kg del plaguicida Lambda Cyhalotrina en su biomasa. Se recomienda el uso del alga como bioindicador en reservorios de aguas de riego en el sector Alacao del cantón Guano.

Palabras clave: <*Spirogyra spp.*>, <DIAZINON>, <LAMBDA CYHALOTRINA>, <SPINOSAD>, <BIOINDICADOR>, <PLAGUICIDAS>.

REVISADO
04 JUL 2022
Ing. Jonathan Barroño Ugualas, M.
ANALISTA DE BIBLIOTECA

1130- DBR- UTP-2022

ABSTRACT

The aim of the research was to evaluate the sensitivity of *Spirogyra spp.* in the laboratory to be used as a bioindicator of the following pesticides: Diazinon, Lambda Cyhalotrina and Spinosad. For this, an experimental study was carried out as well as the algae sample collection in Alacao neighborhood belonging to Guano County and the identification of the species by means of a microscopic observation and comparison with the image of the field guide. For the selection of the pesticides, a survey for the farmers of the area was applied and the algae cropping was carried out in experimental units in which the nutrients were added for their adaptation, growth and reproduction. Once the algae were adapted, sensitivity tests were applied by adding pesticides at different concentrations during 72 hours resulting in physical changes. On the other hand, changes in color, shape, size and consistency of the organisms were analyzed. In the final stage, the bioaccumulation of pesticides in the algae was determined and the results were verified in the LASA laboratory. Subsequently, water treatment, spike and statistical analysis were carried out. As a result, it was determined that *Spirogyra spp.* can be used as a bioindicator of water contamination by pesticides due to the changes observed in the morphology of the species related to color, shape and size of the species after the addition of pesticides. It is concluded that *Spirogyra spp.* can be used as a bioindicator of the presence of Diazinon, Lambda Cyhalothrin and Spinosad pesticides. In addition, the presence of *Spirogyra spp.* bioaccumulation was determined and its bioaccumulation index was less than 10 ug/Kg for Diazinon and 534.05 mg/Kg for Lambda Cyhalothrin in its biomass. It is recommended to use algae as a bioindicator in irrigation water reservoirs for Alacao neighborhood belonging to Guano County.

Keywords: <*Spirogyra spp.*>, <DIAZINON>, <LAMBDA CYHALOTRINA>, <SPINOSAD>, <BIOINDICATOR>, <PESTICIDES>.



Lic. Paul Ronaldo Armas Pesantez, Mg.

C.I. 0603289877

INTRODUCCIÓN

El presente proyecto de investigación se encuentra orientado al enfoque social, puesto que, la problemática se relaciona al ser humano. La contaminación ambiental es un problema que afecta a los seres vivos a nivel mundial; las acciones humanas han resultado ser perjudiciales para el medio ambiente desde el principio de los tiempos, dicha contaminación tiene una trascendencia histórica que sobrepasa las barreras culturales, sociales, geográficas y afecta a diferentes áreas como el suelo, aire y agua.

Cabe recalcar que, el Ecuador es un país agrícola, por ende, los productores hacen uso de plaguicidas en sus cultivos; los plaguicidas son sustancias químicas que se utilizan con el fin de prevenir, destruir, mitigar, atraer, repeler o combatir las plagas (Stábile, 2018, p.1); dichas plagas son diferentes en el sector rural como urbano y por ello, los químicos, materiales y métodos utilizados para la eliminación de estas son distintos.

En el sector rural es donde se utiliza con mayor frecuencia los plaguicidas en cultivos agrícolas; por lo cual, existen normativas que regulan y controlan el uso de dichos químicos (Bahamonde, 2018, p.1). Por otro lado, los químicos son utilizados por los agricultores sin un criterio técnico; Bravo (2020, p.1) señala: "...las aplicaciones de plaguicidas se las realiza sin criterio técnico y se sitúan entre 35 a 40 aplicaciones durante el ciclo de cultivo...).

Los productores utilizan plaguicidas generalmente sin conocer la toxicidad de los mismos y el daño que esto le ocasiona a la biota. En el Ecuador, 1'320.988,67 hectáreas de superficie agrícola utiliza algún tipo de plaguicida químico en sus cultivos, lo que representa el 47%; en el restante 53% se cultiva de manera ecológica, es decir utilizan plaguicidas orgánicos o no utilizan plaguicidas (Arias, 2013, p.1). Los agricultores eligen el tipo de químico a utilizar en sus cultivos considerando características como la toxicidad, efectividad y el bajo costo de los plaguicidas (Silva, 2017, p.3).

Por ello, diversos estudios señalan que, debido al uso de agroquímicos para mantener o conservar los cultivos se perjudica de forma directa al medio ambiente y se genera daños al medio físico y pérdida de biodiversidad (Zabala et al., 2020: p.1). De esta manera, según Ávila y Granda (2018: p. 41) mencionan que: "... los pesticidas son bioacumulados y, a largo plazo producen enfermedades cancerígenas debido al aumento de su concentración".

Se han realizado investigaciones donde, según expertos en el tema concluyen que, una pequeña parte de los plaguicidas utilizados llegan a alcanzar su finalidad, lo cual quiere decir que, es tan solo una pequeña porción de los plaguicidas lo que llega a afectar a los hongos, plagas, etc.; y el restante del químico se distribuye a lo largo de la biota contaminado el suelo, aire y agua (Carvalho et al., 1998: p.1).

Los plaguicidas al ser químicos de alta toxicidad tienden a bioacumularse en los organismos,

puesto que, parte del plaguicida se queda en los cultivos y lo que falta generalmente suele llegar a contaminar el agua y el suelo; produciendo daños a largo plazo para el ser humano que consume agua de río, etc. (González et al, 2019, p.1). En consecuencia, diversas instituciones buscan dar solución a la contaminación del agua por plaguicidas, por ello, se han analizado varios métodos para la detección de agroquímicos en el agua.

Los métodos empleados para la verificación y control de la contaminación acuática son: el biomonitoreo, los ensayos biológicos o bioensayos, los cuales son una técnica que estudia los efectos de una sustancia en un organismo vivo u órgano aislado. Por ello, se considera que, una opción de inversión de bajos fondos para controlar la contaminación acuática son los bioindicadores. Se dice que, entre los bioindicadores más efectivos de la contaminación del agua se encuentran los crustáceos como: mejillones, ostiones, almejas y bellotas de mar; además de las especies algales (Silva, 2017, p.3).

Es importante mencionar que, las algas generalmente son organismos microscópicos acuáticos, capaces de indicar la calidad del agua debido a su sensibilidad a los cambios del medio en que viven, por tanto, se convierten en un referente del estado ecológico de cualquier sistema acuático (Luján, 2000, p.1). De esta manera, las algas son primordiales en el proceso para la detección de plaguicidas en el agua; Bojorge y Cantoral (2016: p.1) manifiestan que: "...las algas presentan alta capacidad de sensibilidad y capacidad de respuesta ante la eutrofización de las aguas, producto de la incorporación de sustancias derivadas de actividades antrópicas diversas como la agricultura, la industria y desechos de las ciudades..."

Se trabajó con la especie *Spirogyra spp*, la cual presenta la capacidad de captar compuestos químicos presentes en los plaguicidas; en la investigación de Silva (2017, p.88) menciona: "...la *Spirogyra spp*. Es un potente bioindicador de la presencia de plaguicidas...". Los estudios revelan que "la sensibilidad de las algas al ser expuestas a los plaguicidas organofosforados es una manifestación del alto potencial bioindicador de *Spirogyra spp*." (González et al, 2019: p.1). Por lo cual, las investigaciones realizadas comprueban la eficacia de las algas como bioindicadores de la presencia de químicos.

En Latinoamérica no se ha encontrado gran cantidad de estudios relacionados directamente con el uso de algas como bioindicadores para la determinación de la contaminación, sin embargo, se realizó un estudio donde se utilizaron dos especies algales unicelulares que son: *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus subspicatus*, organismos a los cuales se les adicionó cinco tipos de plaguicidas entre ellos Diazinón (Riva et al., 1998: p.11); como resultados de la experimentación se identificó que, el plaguicida menos tóxico es el Metamidofos con valores de C150 (72 h) de 673.87mg/l para *Scenedesmus* y 134.07 mg/l para *Chlorella*; las demás formulaciones plaguicidas se comportan de forma similar sobre la especie *Chlorella vulgaris* (Riva et al., 1998: p.11).

Por otra parte, la investigación realizada por Miño y Rodríguez, (2018:p.1) donde se analizó los

efectos toxicológicos de dos agroquímicos, atrazina y diazinón, sobre *Daphnia pulex* y *Artemia salina*; los ensayos de toxicidad aguda en *D. pulex* iniciaron con el cultivo de estos organismos, se utilizaron neonatos (<24 h de edad) que se expusieron a diferentes concentraciones de atrazina y diazinón durante 24 h, los resultados evidenciaron que *D. pulex* es el organismo más sensible a estos plaguicidas y revelan que diazinón es el agroquímico más tóxico al ser el pesticida que más afecta a la supervivencia y desarrollo de los organismos expuestos (Miño y Rodríguez, 2018: p.4).

Así también, la investigadora Silva (2017, p.4), trabajó con tres plaguicidas organofosforados (Curacrón, Malathión, Acefato) a diferentes concentraciones; los cultivos de *Spirogyraspp.* Fueron reproducidos en tanques de PVC con un volumen de 10 L donde se tomaron en diferentes factores de nutrición, para lo cual, se aplicaron tres nutrientes sustanciales con una medida de 0,1%, sin contar los cultivos blancos.

De esta manera, como resultados de la investigación se evidenció que, la tolerancia de *Spirogyra spp.* Está directamente relacionada al tiempo de exposición y las concentraciones experimentales, observándose cambios de color, cambios en su cohesión y aglutinamiento entre otros cambios. Se concluye que *Spirogyra spp.* Es un potente bioindicador de la presencia de plaguicidas organofosforados y además presenta propiedades bioacumuladoras.

En base a todo lo mencionado con anterioridad, el análisis de la sensibilidad de la *Spirogyra spp.*, es fundamental para trabajar la efectividad de un método analítico y conocer si posee capacidad como bioindicador de la contaminación por plaguicidas. Este método representa una alternativa de bajo costo al momento de evaluar la bioacumulación de plaguicidas en organismos; de igual manera, el estudio resulta de importancia pues, contribuye a la solución de una problemática de tipo social que afecta a una población determinada, de esta manera, al identificar la presencia de plaguicidas en el agua, los pobladores o las instituciones a cargo pueden realizar acciones para el tratamiento de estas aguas contaminadas y de esta forma no lleguen a ser utilizadas para el consumo humano.

Se debe considerar que, los resultados obtenidos en el presente proyecto de investigación cuentan con relevancia académica por el contenido científico de la misma y servirán como antecedente a futuros estudios; ampliando el conocimiento y motivando a los futuros investigadores a realizar estudios para expandir el alcance de la investigación.

Debido a estas características y al uso de plaguicidas por parte de los agricultores en el barrio Alacao del cantón Guano perteneciente a la provincia de Chimborazo en Ecuador, el objetivo del presente estudio es evaluar la capacidad de la *Spirogyra spp.* como bioindicador de los plaguicidas: Diazinón, Lambda Cyhalotrina y Spinosad. Esto permite observar las alteraciones fisiológicas que presentan las algas al ser contaminadas con sustancias químicas como plaguicidas y determinar cuál es la afectación que producen dichos compuestos químicos. Al suponer que las alteraciones físicas en la *Spirogyra spp.* Sean de fácil observación se podrán utilizar como un

bioindicador de la contaminación química, por ello, la relevancia de los resultados del estudio.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General

- Evaluar en el laboratorio la sensibilidad de la *Spirogyra spp.* como bioindicador de los plaguicidas: Diazinón, Lambda Cyhalotrina y Spinosad.

Objetivos Específicos

- Cultivar la especie algal considerando factores nutricionales y el entorno ambiental semejante al hábitat natural.
- Identificar el comportamiento de los microorganismos algales cultivados a diversas concentraciones de los plaguicidas: Diazinón, Lambda Cyhalotrina y Spinosad.
- Realizar pruebas experimentales en el laboratorio sobre de la tolerancia de las algas frente a los plaguicidas: Diazinón, Lambda Cyhalotrina y Spinosad.
- Determinar la presencia de bioacumulación de los plaguicidas: Diazinón, Lambda Cyhalotrina y Spinosad en *Spirogyra spp.*

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes de la investigación

Como investigaciones previas se encontraron 3 estudios relevantes que se exponen a continuación: Se analizó el estudio realizado por Riva et al., (1998: p.11), en el mismo se emplearon las siguientes algas: *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus subspicatus*, las especies estuvieron cultivadas durante 72 horas a diversos plaguicidas entre ellos Diazinón. En cuanto a la metodología, se trabajó con la técnica de inhibición del crecimiento algal para identificar las consecuencias y efectos del adiconamiento de plaguicidas. Como resultados se obtuvo que *Chlorella vulgaris* tiene mayor sensibilidad que *Scenedesmus subspicatus* a la concentración de plaguicidas. De igual manera, se identificó que el plaguicida menos tóxico sobre las dos algas es el Metamidofos con valores de C150 (72 h) de 673.87mg/l para *Scenedesmus* y 134.07 mg/l para *Chlorellavulgaris*.

Por otra parte, en una investigación se analizó los efectos toxicológicos de dos agroquímicos (Atrazina y Diazinón), sobre *Daphnia pulex* y *Artemia salina*; los ensayos de toxicidad aguda en *D. pulex* iniciaron con el cultivo de estos organismos, se utilizaron neonatos (<24 h de edad) que se expusieron a diferentes concentraciones de atrazina y diazinón durante 24 h. Los ensayos de toxicidad subletal iniciaron con la exposición de los agroquímicos en neonatos de *D. pulex* durante 21 días, evaluando su supervivencia y capacidad reproductiva. La evaluación de toxicidad aguda sobre *A. salina* comenzó con la incubación de quistes en agua de mar sintética, durante 48 h. Los resultados evidenciaron que *D. pulex* es el organismo más sensible a estos plaguicidas y revelan que diazinón es el agroquímico más tóxico al ser el pesticida que más afecta a la supervivencia y desarrollo de los organismos expuestos (Miño y Rodríguez, 2018: p.9).

De igual manera, se analizó el estudio ejecutado por Silva (2017, p.4), investigadora que trabajó con tres plaguicidas organofosforados (Curacrón, Malathión, Acefato) a diferentes concentraciones. Para el proceso de evaluación, se realizó el cultivo de la especie en tanques de 10L, cultivos a los que posteriormente se adicionó la cantidad recomendada dependiendo del plaguicida y se observaron los cambios producidos en la fisiología de la especie.

Como resultados del estudio se evidenció que la tolerancia de *Spirogyra spp.* está directamente relacionada al tiempo de exposición y las concentraciones experimentales, se observó cambios de color, en su cohesión y aglutinamiento entre otros cambios. Por lo cual, se concluye que *Spirogyra spp.* es un potente bioindicador de la presencia de plaguicidas organofosforados y además presenta propiedades bioacumuladoras, puesto que, bioacumuló 3848,19 mg/Kg del plaguicida Curacrón y 0,0444 mg/Kg del plaguicida Malathión (Silva, 2017, p.88).

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Bioindicadores

Los bioindicadores son organismos o conjunto de organismos, comunidades que dependen netamente del entorno en el que viven, es decir, su estructura, fisiología y funcionamiento dependen de los cambios que se generen en el ecosistema donde (Silva, 2017, p.6). Un organismo bioindicador es un tipo de especie que cuenta con las características ambientales particulares relacionadas a un conjunto de variables físicas o químicas según sea el caso; la especie se encuentra abierta a cambios en su fisiología, presencia, distribución espacial, conducta entre otras, estos cambios se producen cuando el sistema ecológico en el cual habitan sufre cambios o se alteran las condiciones del mismo (Rosenberg y Resh, 1993: p.34).

En conclusión, los organismos o especies se encuentran adaptados al ecosistema donde habitan y cualquier cambio que altere el ecosistema o las condiciones ambientales generarán alteraciones en la estructura, fisiología y conducta de la especie u organismo que habiten allí (Terneus et al., 2012: p.1). Los bioindicadores son especies que contienen parte de la información ambiental del hábitat que les rodea, de esta manera refleja el estado biótico y abiótico del medio ambiente reflejando de esta manera los cambios o alteraciones producidos en su entorno (Peña et al., 2005: p.1), entre las características de los bioindicadores se menciona que presentan: sensibilidad, abundancia y facilidad de identificación; los bioindicadores sirven para: evaluar el impacto de las actividades del ser humano, evalúan efectos tóxicos producidos por químicos, previenen los cambios ambientales y evalúan la riqueza de las especies (Thomann, 2020, p.1).

Los bioindicadores presentan ventajas y desventajas, entre los beneficios se destacan: fáciles de encontrar, puesto que se encuentran en la mayoría de los sistemas acuáticos y por ello, se facilita su comparación de una muestra a otra, al ser de naturaleza sedentaria es factible el análisis de los cambios producidos debido a las alteraciones en su hábitat, permanecen largos periodos de tiempo en el agua, presentan sensibilidad a los cambios, se observan de manera fácil, representan una inversión de bajo costo y sirven para identificar fuentes de contaminación; sin embargo, una de sus desventajas es que, no presentan mediciones puntuales y existe la posibilidad que estén expuestas a diversos elementos ya sean químicos o físicos con anterioridad (Silva, 2017, p.6) (Capó, 2002, p.1). Se han encontrado diversas clasificaciones de los organismos bioindicadores, se menciona que, existen bioindicadores del agua, suelo y aire. A continuación, se manifiestan algunos tipos de bioindicadores para el agua: peces, anfibios, insectos y organismos algales (Thomann, 2020, p.1).

1.2.2. Algas como bioindicadores

Las algas son organismos que presentan morfología ordinaria, los mismos pueden ser monoculares o múltiples, entre sus características estructurales se menciona que: no tienen raíces, tallos u hojas reales y todos son autotróficos. Debido a que su nivel trófico es inferior a los otros, las algas sufren modificaciones de manera directa; al presentar como característica un fácil monitoreo sirven como una herramienta favorable, y de esta forma puede ser para evaluar la presencia de contaminantes ambientales y sus alteraciones (Marqués y Piné, 2017; p.8).

Para continuar, según los autores Peña et al., (2005: p.77) mencionan que “...los bioindicadores ideales son las especies que resultan fáciles de observar, recoger, reconocer...”. Se debe considerar que, aunque los microorganismos son abundantes y fáciles de encontrar en el ecosistema, para identificar o cuantificar a dichos organismos se requiere de equipos altamente sofisticados debido a que son organismos muy pequeños.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, los bioindicadores eficaces generalmente son los organismos macroscópicos y abundantes; dichos organismos deben poseer características como: ser de fácil recolección, cuantificación, tener relación con el efecto de estudio, además de presentar basta información biológica sobre el hábitat donde se encuentra; esto para que sirvan de utilidad al momento de brindar información (Peña et al., 2005: p.77).

Por otro lado, las algas presentan ciertas propiedades en su fisiología y resultan ser especies eficientes como bioindicadores, puesto que, existen especímenes algales que muestran mayor susceptibilidad a la toxicidad, otras muestran permisividad a los cambios en el entorno y adición de nutrientes (González et al., 2014: p.24). Por ello, las algas resultan ser una muestra que brindará información efectiva sobre los cambios que se presentan en el ecosistema que habitan, ya que, al poseer una alta capacidad de sensibilidad guardan parte de la información de cambios o alteraciones.

Entre los atributos que poseen las algas como bioindicadores se menciona que: poseen ciclos de vida relativamente cortos, por lo cual indican efectos a corto plazo; presentan hábitos de fijación por lo cual, son afectadas directamente por los cambios o alteraciones físicos químicos del agua; presentan sensibilidad al ser productores primarios, son de fácil muestreo y pueden mostrar cambios de forma rápida al ser sometidos a cambios ambientales (González et al., 2014, p.24).

1.2.2.1. Factores que influyen en el crecimiento de las algas

En una población de organismos algales la reproducción se encuentra influido por la reproducción celular y la actividad fotosintética (Alfonso y González, 1985: p.1), en el crecimiento influyen diversos factores como: luz, temperatura, pH y nutrientes.

De esta manera, la luz se considera como un factor elemental para el crecimiento de los organismos algales, puesto que, representan una fuente importante de energía para la actividad fotosintética; si una célula se encuentra limitada de luz, es decir, si a una célula no se le proporciona la luz suficiente, la misma se desarrollará de forma lentificada y por ende, el crecimiento será lento; por otra parte, se debe evitar proporcionar a la célula una cantidad de luz elevada, pues, se inhibirá el crecimiento del alga; en cuanto a los cultivos algales artificiales se recomienda hacer uso de la luz artificial, solar o ambas (Valdés, 2012, p.37).

Otro de los elementos a considerar es la temperatura, dicho elemento resulta ser tan importante como la intensidad luminosa para la fotosíntesis, se dice que "...existe una temperatura óptima para la cual la tasa de fotosíntesis alcanza un máximo, considerando intensidades de luz de saturación la velocidad de fotosíntesis aumenta con la temperatura, este efecto es menor a intensidades de luz menores (Whittinghan, 1974; citado por Alfonsel y Gonzáles, 1985, p.11).

Cabe recalcar que, para el cultivo de algas la temperatura ideal debe estar por debajo de los 24 °C y por encima de los 20 °C, se debe tomar en cuenta que dichos valores pueden variar dependiendo del espécimen y el entorno del cultivo, se dice que, algunos cultivos pueden soportar valores superiores a 16 °C y menores a 27 °C, cuando baja de 16 °C se reduce el crecimiento y si sobrepasa de 35 °C es letal para el organismo algal (DelMar, 2012, p.25) (Silva, 2017, p.10).

En cuanto al pH, los valores influyen también sobre el grado de fotosíntesis, debido a la alteración que sufre el equilibrio carbonato-bicarbonato y por lo tanto sobre la asimilación del carbono inorgánico, a valores de pH mayores el grado de fotosíntesis es menor (Sorokin,1959; citado por Alfonsel y Gonzáles, 1985, p.11). Los valores óptimos para el pH deben encontrarse en el rango de 8.2 a 8.7 (Valdés, 2012, p.37).

Finalmente, el suministro de medio de cultivo y las concentraciones de los nutrientes deben estar acoplado con la producción de biomasa de forma que se suministren en cantidad suficiente para que nunca se produzca una limitación que tendría como consecuencia una disminución en la productividad de biomasa o incluso alguna disfunción del cultivo como la foto inhibición, los principales nutrientes son: agua, carbono, oxígeno, nitrógeno, fósforo, micronutrientes y macronutrientes (Fernández, 2014, p.11) (Saluzzo y Farré, 2012: p.18).

Como se menciona anteriormente, para el cultivo de algas se requiere de factores que promuevan el crecimiento de dichos organismos, de esta manera, en un futuro servirán como bioindicadores funcionales. A continuación, se describe todo lo relacionado con la especie algal *Spirogyra spp.*

1.2.3. Spirogyra spp.

La *Spirogyra* es un alga verde que se encuentra representada por cerca de cuatrocientas especies y todas ellas se caracterizan por presentar cloroplastos en forma de cinta, que se disponen

enrollados en una perfecta espiral, pegados a la pared de las células cilíndricas y alargadas que los contienen, los tallos de *Spirogyra* crecen y crecen en longitud, pero nunca se ramifican (Guillén, 2013, p.24).

Spirogyra es un alga verde de agua dulce, sus células son semejantes y están reunidas en forma de filamento simple, se caracteriza por presentar cloroplastos distribuidos a lo largo de una cinta en forma de espiral, los cloroplastos son los encargados de realizar fotosíntesis (Contenidos Educativos Digitales, s.f, p.1). La *Spirogyra* tiene aproximadamente entre 10 y 100 µm de ancho y puede llegar a varios centímetros de longitud (Whitton y Brook, 2002: p.1).

Cuando se juntan varias algas, los filamentos forman masas con aspecto de algodón, que flotan en el agua y que pueden observarse a simple vista; la reproducción asexual ocurre por fragmentación de los filamentos, también puede reproducirse de manera sexual; existen especies de *Spirogyra* que presentan diferenciación sexual y en la reproducción se acercan y forman un puente; a través del puente, el contenido de un filamento pasa hacia el otro y genera un nuevo individuo, que se desarrolla cuando las condiciones ambientales son favorables y cuando no hay diferenciación sexual entre individuos, 2 células de un mismo filamento se unen para dar lugar a la formación de un nuevo individuo (Contenidos Ceibal, s.f, p.1).

1.2.4. Los plaguicidas

1.2.4.1. Conceptualización de plaguicida

Los plaguicidas son generalmente y en su mayoría compuestos químicos utilizados en el sector agrícola para combatir, eliminar y mitigar plagas de diferentes tipologías que pueden afectar a los cultivos o plantas (Morell y Candela, 1998: p. 273). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (1990; citado por Morell y Candela, 1988: p. 273) define a los plaguicidas como: “una sustancia que tiene como propósito la prevención, control y destrucción de una plaga”.

1.2.4.2. Plaguicidas en el sector agrícola

En el Ecuador el Instituto Ecuatoriano de Normalización (2013, p. 2), en su normativa señala que el pesticida es una sustancia con el propósito de prevenir y destruir una plaga, que pueda causar daño a la producción agrícola, así también manifiesta que el término incluye los reguladores de crecimiento, defoliantes, desecantes, y los protectores para el deterioro (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013, p.2).

1.2.4.3. Uso de plaguicidas en el Ecuador

A nivel nacional 81.248,36 hectáreas usan plaguicidas orgánicos, las cuales corresponden al 4.23% de la superficie de cultivos permanentes, y al 1.26% del total de la superficie de cultivos transitorios, mientras para los plaguicidas químicos, la superficie de uso fue 1'764.426.44 (INEC- Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC), 2014, p.1).

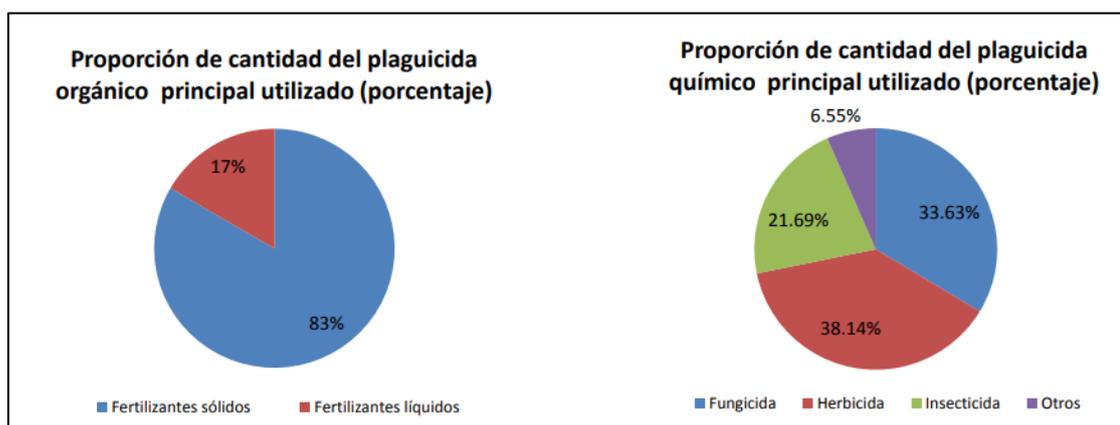


Figura 1-1. Uso de plaguicidas

Fuente: INEC- Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC), 2014.

Por otra parte, actualmente Agro calidades la empresa destinada al control de productos agrícolas y agropecuarios; de igual manera, cuidan el estado zoonosanitario de cultivos, se procura incrementar el nivel de agilidad y eficacia de exportaciones para fomentar la participación privada, comunitaria y autogestión en la ejecución de políticas sanitarias (Silva, 2017, p.15) (Mariño,2005, p.24).

Tabla 1-1: Resumen del aumento de los volúmenes de importación de plaguicidas durante cinco años hasta el año 2000

AÑOS	1996	1997	1998	1999	2000
Clasificación	Peso				
Funguicidas	1829,9	4874,2	6026,2	5416,2	6316,5
Herbicidas	1789,3	8709,9	7671,5	5582,7	9042,1
Insecticidas	678,4	2262,1	4067,2	2688,00	2772,9
Nematicidas	610,4	2386,4	2165,1	2297	2106,7
Industrial	72,5	9,4	30,0	1,0	1,7
Doméstico	33,1	292,7	34,0	10	13,3

Varios	267,7	677,5	5214	7897	10164,9
TOTAL	5281,3	19212,2	25208	23891,90	30418,1

Fuente:(Silva, 2017, p.15) y Agro calidad.

Realizado por: Chilibringa, Juan, 2022.

De la tabla se evidencia que, a largo plazo existe mayor probabilidad que tanto el medio ambiente como el hombre se encuentren expuestos a los residuos de plaguicidas y más aún si los mismos no son utilizados adecuadamente (Mariño, 2005, p.24).

1.2.4.4. Clasificación de los plaguicidas

Los plaguicidas pueden ser denominados de acuerdo a la plaga que controlan, por ejemplo: los fungicidas controlan hongos, los herbicidas controlan malezas, los insecticidas controlan insectos, etc.; sin embargo, los plaguicidas también pueden clasificarse de acuerdo a los siguientes criterios: modo de acción, fin perseguido, grupos químicos o familias químicas, propiedades físico-químicas, formulaciones y grado de toxicidad (CIPOTATO, 2019, p.1).

1.2.4.5. Plaguicidas organofosforados

Son químicos de ácido fosfórico utilizados de manera frecuente para la prevención y destrucción de pestes o plagas que infectan a los cultivos (Silva, 2017, pp.15-16). Dichos plaguicidas presentan propiedades tóxicas y eficacia en el control, por lo cual, se consideran la opción más adquirida en el mercado a comparación de los clorados, se debe recalcar que, los plaguicidas clorados están prohibidos en el Ecuador; de aquí que, los agricultores al momento de elegir un plaguicida se guían por su eficiencia y costo (Mariño, 2005.p.33) (Silva, 2017, pp.15-16).

1.2.4.6. Propiedades de los plaguicidas

Entre las principales propiedades de los plaguicidas se menciona que son liposolubles, por lo cual resultan tóxicos para el ser humano debido a que, pueden acumularse en el tejido grasoso y, a largo plazo causar daños en el sistema nervioso; también son volátiles, es decir se transforman fácilmente en gas y pueden ser inhalados con facilidad por el ser humano, finalmente son degradables o se descomponen sin causar daños en el ambiente (Silva, 2017, p.16) (Benítez, 2012, p.24).

1.2.4.7. Factores físico químicos que influyen en el destino de los contaminantes

Volatilización es la tendencia del plaguicida a pasar a la fase gaseosa. Todas las sustancias orgánicas son volátiles en algún grado dependiendo de su presión de vapor, del estado físico en que se encuentren y de la temperatura ambiente; la volatilidad se mide a partir de la constante de Henry; que depende de la presión de vapor en estado líquido y de la solubilidad en agua; en cuanto a la Presión de Vapor, es una medida de volatilidad de una sustancia química (plaguicida) en estado puro y es un determinante importante de la velocidad de volatilización al aire desde suelos o cuerpos de agua superficiales contaminados, la presión de vapor varía; se incrementa la presión cuando se incrementa la temperatura y disminuye cuando disminuye la temperatura (AgroSpray, 2020, p.1). Para continuar, la constante de la Ley de Henry describe la tendencia de un plaguicida a volatilizarse del agua o suelo húmedo, el valor se calcula usando la presión de vapor, solubilidad en agua y peso molecular de un plaguicida; cuando el plaguicida tiene una alta solubilidad en agua con relación a su presión de vapor, el plaguicida se disolverá principalmente en agua; un valor alto de la Ley de Henry, indica que un plaguicida tiene un potencial elevado para volatilizarse del suelo húmedo; un valor bajo predice un mayor potencial de lixiviación del plaguicida (AgroSpray, 2020, p.1).

Por otro lado, la persistencia se define como la capacidad de cualquier plaguicida para retener sus características físicas, químicas y funcionales en el medio en el cual es transportado o distribuido; durante un período limitado después de su emisión; los plaguicidas que persisten más tiempo en el ambiente tienen mayor probabilidad de interactuar con los diversos elementos que conforman los ecosistemas (AgroSpray, 2020, p.1).

De esta forma, si su vida media y su persistencia es mayor a la frecuencia con la que se aplican; los plaguicidas tienden a acumularse tanto en los suelos como en la biota y, con el tiempo; la mayoría de los plaguicidas sufren una degradación como resultado de reacciones químicas y microbiológicas en suelo o agua; la vida media está definida como el tiempo (en días, semanas o años) requerido para que la mitad del plaguicida presente después de una aplicación se descomponga en productos de degradación (AgroSpray, 2020, p.1).

La solubilidad en agua de un plaguicida es una medida que determina la máxima concentración de un plaguicida a disolverse en un litro de agua y por lo general tiene un rango de 1 a 100,000 mg/L, los plaguicidas muy solubles en agua se adsorben con baja afinidad a los suelos y; por lo tanto, son fácilmente transportados del lugar de la aplicación por una fuerte lluvia, riego o escurrimiento, hasta los cuerpos de agua superficial y/o subterránea; la Agencia de Protección Ambiental (EPA), de los Estados Unidos, realizó estudios de laboratorio durante 10 años, asociando ciertas propiedades de los plaguicidas con la lixiviación; los datos se muestran en el siguiente cuadro (AgroSpray, 2020, p.1).

1.2.4.8. Plaguicidas utilizados en la investigación

- Diazinón

El Diazinón en la sustancia pura es un aceite incoloro prácticamente sin olor, para uso comercial es un líquido pardo pálido a oscuro, se usa como plaguicida, Diazinón es el nombre común de un plaguicida organofosforado usado para controlar insectos en el suelo, en plantas ornamentales y en cosechas de frutas y hortalizas, se vende bajo los nombres registrados de Alfatox, Basudin, AG 500, Dazzel, Gardentox y Knoxout; Nombre químico (IUPAC): O,O-dietil O-2-isopropil-6-metilpirimidin-4-il fosforotioato (Centro de Información de la ATSDR, 2020, p.1).

Formulación química:

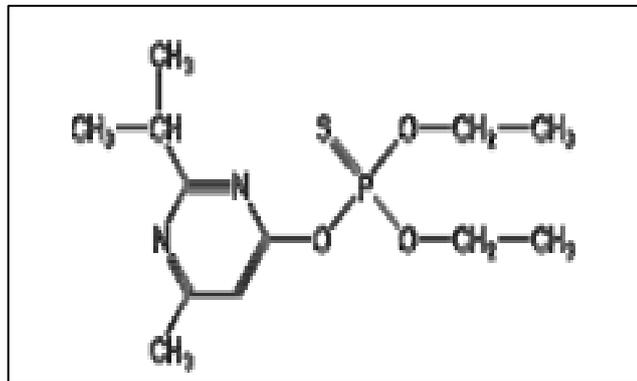


Figura 2-1. Estructura química diazinón

Fuente: Organización Panamericana de la Salud, 1966.

El diazinón es efectivo contra las moscas y las cucarachas, así como contra muchas plagas de insectos que atacan las frutas y verduras. Además de las preparaciones más comunes, puede usarse en cordones impregnados para exterminar las moscas (Wayland, 1966, p.11).

- Lambda Cyhalotrina

El nombre común es lambda-cyhalothrin, pertenece al grupo químico piretroide, clorado, fluorado, los nombres comerciales son: Commodore, Cymperator, Demand, Icon, Judo, Karate, Karate Zeon, Kung Fu, Lambda Cihalotrina, Morgan, Ninga, Sagaz. Su fórmula: C₂₃H₁₉ClF₃NO₃, es de acción biocida: insecticida, es utilizado para el control de un amplio rango de insectos como áfidos, Lepidóptera o Coleóptera en diversos cultivos (Manual de Pesticidas de Centroamérica, 2020, p.1).

Formulación química:

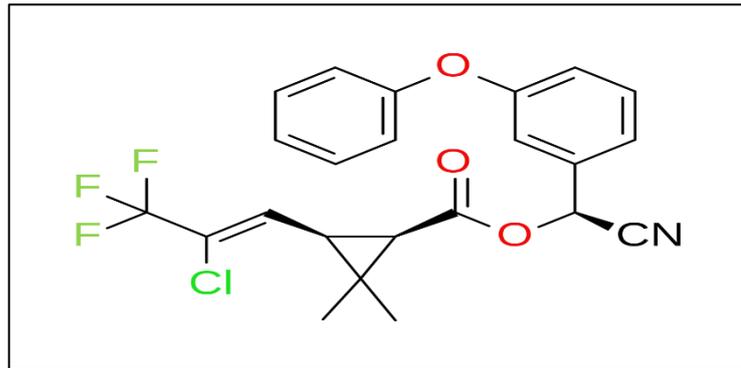


Figura 3-1. Estructura química Lambda Cyhalotrina

Fuente: Manual de Pesticidas de Centroamérica, 2020.

Es importante mencionar que, se degrada rápidamente en el suelo, la degradación ocurre por oxidación e hidrólisis del éster, también se degrada por acción bacteriana; e disipa y se degrada rápidamente en el agua en sistemas acuáticos, es muy tóxico para organismos acuáticos y puede causar efectos adversos a largo plazo en el ambiente acuático; por su adsorción al suelo y al sedimento, puede ser transportado en las partículas y presentar un riesgo para los organismos del suelo o bentónicos (en sistemas acuáticos); Se encuentra entre los 10 insecticidas problema que superan la norma ecotoxicológica de agua (MTR) en Holanda (2003-2007) (Manual de Pesticidas de Centroamérica, 2020, p.1).

- Spinosad

Comúnmente se conoce como Spinosad, pertenece al grupo químico: espinosin, los nombres comerciales son: Gf-120, Naturalyte, Spintor, Spinoace, Success, Tracer; la fórmula es C₄₁H₆₅NO₁₀(spinosin A) + C₄₂H₆₇NO₁₀(spinosin D), es de acción biocida insecticida, se utiliza para el control de lepidópteros, trips, escarabajos y ortópteros en cultivos como algodón, brócoli, repollo, chile y tomate, y en plagas urbanas (Manual de Pesticidas de Centroamérica, 2020, p.1).

Formulación química:

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Parte Experimental

2.1.1. Lugar de recolección de la muestra



Figura 1-2. Mapa de localización punto de muestreo de *Spirogyra* spp.

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

La acumulación de la muestra se realizó en el barrio Alacao del cantón Guano perteneciente a la provincia de Chimborazo en Ecuador, la misma sirvió tanto para la identificación de la especie como para el cultivo.

2.1.2. *Recolección de la muestra*

2.1.2.1. *Materiales*

- Recipientes de vidrio y plástico con tapa
- Espátula, pinza y libreta
- Botas y guantes

2.1.2.2. Método

En cuanto al método se aplicó la técnica de recolección y conservación de algas de agua dulce planteada por Guevara, del Herbario de la Universidad de Panamá (Silva, 2017, p.26) (Guevara, s.f.pp.1-5). En el sitio del muestreo mencionado anteriormente se realizó la recolección a mano de las algas para posteriormente ser colocadas en recipientes adecuados.

A continuación, la muestra seleccionada para identificar la especie algal fue insertada en recipientes de vidrio con tapa rosca, debido a que, la cantidad recolectada de biomasa fue 10gr. Para la realización del cultivo se utilizó un recipiente de plástico con volumen de 10L, pues, la cantidad de biomasa recolectada para ello fue mayor.

2.1.3. Identificación de la especie

2.1.3.1. Materiales

- Recipientes de vidrio con tapa
- Espátula y pinza
- Libreta
- Guantes
- Placas porta y cubre objetos
- Alcohol
- Algodón

2.1.3.2. Equipo

- Microscopio

2.1.3.3. Método

Para la identificación de la especie se consideró la Guía de campo para la identificación de algas, Agricultura y Agroalimentación de Canadá (Silva, 2017, p.26), (Serediak y Huynh, 2006: pp.12-15), en dicha guía se recomienda comprobar la descripción escrita de la especie, es decir, la bibliografía, no solo hacer la comparación de gráficos y fotos.

Para continuar se recolectó aproximadamente 10gr de biomasa como muestra algal para ser analizada, la muestra se trasladó al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; el equipo utilizado para la observación de la muestra

fue un microscopio de marca AmScope con aumento de 40 x.

2.1.4. Identificación de los plaguicidas utilizados con mayor frecuencia

2.1.4.1. Materiales

- Hojas de papel
- Esferos

2.1.4.2. Método

Se creó una encuesta compuesta por cinco preguntas cerradas para conocer la preferencia de los agricultores al momento de utilizar un plaguicida, la encuesta se aplicó a 15 pobladores que aceptaron participar de manera voluntaria mediante un consentimiento verbal en el barrio Alacao del cantón Guano perteneciente a la provincia de Chimborazo en Ecuador, lugar de recolección de las muestras algales.

2.1.5. Método de cultivo algal

2.1.5.1. Materiales

- Contenedor de plástico
- Recipientes con volumen de 10L

2.1.5.2. Método

Se consideró, pertinente la utilización del Diseño Completamente al Azar Bifactorial, por ello se procedió a realizar el cálculo del número de cultivos. Fueron utilizados 30 recipientes de plástico cada uno con capacidad de 10L, para el cultivo se adquirió el agua gracias a la colaboración de una empresa potabilizadora de la ciudad de Riobamba, sin embargo, para tener la garantía de la inocuidad del líquido, el mismo se sometió a un análisis de dureza.

Una vez comprobado que el agua se encuentra dentro de los parámetros fue utilizada para el cultivo, los recipientes fueron llevados al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias, posteriormente se adicionó el agua a cada contenedor, para ello se utilizó un recipiente con medida de 10L, garantizando de esta manera la misma medida para todos los cultivos.

2.1.6. Cálculo de la biomasa

2.1.6.1. Materiales

- Recipientes con volumen de 1L
- Vidrio reloj
- Papel filtro
- Libreta y esfero
- Espátula

2.1.6.2. Equipo

- Balanza analítica

2.1.6.3. Método

En cuanto al cálculo para determinar la biomasa para cada cultivo, se pesó la cantidad recolectada y filtrada dando como resultado 300gr, lo cual fue dividido para 10 contenedores dando como resultado 30gr a cada contenedor.

2.1.7. Adición de nutrientes

2.1.7.1. Materiales

- Pera de succión
- Varilla de agitación
- Pipeta de 25ml
- Bioestimulante a base de algas

2.1.7.2. Método

En este caso se aplicó el método descrito por Robledo (1993), el cual señala que: “agregar los fertilizantes en su presentación compacta al agua de los cultivos, es forma más eficaz y de bajo presupuesto para mantener la estabilidad de nutrientes...” (Silva, 2017, p.29).

El Bioestimulante a base de algas. Macro y Micro + Prom. De crecimiento, en presentación: 1/4 L el ingrediente activo son algas marinas: 12.00 % (Incluyendo Bioestimulantes). De esta manera se

adiciono 25 ml del Bioestimulante en cada recipiente de 10 L cumpliendo así con la recomendación del fabricante; con la ayuda de una varilla de agitación se incorporó de manera homogénea, cabe recalcar que se debe procurar adicionar directamente al agua del cultivo y no a la biomasa.

2.1.8. Control de variables

2.1.8.1. Materiales

- Recipientes
- Libreta y esfero
- Pera de succión
- Pipeta

2.1.8.2. Equipo

- Multiparámetro
- Termómetro

2.1.8.3. Método

Para el control de las variables como: pH, temperatura, conductividad y sólidos totales se utilizó el equipo Multiparámetro y termómetro de forma simultánea, esto se realizó en las muestras acumuladas anteriormente. Luego, se categorizó las muestras para llevarlas al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.1.9. Adición de plaguicidas

2.1.9.1. Materiales

- Espátula
- Varilla de agitación
- Pipetas

2.1.9.2. Método

Se tomó a consideración las recomendaciones realizadas por los fabricantes para la adición de los

plaguicidas, se trabajó con tres dosis: baja, recomendada y una más alta. Se realizó la categorización utilizada por Silva (2017, p.) para denominar con la letra A (Diazinón); B (Lambda Cyhalotrina) y C (Spinosad); para señalar la dosificación o concentración se utilizó 1 (Baja), 2 (Recomendada), 3 (Alta); así también para denominar las repeticiones se utilizó a, b y c; en la siguiente tabla se expone las concentraciones:

Tabla 1-2: Concentraciones de los plaguicidas

Diazinón (A)	Concentración	Lambda Cyhalotrina (B)	Concentración	Spinosad (C)	Concentración
A1a	5ml	B1a	5ml	C1a	0.5ml
A1b	5ml	B1b	5ml	C1b	0.5ml
A1c	5ml	B1c	5ml	C1c	0.5ml
A2a	10ml	B2a	10ml	C2a	1ml
A2b	10ml	B2b	10ml	C2b	1ml
A2c	10ml	B2c	10ml	C2c	1ml
A3a	20ml	B3a	20ml	C3a	2ml
A3b	20ml	B3b	20ml	C3b	2ml
A3c	20ml	B3c	20ml	C3c	2ml

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

2.1.10. Determinación de bioacumulación

2.1.10.1. Materiales

- Vidrio reloj
- Papel aluminio
- Recipientes plásticos
- Varilla de agitación
- Espátula
- Mortero
- Colador
- Bolsas Ziploc

2.1.10.2. *Equipo*

- Balanza analítica
- Espectrofotómetro de IR, A LLAMA, UV.
- Equipo de Cromatografía de gases con NPD
- Multiparámetro

2.1.10.3. *Método*

Al finalizar el experimento, se observó cambios en los organismos algales como el color entre otros, por ello, se consideró posible la bioacumulación los plaguicidas en la biomasa de *Spirogyra*. Para constatar estos resultados se realizó el análisis en el Laboratorio LASA.

En primer lugar se realizó la lectura de picos de los plaguicidas netos con el cromatógrafo de gases con NPD, posteriormente, las muestras de los cultivos con concentraciones altas de los plaguicidas se trasladaron al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, para realizar las lecturas se utilizó el cromatógrafo de gases con NPD; los picos de las muestras no coincidieron con los picos de los plaguicidas en base a las lecturas del equipo, por lo cual, la biomasa de la *Spirogyra* expuesta a los plaguicidas (Diazinón, Lambda Cyhalotrina y Spinosad), se recolectó para ser pesada y rotulada en bolsas ziploc y finalmente ser trasladadas al laboratorio LASA, para realizar el respectivo análisis de bioacumulación.

Para realizar el análisis de la clorofila, se realizaron 2 lecturas; la primera en una muestra sin contaminar y las segunda de las muestras contaminadas con plaguicidas, en base a los resultados de la bioacumulación obtenidos en el laboratorio LASA y los picos obtenidos de la clorofila de la muestra pura y la muestra adicionada con plaguicidas en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, se procede a realizar una comparación de resultados.

2.1.11. *Tratamiento del agua producto de la experimentación*

2.1.11.1. *Materiales*

- Vidrio reloj
- Balanza
- Espátula
- Recipientes de 200 L

2.1.11.2. *Reactivo*

- Sulfato de aluminio

2.1.11.3. *Método*

Posterior, al adicionamiento de 10 L en cada cultivo se obtuvo en total 300 litros, como se mencionó anteriormente en cada cultivo se adicionó 10 L de agua. Luego de la experimentación este volumen fue aproximadamente de 200L, a los cuales para ser eliminados se les realizó un tratamiento, para minimizar los efectos adversos en el medio ambiente.

En este proceso, el agua resultante se utilizó en la aspersión de composta, antes de utilizar el agua se procedió a la adición de sulfato de aluminio a los 200 litros de agua resultantes de la experimentación, según las recomendaciones del fabricante se disolvió 200 gr de este compuesto en 2 L de agua para luego adicionar al volumen total, mediante agitación la muestra de agua se homogenizó y trascurridas 24 horas se procedió a realizar el análisis del pH, conductividad y sólidos totales para comprobar si el agua está dentro de los parámetros para el uso de riego.

2.2. **Análisis estadístico**

2.2.1. *Programa computacional*

- SPSS versión 25.0

2.2.1.1. *Método*

Para el análisis estadístico se tomó en cuenta el proceso realizado por Silva (2017, p.), donde, las variaciones de color se transformaron a una escala numérica y de esta manera obtener los datos. Consecuentemente, los datos se trasladaron al programa estadístico SPSS versión 25.0 para la obtención de tablas y gráficos estadísticos, varianza Anova y el Test de Tukey.

Análisis que contribuyen a la determinación de la incidencia de los productos y dosis sobre la biomasa de la muestra algal. La escala propuesta por Silva (2017, p.33), se expone a continuación y se aplicó de manera general para los tres plaguicidas utilizados:

5	VERDE
4	VERDE AMARILLENTO
3	CAFÉ CLARO
2	CAFÉ OSCURO
1	BLANCO

Figura 2-2. Escala colorimétrica

Fuente: Silva, 2017.

La escala se interpreta de la siguiente forma: 5 para el valor óptimo y 1 para el valor más alejado del blanco (Silva, 2017, p.).

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

3.1. Resultados de la identificación de la especie

Para la identificación del espécimen se trabajó con la Guía de campo para la identificación de algas, Agricultura y Agroalimentación de Canadá (Silva, 2017, p.34), (Serediak&Huynh,2006, pp.12-15). Se recolectó 10gr, de especie algal para ser analizada la misma fue llevada al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Mediante el equipo utilizado en este caso, un microscopio con cámara digital USB se capturó imágenes de la microscopía de la especie algal, se utilizó un lente con aumento de 40x, posteriormente se procedió a realizar la comparación de las imágenes obtenidas con las presentes en la guía antes mencionada.



Figura 1-3. *Spirogya spp*

Fuente: Guía de campo para la identificación de las algas, sf.

Como resultado, se puede observar alta similitud en las imágenes, esto indica que, efectivamente la muestra algal pertenece a la especie *Spirogyraspp*; se puede identificar que presenta características propias de la especie señaladas en el capítulo I, con base en los resultados se realiza la siguiente taxonomía:

Tabla 1-3: Taxonomía de *Spirogyra spp*

Taxonomía de <i>Spirogyra spp.</i>			
Reino	Subreino	División	Subdivisión
Plantae	Viridiaeplantae	Charophyta	Conjugophytina
Clase	Orden	Familia	Género
Conjugophyceae	Zygnematales	Zygnemataceae	Spirogyra

Fuente: Guía de campo para la identificación de las algas, sf.

Realizado por: Chilibinga, Juan, 2022.

3.2. Resultados de la identificación de los plaguicidas utilizados con mayor frecuencia

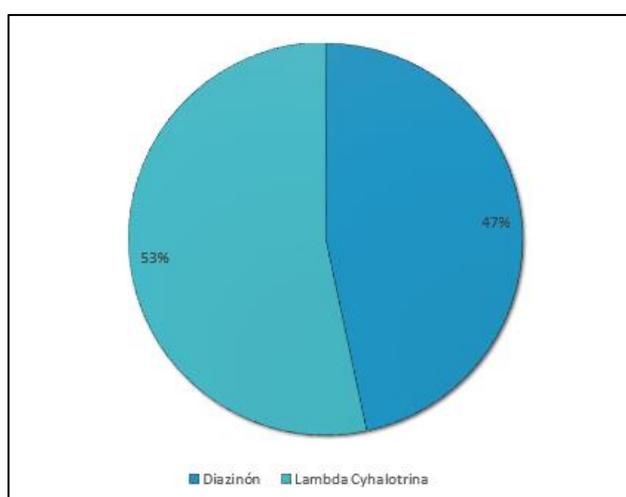


Gráfico 1-3. Plaguicida de preferencia

Realizado por: Chilibinga, Juan, 2022.

En el gráfico 1-3 se observa que los agricultores pertenecientes al barrio Alacao del cantón Guano perteneciente a la provincia de Chimborazo en Ecuador muestran mayor preferencia por el plaguicida Lambda Cyhalotrina al momento de combatir cualquier plaga esto con el 53%.

3.3. Resultados obtenidos del control de variables pH, temperatura, conductividad y sólidos totales

Tabla 2-3: Evaluación de las variables previo a la añadidura de los plaguicidas a los cultivos

Cultivo	pH	Conductividad (mS/cm)	TDS (g/L)	Temperatura (T)
A1.a	7,20	0,5	0,27	17,8
A1.b	7,18	0,5	0,27	17,7
A1.c	7,20	0,5	0,27	17,8

A2.a	7,10	0,5	0,27	17,8
A2.b	7,20	0,5	0,27	17,8
A2.c	7,20	0,5	0,27	17,8
A3.a	7,10	0,5	0,27	18,2
A3.b	7,12	0,5	0,27	18,3
A3.c	7,16	0,5	0,27	18,2
B1.a	7,80	0,5	0,27	18,3
B1. b	7,20	0,5	0,27	18,3
B1.c	7,20	0,5	0,27	18,1
B2.a	7,40	0,5	0,27	17,9
B2.b	7,50	0,5	0,27	17,9
B2.c	7,50	0,5	0,27	17,9
B3.a	7,20	0,5	0,27	17,9
B3.b	7,50	0,5	0,27	18,0
B3.c	7,50	0,5	0,27	18,0
C1.a	7,20	0,5	0,27	18,0
C1.b	7,20	0,5	0,27	18,0
C1.c	7,85	0,5	0,27	18,0
C2.a	7,90	0,5	0,27	18,0
C2. b	7,90	0,5	0,27	18,0
C2. c	7,90	0,5	0,27	18,0
C3.a	7,10	0,5	0,27	18,0
C3. b	7,12	0,5	0,27	18,0
C3.c	7,10	0,5	0,27	18,0

Realizado por: Chilibingua, Juan, 2022.

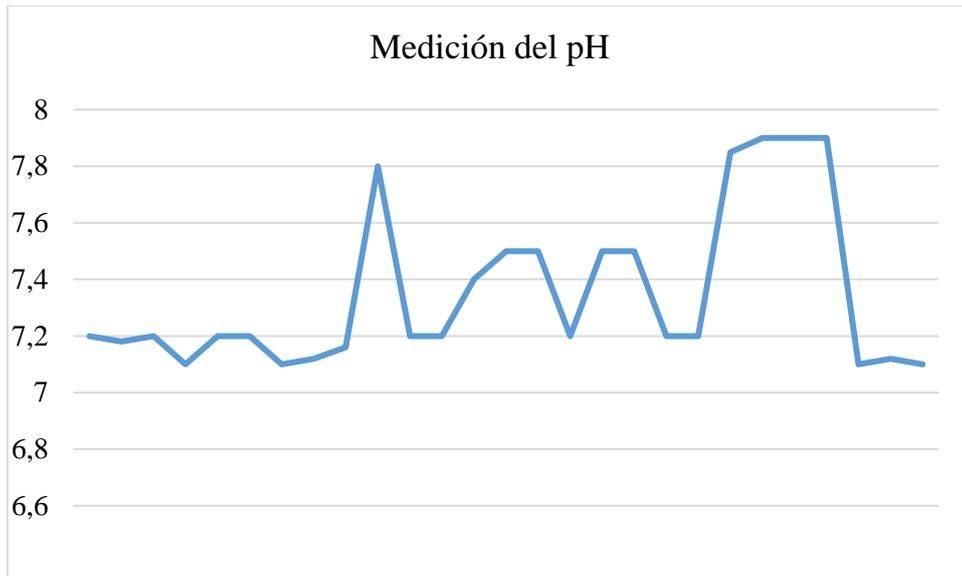


Gráfico 2-3. Medición del pH antes de la dosificación con plaguicidas

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

En el gráfico 2-3 se puede identificar que existen ciertas variaciones en los cultivos B, sin embargo, los cultivos A y C presentan ciertas similitudes; a continuación, se expone el gráfico de la conductividad.

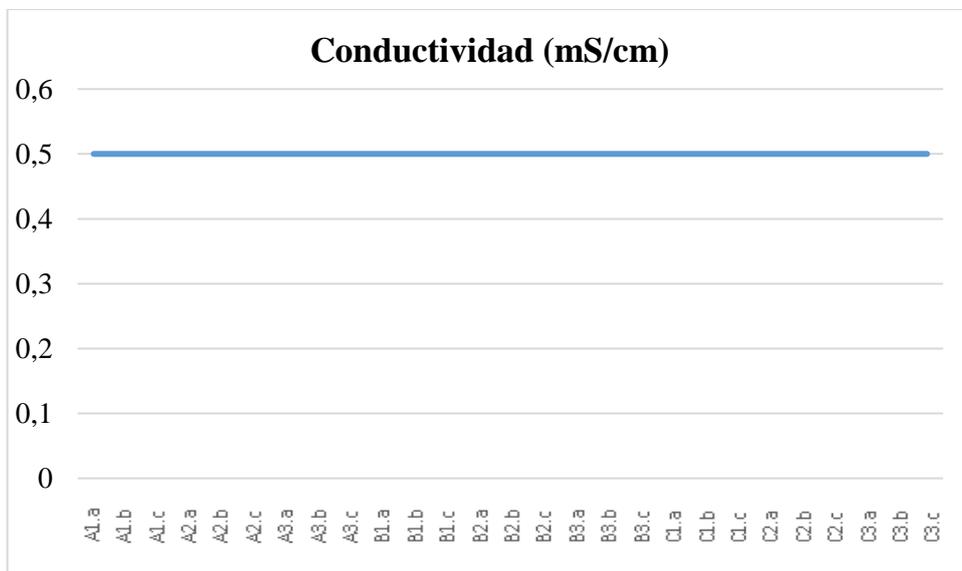


Gráfico 3-3. Medición de la conductividad antes de la dosificación de plaguicidas

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

En el gráfico 3-3 se puede observar que la conductividad en los cultivos, el valor permanece en 0,5 mS/cm antes de realizar la adición de plaguicidas.

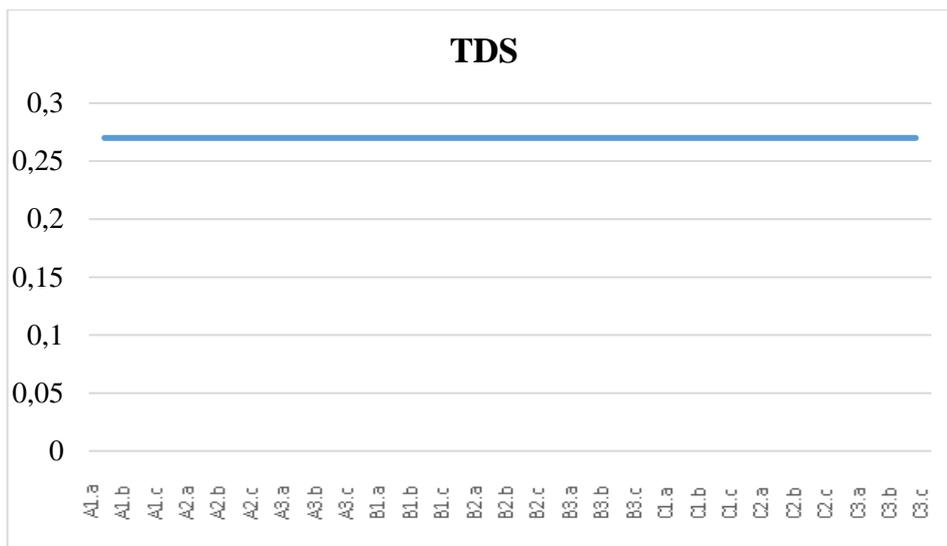


Gráfico 4-3. Medición de TDS antes de dosificación de plaguicidas

Realizado por: Chiliquinga, Juan, 2022.

En el gráfico 4-3 se identifica que, el valor de Sólidos Totales es el mismo para todos los cultivos.

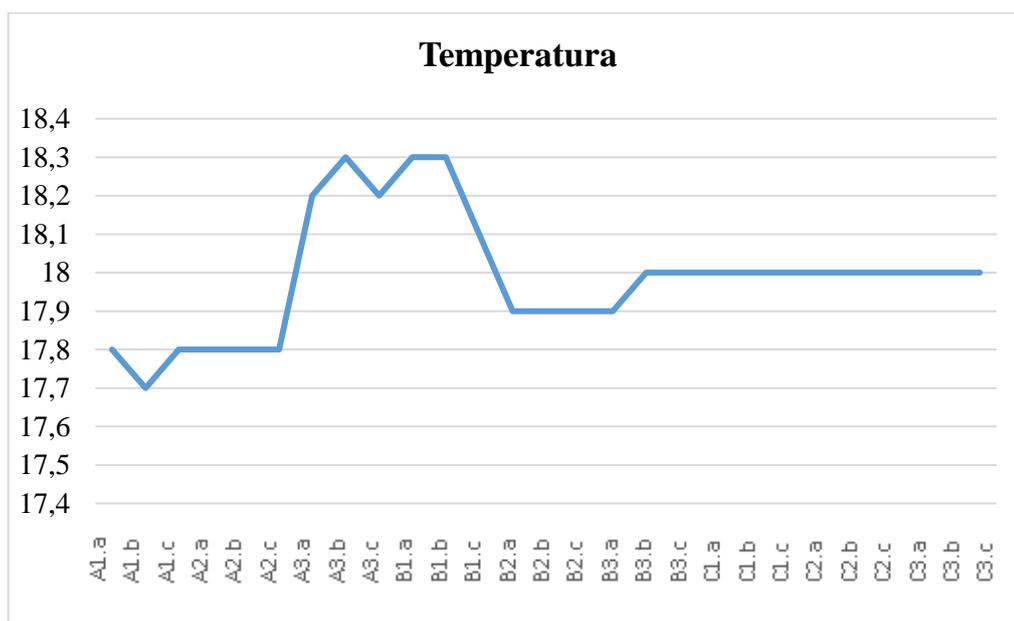


Gráfico 5-3. Medición de la temperatura antes de la dosificación de plaguicidas

Realizado por: Chiliquinga, Juan, 2022.

Como se puede observar en el gráfico 5-3 la temperatura mínima es de 17,7 y la máxima de 18,3; no se observan variaciones significativas en los valores de la temperatura.

Tabla 3-3: Medición de las variables posterior a 72h de exposición a plaguicida en los cultivos

Cultivo	pH	Conductividad (mS/cm)	TDS (g/L)	Temperatura (T)
A1.a	8,0	1,9	1,1	18,8
A1.b	8,0	2,0	1,1	18,6
A1.c	8,2	2,0	1,1	18,6
A2.a	7,9	1,9	1,1	18,3
A2.b	8,1	1,9	1,1	18,8
A2.c	8,0	1,9	1,1	18,3
A3.a	7,9	1,9	1,1	17,3
A3.b	7,7	1,9	1,1	17,3
A3.c	8,1	1,9	1,1	17,1
B1.a	8,0	2,0	1,1	17,2
B1.b	7,7	2,0	1,1	17,3
B1.c	7,7	1,9	1,1	17,3
B2.a	7,7	1,9	1,1	17,3
B2.b	7,8	1,9	1,1	17,5
B2.c	7,8	2,1	1,1	17,5
B3.a	7,7	2,0	1,1	17,6
B3.b	7,8	2,1	1,1	18,2
B3.c	7,8	2,1	1,1	18,2
C1.a	7,8	2,0	1,0	18,2
C1.b	7,7	2,0	1,0	18,8
C1.c	7,6	2,0	1,0	18,8
C2.a	7,8	2,0	1,0	18,5
C2.b	7,8	2,0	1,0	18,8
C2.c	7,8	2,0	1,0	18,8
C3.a	7,8	2,0	1,0	18,5
C3.b	7,7	2,0	1,0	18,5
C3.c	8,0	2,0	1,0	18,8

Realizado por: Chilibinga, Juan, 2022.

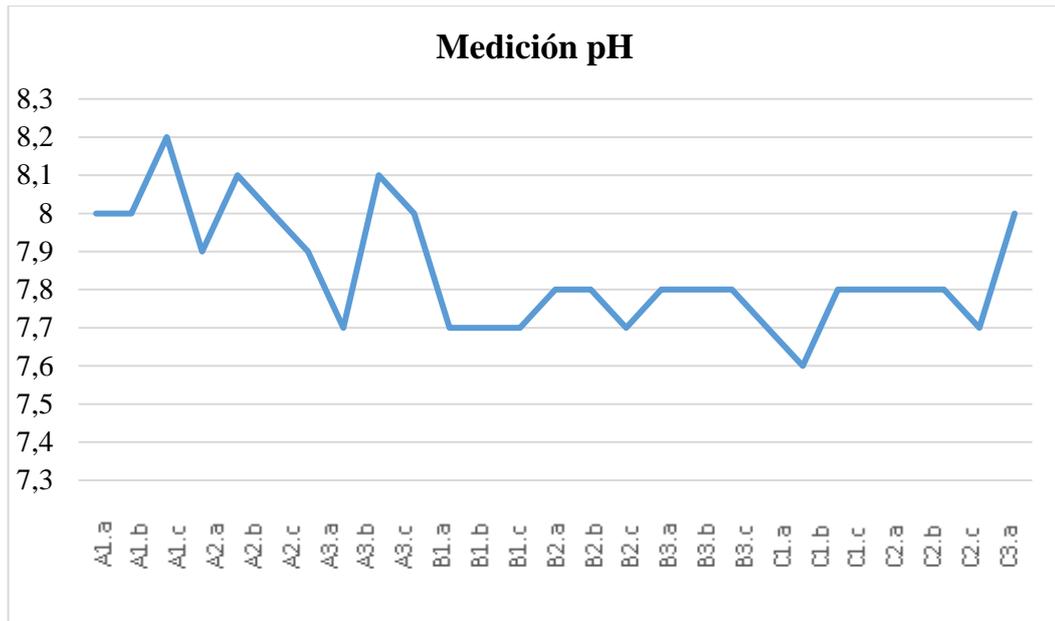


Gráfico 6-3. Medición del pH posterior a 72h de exposición a plaguicidas en los cultivos

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

En el gráfico 6-3 se puede identificar la variación que existe del pH, posterior a las 72 h de exposición a plaguicidas se obtuvo el valor mínimo de 7,6 y máximo 8,2.

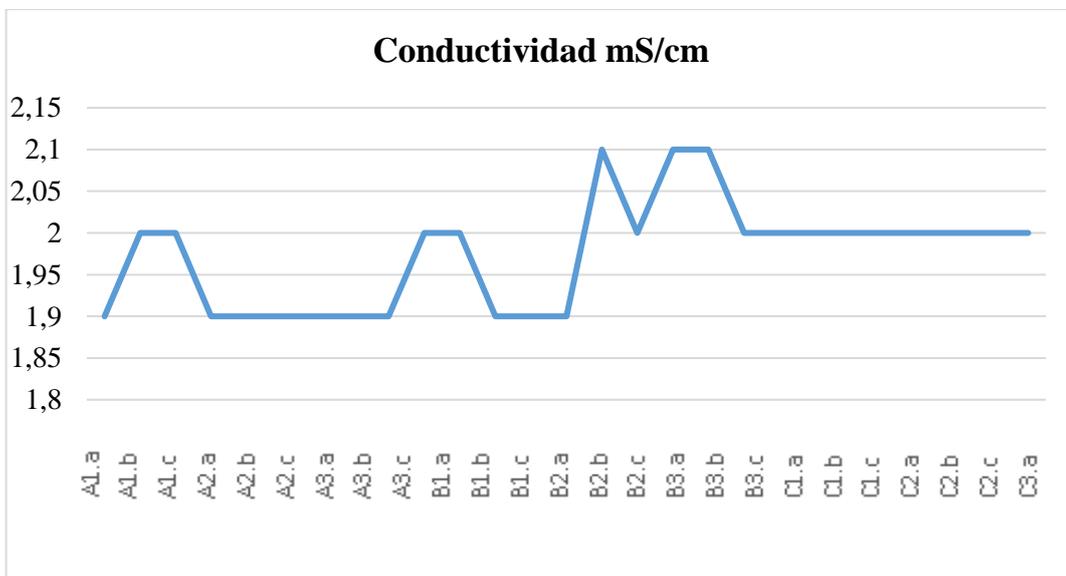


Gráfico 7-3. Medición de la conductividad posterior a 72h de exposición a plaguicidas en los cultivos

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

En el gráfico 7-3 se puede observar que la conductividad en los cultivos presenta una variación, y posterior a las 72 h del adiconamiento de plaguicidas se obtuvo el valor mínimo de 1,9 mS/ cm y máximo 2,1 mS/ cm.

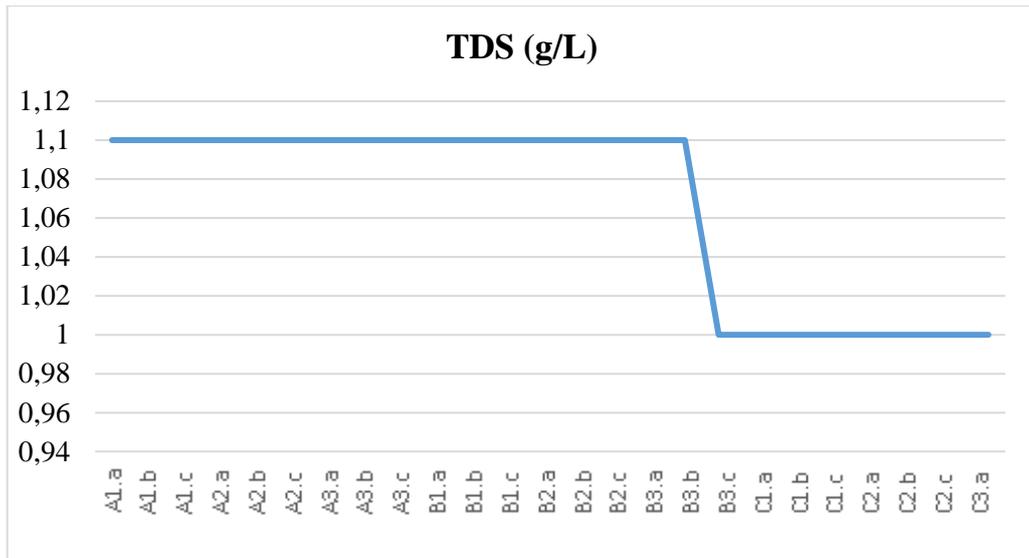


Gráfico 8-3: Medición de TDS posterior a las 72 horas de adición de plaguicidas

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

En el gráfico 8-3 se observa que, en el valor de Sólidos Totales varía a comparación de los valores obtenidos antes de adicionar los plaguicidas, posterior a las 72h los valores obtenidos son de 1,0 valor mínimo y 1,1 el valor máximo; se identifica que, en estos valores no existen variaciones significativas.

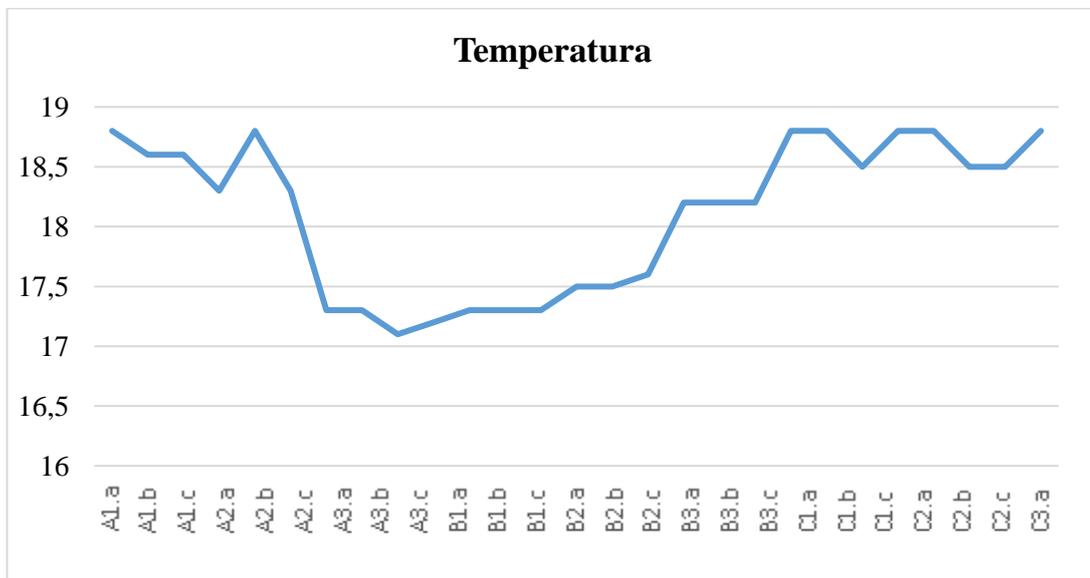


Gráfico 9-3: Medición de la temperatura posterior a las 72 horas de adición de plaguicidas

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

En el gráfico 9-3 se observa que, los valores de la temperatura varían a comparación de los valores antes de la adición de plaguicidas; posterior a las 72h del adiconamiento de plaguicidas la temperatura mínima es de 17,1 y la máxima de 18,8; no se identifica variaciones significativas en la temperatura.

Tabla 4-3: Cultivo Blanco (Diazinón)

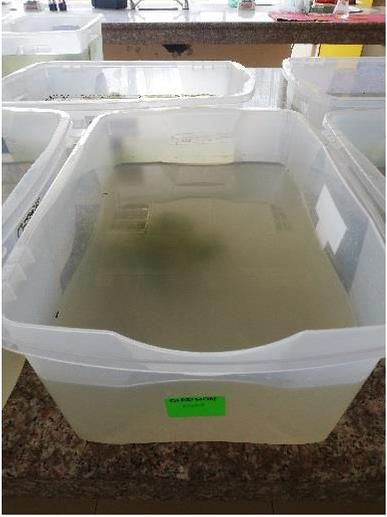
CULTIVO	TIEMPO DE CULTIVO		
	24 horas	48 horas	72 horas
BLANCO A (DIAZINÓN)			
	<p>La biomasa del cultivo se encuentra de color verde, no existen decoloraciones. Se observa que el agua presenta burbujas de oxígeno, el alga flota y no se observa turbiedad.</p>	<p>El cultivo refleja una buena incidencia de luz, la biomasa conserva su tonalidad verde, el organismo algal se encuentra flotando y una pequeña parte se encuentra en el fondo de la gaveta.</p>	<p>La especie algal conserva su color verde y flota en el agua; el agua presenta una tonalidad verde clara.</p>

Realizado por: Chilibinga, Juan, 2022.

Tabla 5-3: Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Diazinón 5ml

CULTIVO	TIEMPO DE EXPOSICIÓN A DOSIFICACIONES DE PLAGUICIDA DIAZINÓN 5ML		
A1.a	24 horas	48 horas	72 horas
			
	<p>En el cultivo existe poca turbiedad debido al compuesto; el alga se encuentra flotando. El color verde del cultivo se conserva El cultivo conserva el color verde característico, se observa pequeñas decoloraciones color marrón.</p>	<p>Se observa que la biomasa está en el fondo de la gaveta, la cantidad de filamentos verdes han disminuido, la biomasa se presenta comprimida.</p>	<p>Se observa en el cultivo la presencia de turbiedad, el cultivo muestra una pérdida de su coloración verde y se observan decoloraciones marrones en los filamentos que se conservaban verdes.</p>

Realizado por: Chilibingua, Juan, 2022

	24horas	48horas	72horas
A1.b			
	<p>En el cultivo existe poca turbiedad debido al compuesto; el alga se encuentra flotando. En la gaveta, la cantidad de filamentos verdes han disminuido, la biomasa se presenta comprimida. El cultivo conserva el color verde característico, se observan pequeñas decoloraciones color marrón.</p>	<p>Se observa que la biomasa está en el fondo de la gaveta, la cantidad de filamentos verdes han disminuido, la biomasa se presenta comprimida.</p>	<p>Se observa en el cultivo la presencia de turbiedad, el cultivo muestra una pérdida de su coloración verde y se observan decoloraciones marrones en los filamentos que se conservaban verdes.</p>

Realizado por: Chilibinga, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
A1.c			
	<p>En el cultivo existe poca turbiedad debido al compuesto; el alga se encuentra flotando. El color verde del cultivo se conserva. El cultivo conserva el color verde característico, se observa pequeñas decoloraciones color marrón.</p>	<p>Se presenta una ligera turbiedad, además el alga se encuentra en la parte inferior y ha perdido su tonalidad verde, se observa que, la cantidad de filamentos verdes han disminuido, la biomasa se presenta comprimida.</p>	<p>Se observa en el cultivo la presencia de turbiedad, el cultivo muestra una pérdida de su coloración verde y se observa que el agua muestra una tonalidad café oscura.</p>

Realizado por: Chilibinga, Juan, 2022.

Tabla 6-3: Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Diazinón 10 ml

CULTIVO	TIEMPO DE EXPOSICIÓN A DOSIFICACIONES DE PLAGUICIDA DIAZINÓN 10 ML		
	24 horas	48 horas	72 horas
A2.a			
	<p>Se puede observar turbiedad, el color del agua se torna blanquecina debido al compuesto químico. La biomasa se encuentra flotando. No se observan burbujas, la especie algal conserva su color verde.</p>	<p>La biomasa presenta un aspecto viscoso, los filamentos verdes han reducido; se observa turbiedad de color blanco, la especie algal perdido su tonalidad de color verde y se encuentra flotando una pequeña cantidad y el resto se encuentra en el fondo de la tina</p>	<p>La biomasa presenta una coloración café oscura, se observan filamentos con decoloraciones blanquecinas que tienden a desintegrarse. El agua de cultivo se encuentra completamente turbia, conserva una tonalidad verde.</p>

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

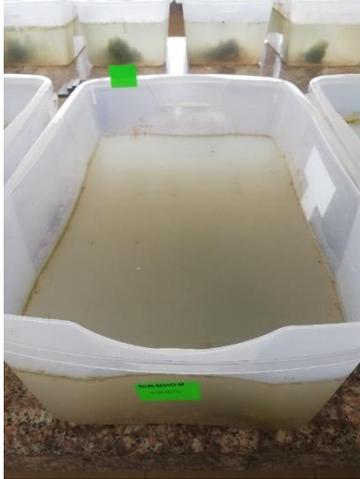
	24 horas	48 horas	72 horas
A2.b			
	<p>Se puede observar turbiedad, el color del agua se torna blanquecina debido al compuesto químico. La biomasa se encuentra flotando. No se observan burbujas, la especie algal conserva su color verde.</p>	<p>La biomasa presenta un aspecto viscoso, los filamentos verdes han reducido; se observa turbiedad de color blanco, la especie algal ha perdido su tonalidad de color verde y se encuentra flotando una pequeña cantidad y el resto se encuentra en el fondo de la tina</p>	<p>La biomasa presenta una coloración café oscura, se observan filamentos con decoloraciones blanquecinas que tienden a desintegrarse. El agua de cultivo se encuentra completamente turbia, conserva una tonalidad verde.</p>

Realizado por: Chilibingua, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
A2.c			
	<p>Se puede observar turbiedad, el color del agua se torna blanquecina debido al compuesto químico. La biomasa se encuentra flotando. No se observan burbujas, la especie algal conserva su color verde.</p>	<p>La biomasa presenta un aspecto viscoso, los filamentos verdes han reducido; se observa turbiedad de color blanco, la especie algal ha perdido su tonalidad de color verde y se encuentra flotando una pequeña cantidad y el resto se encuentra en el fondo de la tina</p>	<p>La biomasa presenta una coloración café oscura, se observan filamentos con decoloraciones blanquecinas que tienden a desintegrarse. El agua de cultivo se encuentra completamente turbia, conserva una tonalidad verde.</p>

Realizado por: Chilibingua, Juan, 2022.

Tabla 7-3: Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Diazinón 20 ml

CULTIVO	TIEMPO DE EXPOSICIÓN A DOSIFICACIONES DE PLAGUICIDA DIAZINÓN 20 ML		
A3.a	24 horas	48 horas	72 horas
			
	<p>En el cultivo no se observan burbujas, la especie algal no se observa muy bien, sin embargo, la misma se encuentra en el fondo de la gaveta, y se observa la tonalidad verde del alga.</p>	<p>La biomasa se encuentra al fondo de la gaveta, y tiene un aspecto viscoso, con apariencia de desintegración y presencia de filamentos El cultivo conserva su color verde. No hay burbujas.</p>	<p>Se evidencia mayor turbiedad, el agua tiene una tonalidad blanca propia del compuesto, la biomasa algal presenta una biopelícula y se observa desintegración de algunos filamentos.</p>

Realizado por: Chilibinga, Juan, 2022.

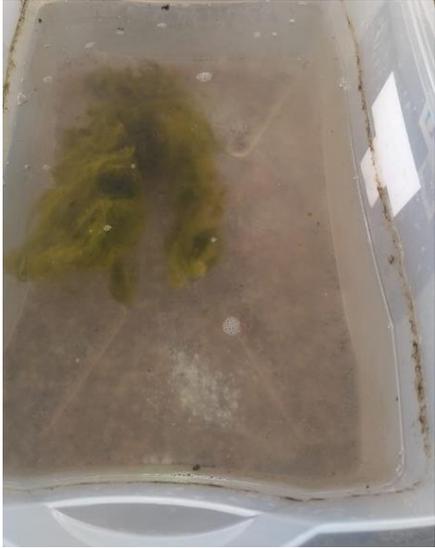
	24 horas	48 horas	72 horas
A3.b			
	<p>En el cultivo no se observan burbujas, la especie algal no se observa muy bien, sin embargo, la misma se encuentra en el fondo de la gaveta, y se observa la tonalidad verde del alga, se observa una reducción de filamentos verdes.</p>	<p>La biomasa se encuentra al fondo de la gaveta y tiene un aspecto viscoso, con apariencia de desintegración y poca presencia de filamentos El cultivo conserva su color verde. No hay burbujas.</p>	<p>Se evidencia mayor turbiedad, el agua tiene una tonalidad blanca propia del compuesto, la biomasa algal presenta una biopelícula y se observa desintegración de algunos filamentos, se presenta reducción de la biomasa.</p>

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
A3.c			
	<p>En el cultivo no se observan burbujas, la especie algal no se observa muy bien, sin embargo, la misma se encuentra en el fondo de la gaveta, y se observa la tonalidad verde del alga, se observa una reducción de filamentos verdes, los filamentos externos se ven decolorados.</p>	<p>La biomasa se encuentra al fondo de la gaveta y tiene un aspecto viscoso, con apariencia de desintegración y poca presencia de filamentos. El cultivo conserva su color verde. No hay burbujas.</p>	<p>Se evidencia mayor turbiedad, el agua tiene una tonalidad blanca propia del compuesto, la biomasa algal se observa al fondo de la gaveta y se observa desintegración de los filamentos, se presenta reducción de la biomasa.</p>

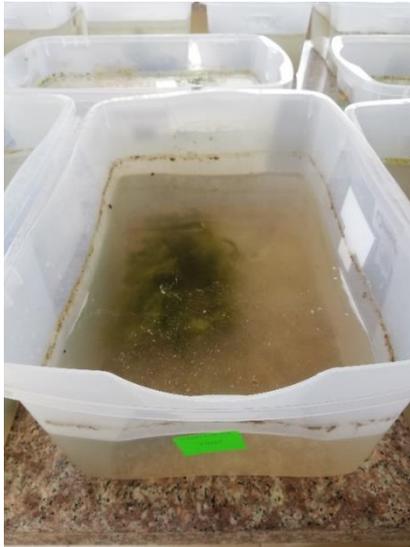
Realizado por: Chiliquinga, Juan, 2022.

Tabla 8-3: Cultivo Blanco Cyhalotrina

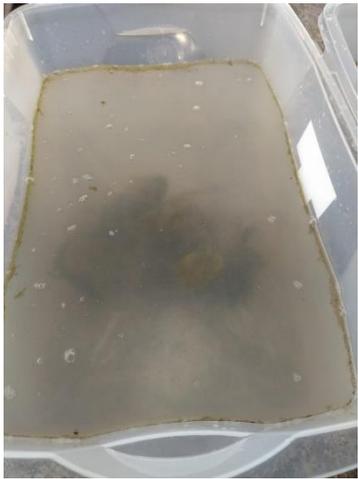
CULTIVO	TIEMPO DE CULTIVO		
	24 horas	48 horas	72 horas
BLANCO B (CYHALOTRINA)			
	La biomasa del cultivo se encuentra de color verde, no existen decoloraciones. Se observa que el agua presenta burbujas de oxígeno, el alga flota y no se observa turbiedad.	El cultivo refleja una buena incidencia de luz, la biomasa conserva su tonalidad verde, el organismo algal se encuentra flotando.	La especie algal conserva su color verde y flota en el agua; el agua presenta transparencias.

Realizado por: Chilibingua, Juan, 2022.

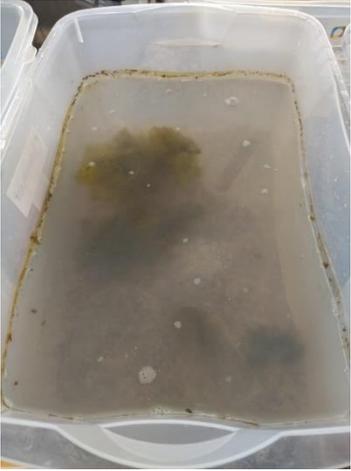
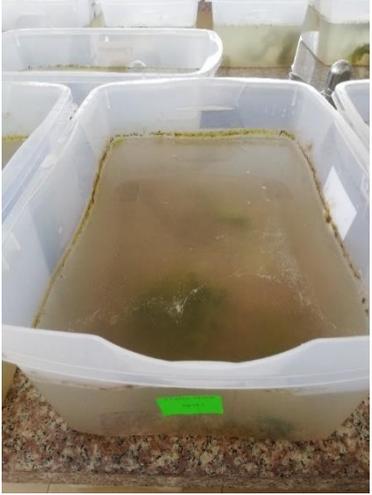
Tabla 8-3: Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Cyhalotrina a 5ml

CULTIVO	TIEMPO DE EXPOSICIÓN A DOSIFICACIONES DE PLAGUICIDA CYHALOTRINA a 5ml		
B1.a	24 horas	48 horas	72 horas
			
	<p>La biomasa conserva el color verde, se encuentra flotando y se observan pequeñas burbujas de oxígeno; los filamentos externos se tornan de color café oscuro, el agua presenta una tonalidad blanca transparente.</p>	<p>Los filamentos externos presentan ciertas decoloraciones, no existe presencia de burbujas en el cultivo y la biomasa sigue flotando.</p>	<p>La biomasa algal se encuentra en el fondo de la gaveta, se observan filamentos de color verde, sin embargo, existen filamentos externos de color café que se desintegran.</p>

Realizado por: Chilibinga, Juan, 2022.

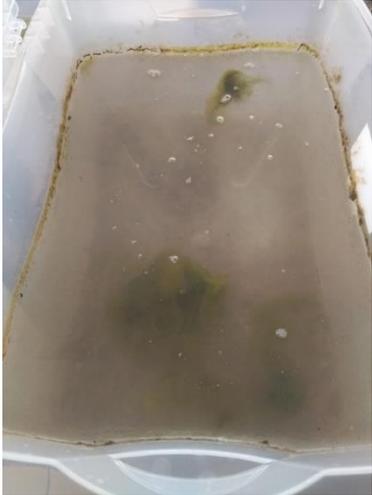
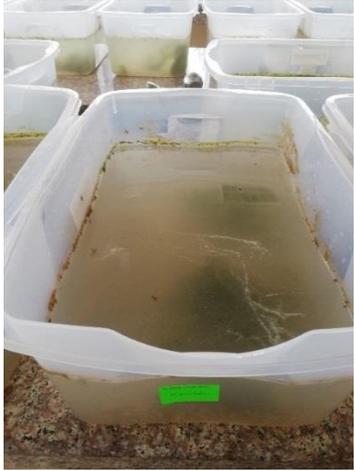
	24 horas	48 horas	72 horas
B1.b			
	La biomasa conserva el color verde, se encuentra flotando y se observan pequeñas burbujas de oxígeno; los filamentos externos se tornan de color café oscuro, el agua presenta una tonalidad blanca transparente.	Se puede visualizar de coloraciones amarillentas y cafés en los filamentos externos, no existe presencia de burbujas en el cultivo y la biomasa sigue flotando.	En el agua se muestran transparencias y se perdió el color blanco lechoso; la biomasa conserva un color café y se visualiza un poco de espuma en el agua.

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

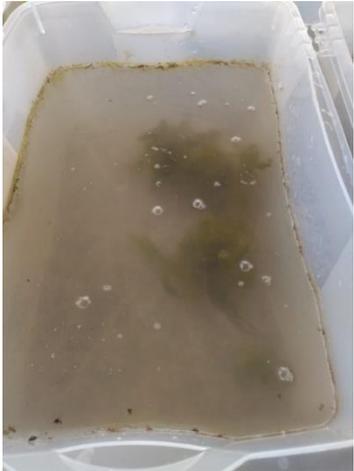
	24 horas	48 horas	72 horas
B1.c			
	<p>La biomasa conserva el color verde, se encuentra flotando y se observan pequeñas burbujas de oxígeno; los filamentos externos se tornan de color café oscuro, el agua presenta una tonalidad blanca transparente.</p>	<p>En los filamentos externos se puede observar decoloraciones amarillentas, no existe presencia de burbujas en el cultivo y la biomasa sigue flotando.</p>	<p>En el agua se muestran transparencias se perdió el color blanco lechoso; la biomasa conserva un color café y se visualiza un poco de espuma en el agua.</p>

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

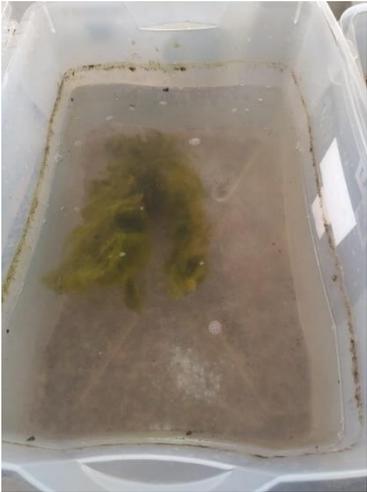
Tabla 9-3: Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Cyhalotrina a 10ml

CULTIVO	TIEMPO DE EXPOSICIÓN A DOSIFICACIONES DE PLAGUICIDA CYHALOTRINA a 10ml		
	24 horas	48 horas	72 horas
B2.a			
	<p>Se observa que la biomasa conserva su color verde, existen burbujas de oxígeno en el agua, y una pequeña parte de la biomasa está flotando en la superficie lo demás está en el fondo, se observa un aspecto viscoso en la biomasa.</p>	<p>El agua del cultivo presenta una coloración café y la formación de espuma en la superficie, se observa la biomasa de color verde, sin embargo, los filamentos externos son de color amarillento y café claro; la biomasa se encuentra al fondo de la gaveta separada en partes, no se observan burbujas en el cultivo.</p>	<p>Se observan formación de espumas en el cultivo, la biomasa se encuentra en el fondo de la gaveta separada en partes, se observan pequeñas cantidades de filamentos de color verde.</p>

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
B2.b			
	<p>Se observa que la biomasa conserva su color verde, existen burbujas de oxígeno en el agua, y una pequeña parte de la biomasa está flotando en la superficie lo demás está en el fondo, se observa un aspecto viscoso en la biomasa.</p>	<p>El agua del cultivo presenta una coloración café y la formación de espuma en la superficie, se observa la biomasa de color verde, sin embargo, los filamentos externos son de color amarillento y café claro; la biomasa se encuentra al fondo de la gaveta separada en partes, no se observan burbujas en el cultivo.</p>	<p>Se observan formación de espumas en el cultivo, la biomasa se encuentra en el fondo de la gaveta separada en partes, se observan pequeñas cantidades de filamentos color verde.</p>

Realizado por: Chilibuina, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
B2.c			
	<p>Se observa que la biomasa conserva su color verde, existen burbujas de oxígeno en el agua, y una pequeña parte de la biomasa está flotando en la superficie lo demás está en el fondo, se observa un aspecto viscoso en la biomasa.</p>	<p>El agua del cultivo presenta una coloración café y la formación de espuma en la superficie, se observa la biomasa de color verde, sin embargo, los filamentos externos son de color amarillento y café claro; la biomasa se encuentra al fondo de la gaveta separada en partes, no se observan burbujas en el cultivo.</p>	<p>Se observan formación de espumas en el cultivo, la biomasa se encuentra en el fondo de la gaveta separada en partes, se observa pequeñas cantidades de filamentos color verde.</p>

Realizado por: Chiliquinga, Juan, 2022.

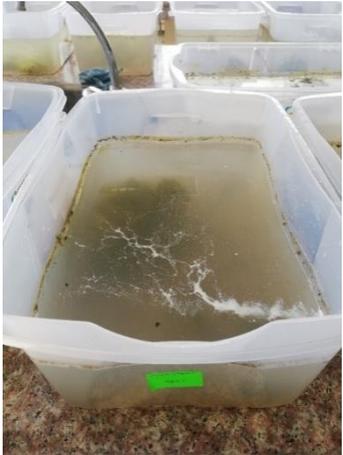
Tabla 10-3: Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Cyhalotrina a 20ml

CULTIVO	TIEMPO DE EXPOSICIÓN A DOSIFICACIONES DE PLAGUICIDA CYHALOTRINA a 20ml		
B3.a	24 horas	48 horas	72 horas
			
<p>Se observa que la biomasa está al fondo de la gaveta, en la superficie del agua se identifican burbujas de oxígeno y los filamentos externos de la biomasa presentan una coloración amarillenta.</p>	<p>Se observa espumosis en la superficie del cultivo, los filamentos externos de la biomasa son de color café, no se observan burbujas en el cultivo. El agua se presenta turbulenta.</p>	<p>El agua presenta un color blanco y espumosis en la superficie, al fondo de la gaveta esta la biomasa con filamentos de color café, no se observan filamentos de coloración verde.</p>	

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
B3.b			
	<p>Se observa que la biomasa está distribuida al fondo de la gaveta, en la superficie del agua se identifican burbujas de oxígeno y los filamentos externos de la biomasa presentan una coloración amarillenta.</p>	<p>Se observa espumosis en la superficie del cultivo, los filamentos externos de la biomasa son de color café, no se observa burbujas en el cultivo. El agua se presenta turbulenta.</p>	<p>El agua presenta un color blanco y mayor espumosis en la superficie, al fondo de la gaveta esta la biomasa con filamentos de color café, no se observan filamentos de coloración verde.</p>

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
B3.c			
	<p>Se observa que la biomasa está distribuida al fondo de la gaveta, en la superficie del agua se identifica burbujas de oxígeno y los filamentos externos de la biomasa presentan una coloración amarillenta.</p>	<p>Se observa espumosis en la superficie del cultivo, los filamentos externos de la biomasa son de color café, no se observan burbujas en el cultivo. El agua se presenta turbulenta.</p>	<p>El agua presenta un color blanco y mayor espumosis en la superficie, al fondo de la gaveta esta la biomasa con filamentos de color café, no se observan filamentos de coloración verde.</p>

Realizado por: Chiliquinga, Juan, 2022.

Tabla 11-3: Cultivo Blanco Spinosad

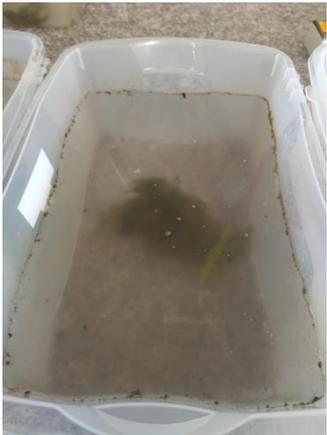
CULTIVO	TIEMPO DECULTIVO		
	24 horas	48 horas	72 horas
BLANCO C (SPINOSAD)			
	<p>La biomasa del cultivo se encuentra de color verde, no existen decoloraciones. El agua es transparente, el alga flota y no se observa turbiedad.</p>	<p>La biomasa conserva su tonalidad verde, el organismo algal se encuentra flotando.</p>	<p>La especie algal conserva su color verde y flota en el agua; el agua es trasparente.</p>

Realizado por: Chilibuina, Juan, 2022.

Tabla 12-3: Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Spinosad 0,5ml

CULTIVO	TIEMPO DE EXPOSICIÓN A DOSIFICACIONES DE PLAGUICIDA SPINOSAD 0,5ml		
	24 horas	48 horas	72 horas
C1.a			
	<p>En la superficie del agua se observa una cantidad pequeña de burbujas, el microorganismo algal presenta una coloración verde y los filamentos de los extremos son de color amarillento y la biomasa se encuentra compacta.</p>	<p>La coloración de los filamentos externos es de color amarillento claro y en el fondo café oscuro, se observa una baja cantidad de filamentos verdes, la biomasa presenta un aspecto viscoso.</p>	<p>Se observa poca cantidad de filamentos color verde, la biomasa a simple vista tiene una coloración oscura; se observa una separación de la biomasa en el fondo de la gaveta.</p>

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
C1.b			
	<p>En la superficie del agua se observa una cantidad pequeña de burbujas, el microorganismo algal presenta una coloración verde y los filamentos de los extremos son de color amarillento y la biomasa se encuentra compacta.</p>	<p>La coloración de los filamentos externos es de color amarillento claro y en el fondo café oscuro, se observa una baja cantidad de filamentos verdes, la biomasa presenta un aspecto viscoso.</p>	<p>Se observa poca cantidad de filamentos color verde, la biomasa a simple vista tiene una coloración oscura; se observa la separación de la biomasa en el fondo de la gaveta.</p>

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
C1.c			
	<p>El agua del cultivo se observa transparente, el microorganismo algal presenta una coloración verde y los filamentos de los extremos son de color amarillento y la biomasa se encuentra compacta.</p>	<p>La coloración de los filamentos externos es de color amarillento claro y en el fondo café oscuro, se observa una baja cantidad de filamentos verdes, la biomasa presenta un aspecto viscoso.</p>	<p>Se observa poca cantidad de filamentos color verde, la biomasa a simple vista tiene una coloración oscura; se observa la separación de la biomasa en el fondo de la gaveta.</p>

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

Tabla 13-3: Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Spinosad 1 ml

CULTIVO	TIEMPO DE EXPOSICIÓN A DOSIFICACIONES DE PLAGUICIDA SPINOSAD 1 ml		
	24 horas	48 horas	72 horas
C2.a			
	<p>En la superficie del agua se observa una cantidad pequeña de burbujas, el microorganismo algal presenta una coloración verde y los filamentos de los extremos son de color amarillento; presenta una pequeña biopelícula en la superficie y turbiedad; el alga se encuentra una parte flotando y la mitad en el fondo</p>	<p>La coloración de los filamentos externos es de color amarillento claro y en el fondo oscuro, se observa una baja cantidad de filamentos verdes, la biomasa presenta un aspecto viscoso; el alga se encuentra una parte flotando y la mitad en el fondo</p>	<p>Se observa poca cantidad de filamentos color verde, la biomasa a simple vista tiene una coloración oscura; se observa la separación de la biomasa en el fondo de la gaveta.</p>

Realizado por: Chilibinga, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
C2.b			
	En la superficie del agua se observa una cantidad pequeña de burbujas, el microorganismo algal presenta una coloración verde y los filamentos de los extremos son de color amarillento; el alga se encuentra en la parte del fondo.	La coloración de los filamentos externos es de color amarillento claro y en el fondo café oscuro, se observa una baja cantidad de filamentos verdes, la biomasa presenta un aspecto viscoso; el alga se encuentra en la parte del fondo.	Se observa poca cantidad de filamentos color verde, la biomasa a simple vista tiene una coloración oscura; se observa la separación de la biomasa en el fondo de la gaveta.

Realizado por: Chilinguina, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
C2.c			
	En la superficie del agua se observa una cantidad pequeña de burbujas, el microorganismo algal presenta una coloración verde; del alga se encuentra una parte del fondo y una pequeña parte flotando en la superficie.	La coloración de los filamentos externos es de color amarillento claro y en el fondo café oscuro, se observa una baja cantidad de filamentos verdes, la biomasa presenta un aspecto viscoso; el alga se encuentra en la parte del fondo.	Se observa poca cantidad de filamentos color verde, la biomasa a simple vista tiene una coloración oscura; se observa la separación de la biomasa en el fondo de la gaveta.

Realizado por: Chilibuina, Juan, 2022

Tabla 14-3: Tiempo de exposición a dosificaciones de plaguicida Spinosad 2 ml

CULTIVO	TIEMPO DE EXPOSICIÓN A DOSIFICACIONES DE PLAGUICIDA SPINOSAD 2 ml		
	24 horas	48 horas	72 horas
C3.a			
	<p>Se observa un color blanco en el agua, el organismo algal se hunde; en su mayoría el alga conserva su color verde, se observan cantidades de burbujas en la superficie del agua.</p>	<p>Se observa formación de espuma alrededor del cultivo, el organismo algal presenta una coloración amarillenta en los filamentos; la muestra algal se encuentra dispersa en el fondo de la gaveta.</p>	<p>El agua se observa turbia, algunos filamentos conservan el color verde, y el alga se encuentra al fondo de la gaveta. La formación de espuma incremento.</p>

Realizado por: Chilinguina, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
C3.b			
	<p>Se observa un color blanco en el agua, el organismo algal se hunde; en su mayoría el alga conserva su color verde, se observan cantidades de burbujas en la superficie del agua.</p>	<p>El organismo algal presenta una coloración amarillenta en los filamentos; la muestra algal se encuentra dispersa en el fondo de la gaveta.</p>	<p>El agua se observa turbia, algunos filamentos conservan el color café oscuro, y el alga se encuentra al fondo de la gaveta.</p>

Realizado por: Chilibingua, Juan, 2022.

	24 horas	48 horas	72 horas
C3.c			
	El organismo algal flota, en su mayoría el alga conserva su color amarillento en los filamentos externos, se observan cantidades de burbujas en la superficie del agua.	El organismo algal presenta una mayor coloración amarillenta en los filamentos; la muestra algal se encuentra dispersa en el fondo de la gaveta.	El agua se observa turbia, el organismo algal se presenta de color café y una pequeña cantidad de filamentos amarillentos; el alga se encuentra dispersa al fondo de la gaveta.

Realizado por: Chilibinga, Juan, 2022.

3.4. Resultados obtenidos de la observación a la biomasa de *Spirogyra* spp.

Tabla 15-3: Observación de la biomasa antes y después de la adición del plaguicida Diazinón (20ml)

A3.a		
A3.b		
A3.c		

Realizado por: Chiliquina, Juan, 2022.

Tabla 16-3: Observación de la biomasa antes y después de la adición del plaguicida Cyhalotrina (20ml)

<p>B3.a</p>		
<p>B3.b</p>		
<p>B3.c</p>		

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

Tabla 17-3: Observación de la biomasa antes y después de la adición del plaguicida Spinosad (2ml)

C3.a		
C3.b		
C3.c		

Realizado por: Chilibingua, Juan, 2022.

3.5. Resultados del tratamiento de aguas proveniente de la experimentación

El agua resultante se utilizará en la aspersion de composta, antes de utilizar el agua se procedió a la adición de sulfato de aluminio a los 300 L de agua resultantes de la experimentación según las recomendaciones del fabricante se disolvió 200 gr de este compuesto en 2 L de agua para luego adicionar al volumen total, mediante agitación la muestra de agua se homogenizo y trascurridas 24 horas se procedió a realizar el análisis del pH, conductividad y sólidos totales para comprobar si el agua está dentro de los parámetros para uso de riego.

Como resultado se obtuvo un valor de pH 7,37 lo cual evidencia que es óptimo para el uso de riego; con respecto a la conductividad se obtuvo un valor de 491 US/cm y el límite mínimo para que exista restricciones es 1500 US/cm, se comprueba que la muestra es óptima para el uso de riego. En cuanto a los sólidos totales se obtuvo un valor de 298.8 ppm, para que el agua se considere permisible debe alcanzar los 3000ppm, de lo cual se concluye que, el agua es óptima para su uso.

3.6. Resultados del análisis estadístico

Las pruebas realizadas a las 72 horas en los cultivos con mayor dosificación de plaguicidas evidenciaron como resultados de la varianza ANOVA un valor de significancia con respecto a los plaguicidas de p-valor =0,47 y un valor de significancia con respecto a la dosificación de p-valor =0,286.

Mediante el test de TUKEY se determina que el plaguicida Lambda Cyhalotrina y la dosis mayor (20 ml) muestran una mayor incidencia en la biomasa. Dichos resultados se corroboran mediante las observaciones y el análisis de la clorofila.

CONCLUSIONES

- Se evaluó en laboratorio la sensibilidad de *Spirogyra spp.*, a la presencia de los plaguicidas: Diazinón, Lambda Cyhalotrina y Spinosad, respondiendo con claros cambios físicos y fisiológicos manifestándose sus características bioindicadoras.
- Se cultivó en laboratorio la especie *Spirogyra spp.*, tomando en consideración los factores asociados a su hábitat, por ello, se controló el pH, la presencia de luz solar y la temperatura; de igual manera se adicionó un bioestimulante para garantizar la nutrición de la especie, previamente se identificó morfológicamente ala especie *Spirogyra spp.* antes de realizar su cultivo mediante la observación en el microscopio AmScope con aumento de 40x y se comparó las imágenes obtenidas con las propuestas en la guía de campo para la Identificación de Algas, Agricultura y Agroalimentación de Canadá.
- Se identificó la actividad como de bioindicador del alga *Spirogyra spp.*, ante la presencia de los plaguicidas: Diazinón, Lambda Cyhalotrina y Spinosad; la sensibilidad que presenta se evidenció en claras alteraciones del tamaño y consistencia, así como en el color y apariencia, determinada a través del control de variables como el pH, conductividad, TDS, temperatura, además de la observación minuciosa de alteraciones y cambios físicos en las algas, se observaron variaciones en los valores de las cuatro variables antes de adicionar los plaguicidas y posterior a la adición; se obtuvo un valor promedio de 7,8 pH; 7,97 conductividad; 1,06 TDS y 18,1 para la temperatura. De esta manera se evaluó el comportamiento de la especie sometida a dosificaciones de intensidad baja, recomendada y alta de plaguicidas (Diazinón, Lambda Cyhalotrina y Spinosad); se evidenciaron cambios significativos en la coloración, los filamentos internos y externos presentaron coloraciones amarillentas y cafés, esto sucedió a partir de las 24h dependiendo de la cantidad de dosis suministrada; como resultado el género *Spirogyra spp.* presentó limitado crecimiento, alteraciones celulares de fácil observación y decoloración de pigmentos; los plaguicidas limitan la capacidad de ejecución de la fotosíntesis por parte de las algas debido a que afectan directamente a la clorofila, componente clave para dicho proceso.
- Se evidenció que la tolerancia del género *Spirogyraspp.* alas diferentes dosificaciones de plaguicidas (Diazinón, Lambda Cyhalotrina y Spinosad), encontrándose relación de forma directa con el tiempo de exposición y concentración trabajados en la experimentación; en base a los cambios en la morfología de la especie se observó que, presenta mayor tolerancia a los plaguicidas Diazinón y Lambda Cyhalotrina y menor tolerancia al plaguicida Spinosad.
- Se determinó la presencia de bioacumulación de *Spirogyra spp.* puesto que, bioacumuló <10 µg/kg del plaguicida Diazinón y 534,05 mg/ Kg del plaguicida Lambda Cyhalotrina en su biomasa.

RECOMENDACIONES

- A los futuros investigadores se les recomienda utilizar el género *Spirogyra spp.* como bioindicador de plaguicidas en futuras investigaciones.
- Preparar de manera adecuada las muestras antes de ser llevadas al laboratorio para los análisis correspondientes en el equipo.
- Utilizar las herramientas de seguridad adecuadas al momento de ingresar al laboratorio y realizar experimentos con organismos algales.
- Realizar una correcta limpieza del Multiparámetro para evitar alteraciones de las lecturas relacionadas a las variables de control.

BIBLIOGRAFÍA

AGROSPRAY. Pesticidas características y transporte en el ambiente. 2020.

ALFONSEL, M Y GONZÁLEZ, J. *Efecto de la temperatura e intensidad luminosa sobre el crecimiento y actividad fotosintética del alga Chlamydo-monas Reinhardtii.* Madrid : Junta de Energía Nuclear, 1985.

ARIAS, P. Módulo Ambiental Uso de Plaguicidas en la Agricultura 2013 [en línea]. Dirección de estadísticas agropecuarias y ambientales. 2013. [consulta: julio del 2021]. Disponible en: https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/plaguicidas/Plaguicidas-2013/Documento_Tecnico-Uso_de_Plaguicidas_en_la_Agricultura_2013.pdf

ÁVILA, E. y GRANDA, V. Contaminación química y microbiológica en la represa poza honda, Santa Ana, Manabí, Ecuador 2018. 2018. Tesis Doctoral.

BAHAMONDE, M. Desarrollo de una norma técnica enfocada al uso de plaguicidas de tipo profesional en el Ecuador. Quito : Facultad de Posgrados. UDLA, 2018. pág. 109p.

BENÍTEZ, R. Plaguicidas y efectos sobre la salud humana: Un estado del arte. 2012. [en línea]. pp. 11-47. [Consulta: 15 marzo 2016]. Disponible en: <http://www.serpajpy.org.py/wp-content/uploads/2014/03/Plaguicidas-y-efectos-sobrela-salud-humana1.pdf>

BOJORGE, MyCANTORAL, E. La importancia ecológica de las algas en los ríos. Hidrobiológica [online]. 2016, vol.26, n.1, pp.1-8. ISSN 0188-8897.

BRAVO, R et al. Diagnóstico de uso e impactos de plaguicidas en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en la parroquia Riochico, cantón Portoviejo, provincia de Manabí, Ecuador. The Biologist (Lima), 2020, vol. 18, no 1.

CAPÓ, M. Principios de Ecotoxicología. Diagnostico, Tratamiento y Gestión del Medio Ambiente. [en línea]. España: Miguel Capó, 2002. [Consulta: noviembre 2021]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=86oL_Ybnwn8C&printsec=frontcover&dq=Principios+de+Ecotoxicolog%C3%ADa.+Diagnostico,+Tratamiento+y+Gesti%C3%B3n+del+Medio+Ambiente.

&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi44e_Ko3PAhXBGB4KHUsiC4EQ6AEIGjAA#v=onepage&q=Principios%20de%20Ecotoxicolog%C3%ADa.%20Diagnostico%2C%20Tratamiento%20y%20Gesti%C3%B3n%20del%20Medio%20Ambiente.&f=false

CARVALHO, F, y otros. *Tracking pesticides in the tropics*. s.l. : IAEA bulletin, 1998. págs. 24-30.

CENTRO DE INFORMACIÓN DE LA ATSDR. Resúmenes de Salud Pública - Diazinón (Diazinon). s.l. : Centro de Información de la ATSDR, 2020.

CIPOTATO. 2019. Clasificación de los plaguicidas. s.l. : CIPOTATO, 2019.

CONTENIDOS CEIBAL. Spirogira. s.l. : Contenidos Ceibal, s.f.

CONTENIDOS EDUCATIVOS DIGITALES. Spirogyra spp. s.l. : Contenidos Educativos Digitales, s.f. }

FERNANDEZ, J. Nutrientes y medios de cultivo de microalgas. s.l. : Microalgal Biotechnology, 2014.

GONZÁLEZ, J et al. Degradación de la Clorofila Presente en (Spirogyra spp.) como Indicador Socio Ambiental de la Presencia de Plaguicidas organofosforados. *European Scientific Journal* July 2019 edition Vol.15, No.21 ISSN: 1857 – 7881

GUILLEN, A. Spirogira. s.l. : Biodiversidad Virtual, 2013.

INEC- Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua. 2014. Uso y Manejo de Agroquímicos en la Agricultura 2014. 2014.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. Plaguicidas y productos afines de uso agrícola. manejo y disposición final de envases vacíos tratados con triple lavado. 2013. Vol. 1.

LUJAN, A. Las algas, indicadores de la calidad del agua. 2000. [en línea]. Fac. de Ciencias Exactas, Dpto. de Ciencias Naturales, UNRC. . [consulta: julio del 2021]. Disponible en:

https://www.produccion-animal.com.ar/agua_cono_sur_de_america/20-algas.pdf

MANUAL DE PESTICIDAS DE CENTROAMÉRICA. 2020. Cyhalotrina-Lambda. 2020.

MARIÑO, D. Determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en el cultivo de mora (*Rubus Glaucus*) en dos cantones de la Provincia de Tungurahua SangolquíEcuador. [en línea] (Tesis). (Ingeniería) Escuela Politécnica del Ejército “GRAD. CARLOMAGNO ANDRADE PAREDES”, Sangolquí- Ecuador. 2005. pp. 20-27. [Consulta: noviembre del 2021]. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2573>

MARQUÉS, S y PINÉ, J. Algas como bioindicadores da qualidade da água. 2017. Revista Científica ANAP Brasil, 10(19). <https://doi.org/10.17271/19843240101920171651>

MIÑO, Y. y RODRÍGUEZ, E. “evaluación del potencial toxicológico de los plaguicidas Atrazina y Diazinón a través de los bioindicadores *Daphnia pulex* y *Artemia salina*”. 2018. [en línea]. Trabajo de titulación. ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL [consulta: julio de 2021]. Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/20031/1/CD-9373.pdf>

MORELL, I Y CANDELA, L. Plaguicidas: Aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos. s.l. : Universitat Jaume I, 1998.

PORTILLO, G. Bioacumulación. s.l. : Energías Renovables, 2021.

RIVA, C et.al. Toxicidad de plaguicidas organofosforados en microalgas acuáticas. 1998. [en línea]. [consulta: julio de 2021]. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099/6440/Article03.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ROSENBERG, D et.al. Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. Springer US. 1993. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/E6czvb>.

SILVA, N. “Evaluación en el laboratorio de la sensibilidad de *spirogyra* spp. como bioindicador de los plaguicidas: Diazinon, Lambda Cyhalotrina y Spinosad”. Riobamba : ESPOCH, 2017.

STÁBILE, F. Estructura de la red trófica y presencia de plaguicidas en el sistema Laguna del Sauce: bases para el desarrollo de estrategias de biomonitoreo. 2018.

TERNEUS, E et.al. “Evaluación ecológica del río Lliquino a través de macroinvertebrados acuáticos, Pastaza, Ecuador.” Universidad del Valle, Colombia: Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. 2012. 16:31–45. [en línea] disponible en: <https://goo.gl/8vnhxN>.

THOMANN, M. Organismos bioindicadores - Definición, tipos y ejemplos. s.l. : Experto animal, 2020.

VALDÉS, J. C. et al. "Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores". AQM Revista de Divulgación Científica. 2012. [en línea]. (Mexico) 4(7), pp 1-10. [Consulta: noviembre del 2021]. Disponible en:
www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%207/4.htm

WAYLAND. Manual Clínico sobre sustancias tóxicas. s.l. : Organizaciónn Panamericana de la Salud, 1966.

ZABALA, A y al, et. Evaluación del impacto ambiental del cultivo de la pitahaya. Cantón Palora, Ecuador : TecnoLógicas, 2020. Vol. vol. 23, no 49, págs. p. 92-107.

ANEXOS

ANEXO A: RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA



Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

ANEXO B: UTILIZACIÓN DE LOS INSTRUMENTOS EN EL LABORATORIO



Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

ANEXO C: MEDICIONES EN EL LABORATORIO



Realizado por: Chilibinga, Juan, 2022.

ANEXO D: MEDICIÓN DE LA CANTIDAD DE ESPECIE ALGAL



ANEXO E: PICOS DE LOS PESTICIDAS EN LAS MUESTRAS CONTAMINADAS

Thermo Scientific

PESTICIDAS

#	ID de muestra	Nombre del Usuario	Fecha y hora
1	SPINOSAD	Pc	14/10/2021 11:03:01

Picos:

nm	Abs
226,841	1,296

#	ID de muestra	Nombre del Usuario	Fecha y hora
2	CYALOTRINA	Pc	14/10/2021 11:05:30

Picos:

nm	Abs
220,907	3,069
196,010	2,758

#	ID de muestra	Nombre del Usuario	Fecha y hora
3	DIAZINON	Pc	14/10/2021 11:10:02

#	ID de muestra	Nombre del Usuario	Fecha y hora
4	DIAZINON2	Pc	14/10/2021 11:10:39

Picos:

nm	Abs
292,344	0,142
271,838	0,136

#	ID de muestra	Nombre del Usuario	Fecha y hora
5	BLANCO-ALGA	Pc	14/10/2021 11:18:42

#	ID de muestra	Nombre del Usuario	Fecha y hora
6	MUESTRA-SPINOSAD	Pc	14/10/2021 11:29:55

#	ID de muestra	Nombre del Usuario	Fecha y hora
7	MUESTRA-DIAZINON	Pc	14/10/2021 11:40:38

Picos:

nm	Abs
316,712	0,541

#	ID de muestra	Nombre del Usuario	Fecha y hora
8	MUESTRA-CYHALOTRINA	Pc	14/10/2021 11:44:12

#	ID de muestra	Nombre del Usuario	Fecha y hora
9	AGUA-SPINOSAD	Pc	14/10/2021 11:47:41

#	ID de muestra	Nombre del Usuario	Fecha y hora
10	AGUA-DIAZINON	Pc	14/10/2021 11:51:53

Picos:

nm	Abs
298,718	1,977

#	ID de muestra	Nombre del Usuario	Fecha y hora
11	AGUA-CYHALOTRINA	Pc	14/10/2021 11:55:00

ANEXO F: RESULTADOS EN EL LABORATORIO LASA



INFORME DE RESULTADOS

INF.LASA-26-11-21-5657
ORDEN DE TRABAJO No. 21-5773

INFORMACIÓN DEL CLIENTE		
SOLICITADO POR: CHILQUINGA VILLACIS JUAN HERBERTO	DIRECCIÓN: RICHAMBA AV DE LA PRENSA Y ARGENTINOS	
TELÉFONO/FAX: 0683832547	TIPO DE MUESTRA: ESPECIAL	PROCEDENCIA: PLANTA
IDENTIFICACION: ALGAF	CODIGO INICIAL: M1 - FE: 14-10-2021 PY: 14-12-2021	

Información suministrada por el cliente

INFORMACIÓN DEL LABORATORIO		
MUESTREO POR: SOLICITANTE	FECHA DE MUESTREO: --	INGRESO AL LABORATORIO: 15/11/2021
FECHA DE ANÁLISIS: 15-26/11/2021	FECHA DE ENTREGA: 26/11/2021	NÚMERO DE MUESTRAS: Una (1)
CÓDIGO DE MUESTRA: 21-15857	REALIZACIÓN DE ENSAYOS: LABORATORIO	

ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO

ITEM	PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE U (k=2)	MÉTODO DE ENSAYO
1	DIAZINON	µg/kg	<10	-	^a EPA 8141 B/ AOAC 2007.01/ GC-NPD *
2	LAMBDA CYALOTHRIN	mg/kg	534,05	-	^b GC-ECD *

Los ensayos marcados con * NO están incluidos en el alcance de acreditación del SAE
Los ensayos marcados con (b) NO están incluidos en el alcance de acreditación de AZLA.

Luis
Eduardo
Granda

ING. LUIS GRANDA
JEFE DE DEPARTAMENTO

Permitida la reproducción parcial por cualquier medio con permiso por escrito del Laboratorio.
LASA se responsabiliza exclusivamente del exacto cumplimiento de los ensayos en la muestra recibida en el laboratorio, pero el cliente se es responsable de la información proporcionada por el cliente acerca de la muestra así como sus datos descriptivos.
Las certificaciones de conformidad serán emitidas solamente si el cliente lo solicita por escrito.
El laboratorio se compromete con la Imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (la aceptación de este informe implica la aceptación de la política relativa al tema y ubicada en www.laboratoriolasa.com)

Pág. 1 de 1

ANEXO G: RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ESTADÍSTICO SPSS V25.0

ONEWAY coloracion BY plagicida
/MISSING ANALYSIS.

ANOVA de un factor

[Conjunto_de_datos0]

ANOVA de un factor

coloracion

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3,556	2	1,778	5,333	,047
Intra-grupos	2,000	6	,333		
Total	5,556	8			

ONEWAY docificacion BY plagicida
/MISSING ANALYSIS.

ANOVA de un factor

[Conjunto_de_datos0]

ANOVA de un factor

docificacion

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2,000	2	1,000		
Intra-grupos	,000	6	,000		

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: coloracion

HSD de Tukey

(i) plagicida	(j) plagicida	Diferencia de medias (i-j)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
diazinon	cyhalotrina	1,33333	,47140	,067	-,1131	2,7797
	spinosad	,00000	,47140	1,000	-1,4464	1,4464
cyhalotrina	diazinon	-1,33333	,47140	,067	-2,7797	,1131
	spinosad	-1,33333	,47140	,067	-2,7797	,1131
spinosad	diazinon	,00000	,47140	1,000	-1,4464	1,4464
	cyhalotrina	1,33333	,47140	,067	-,1131	2,7797

Subconjuntos homogéneos

coloracion

HSD de Tukey^a

plagicida	N	Subconjunto para alfa = 0,05
cyhalotrina	3	1,3333
diazinon	3	2,6667
spinosad	3	2,6667
Sig.		,067

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Pruebas post hoc

ONEWAY coloracion BY plagicida
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=Tukey ALPHA(0,05).

ANOVA de un factor

[Conjunto_de_datos0]

ANOVA de un factor

coloracion

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3,556	2	1,778	5,333	,047
Intra-grupos	2,000	6	,333		
Total	5,556	8			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: coloracion

HSD de Tukey

(i) plagicida	(j) plagicida	Diferencia de medias (i-j)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
diazinon	cyhalotrina	1,33333	,47140	,067	-,1131	2,7797

Realizado por: Chilingua, Juan, 2022.

ANEXO H: ENCUESTA APLICADA A LOS POBLADORES DEL BARRIO

Plaguicidas

1. ¿Utiliza usted plaguicidas para su trabajo de campo?

Si

No

Required

2. ¿Con que frecuencia hace uso de plaguicidas?

1 vez a la semana

De 2 a 3 veces a la semana

Más de 4 veces en el mes

Required

3. ¿Cuál es el plaguicida que utiliza con mayor frecuencia?

Diazinon

Lambda Cyhalotrina

Spinosad

Required

4. ¿Conoce los pro y contra del uso de plaguicidas?

si

No

Required

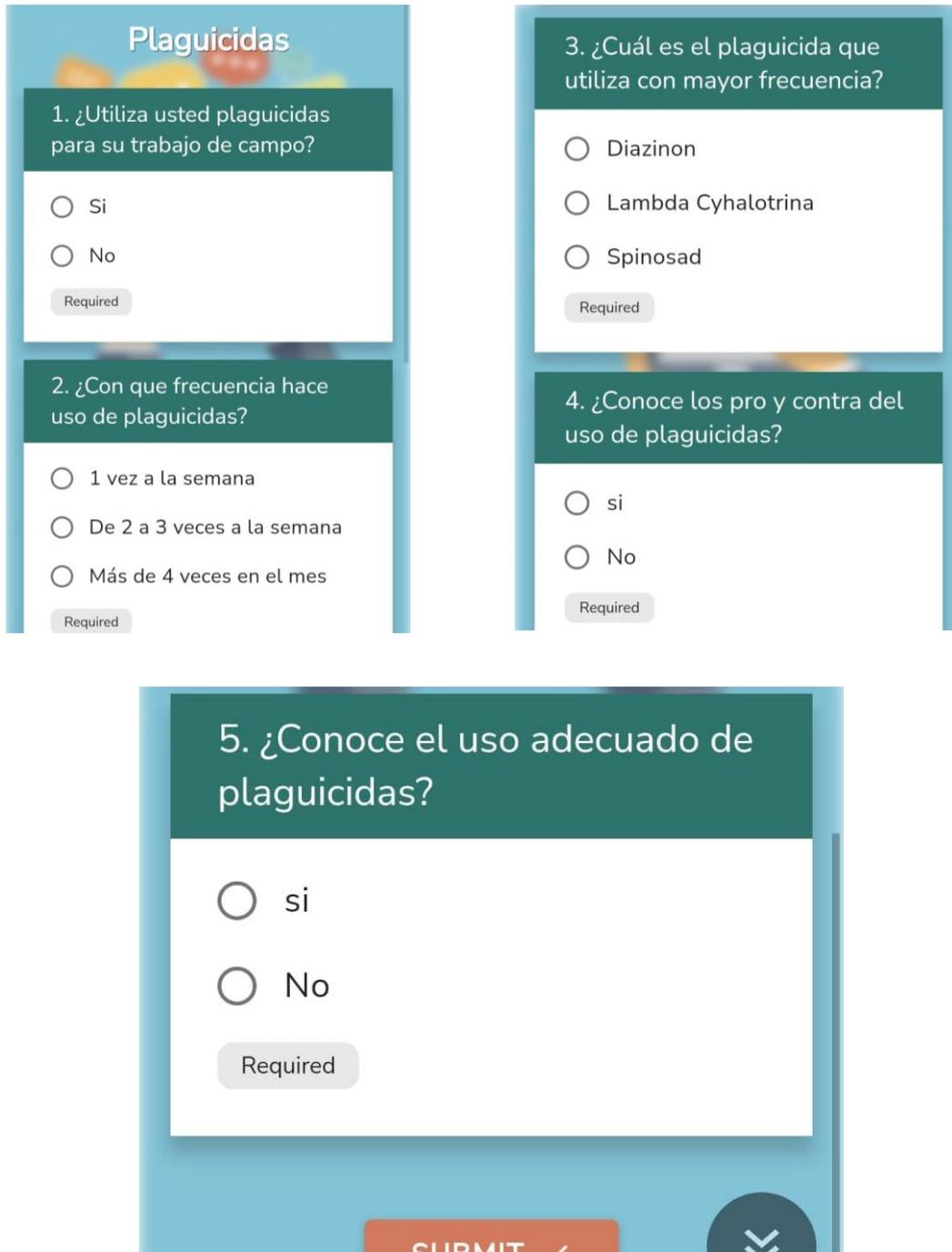
5. ¿Conoce el uso adecuado de plaguicidas?

si

No

Required

SUBMIT ✓



Realizado por: Chiquinga, Juan, 2022.



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS
BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL**

**REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y
BIBLIOGRAFÍA**

Fecha de entrega: 06 / 07 / 2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Juan Andrés Chilingua Villacis
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Ingeniería en Biotecnología Ambiental
Título a optar: Ingeniero en Biotecnología Ambiental
f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.


DIRECCION DE BIBLIOTECAS
Y RECURSOS PARA EL APRENDIZAJE
Y LA INVESTIGACION
 Ing. Jonathan Parreno Uquillas MSc.
ANALISTA DE BIBLIOTECA I
1130-DBRA-UTP-2022