

**UNIVERSIDAD CATÓLICA SEDES SAPIENTIAE**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA**



Efecto de los extractos de *Potamogeton striatus* Ruiz & Pav. y *Lemna minuta* Kunth sobre el crecimiento de poblaciones algales de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing obtenidos del Humedal Albufera de Medio Mundo, Huaura

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AMBIENTAL**

**AUTORES**

Anaid Lizzet Silva Cubas

Nataly Cristina Policarpo Morales

**ASESOR**

Armando Chiclla Salazar

Lima, Perú

2023

**METADATOS COMPLEMENTARIOS****Datos de los Autores****Autor 1**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

**Autor 2**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

**Autor 3**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

**Autor 4**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

**Datos de los Asesores****Asesor 1**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (Obligatorio)	

**Asesor 2**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (Obligatorio)	

### Datos del Jurado

#### Presidente del jurado

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	

#### Segundo miembro

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	

#### Tercer miembro

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	

### Datos de la Obra

Materia*	
Campo del conocimiento OCDE Consultar el listado:	
Idioma	
Tipo de trabajo de investigación	
País de publicación	
Recurso del cual forma parte (opcional)	
Nombre del grado	
Grado académico o título profesional	
Nombre del programa	
Código del programa Consultar el listado:	

**\*Ingresar las palabras clave o términos del lenguaje natural (no controladas por un vocabulario o tesauro).**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

ACTA N° 008 - 2023/UCSS/FIA/DI

Siendo las 09:00 a.m. del 10 de marzo de 2023 a través de la plataforma virtual zoom de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, el Jurado de Tesis, integrado por:

- |                                   |                 |
|-----------------------------------|-----------------|
| 1. Wilfredo Mendoza Caballero     | presidente      |
| 2. Segundo Octavio Zegarra Aliaga | primer Miembro  |
| 3. Mónica Velásquez Espinoza      | segundo Miembro |
| 4. Armando Chiclla Salazar        | asesor          |

Se reunieron para la sustentación virtual de la tesis titulada **Efecto de los extractos de *Potamogeton striatus* Ruiz & Pav. y *Lemna minuta* Kunth sobre el crecimiento de poblaciones algales de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing obtenidos del Humedal Albufera de Medio Mundo, Huaura** que presentan las bachilleres en Ciencias Ambientales, **Anaid Lizzet Silva Cubas y Nataly Cristina Policarpo Morales**, cumpliendo así con los requerimientos exigidos por el reglamento para la modalidad de titulación; la presentación y sustentación de un trabajo de investigación original, para obtener el Título Profesional de **Ingeniero Ambiental**.

Terminada la sustentación y luego de deliberar, el Jurado acuerda:

APROBAR

DESAPROBAR

La tesis, con el calificativo de **BUENA** y eleva la presente Acta al Decanato de la Facultad de Ingeniería Agraria, a fin de que se declare EXPEDITA para conferirle el TÍTULO de INGENIERO AMBIENTAL.

Lima, 10 de marzo de 2023.



Wilfredo Mendoza Caballero  
PRESIDENTE



Segundo Octavio Zegarra Aliaga  
1° MIEMBRO



Mónica Velásquez Espinoza  
2° MIEMBRO



Armando Chiclla Salazar  
ASESOR

**Anexo 2****CARTA DE CONFORMIDAD DEL ASESOR(A) DE TESIS / INFORME ACADÉMICO/ TRABAJO DE INVESTIGACIÓN/ TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL CON INFORME DE EVALUACIÓN DEL SOFTWARE ANTIPLAGIO****Lima, 08 de setiembre de 2023**

Señor(a),  
Wilfredo Mendoza Caballero  
Jefe del Departamento de Investigación  
Facultad de Ingeniería Agraria

Reciba un cordial saludo.

Sirva el presente para informar que **la tesis** / informe académico/ trabajo de investigación/ trabajo de suficiencia profesional, bajo mi asesoría, con título: **“Efecto de los extractos de *Potamogeton striatus* Ruiz & Pav. y *Lemna minuta* Kunth sobre el crecimiento de poblaciones algales *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing obtenidos del Humedal Albuferas de Medio Mundo”**, presentado por **Nataly Cristina Policarpo Morales (cód.: 2014100136, DNI: 75602973)** y **Anaid Lizzet Silva Cubas (cód.: 20141001295, DNI: 75407653)** para optar el título profesional/grado académico de **Ingeniero Ambiental** ha sido revisado en su totalidad por mi persona y **CONSIDERO** que el mismo se encuentra **APTO** para ser sustentado ante el Jurado Evaluador.

Asimismo, para garantizar la originalidad del documento en mención, se le ha sometido a los mecanismos de control y procedimientos antiplagio previstos en la normativa interna de la Universidad, **cuyo resultado alcanzó un porcentaje de similitud de 0 %** (cero por ciento).\* Por tanto, en mi condición de asesor(a), firmo la presente carta en señal de conformidad y adjunto el informe de similitud del Sistema Antiplagio Turnitin, como evidencia de lo informado.

Sin otro particular, me despido de usted. Atentamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Wilfredo Mendoza Caballero', is centered on the page.

---

Firma del Asesor (a)  
DNI N° 09967838  
ORCID: 0000-0002-6178-5599  
Facultad de Ingeniería Agraria - UCSS

\* De conformidad con el artículo 8°, del Capítulo 3 del Reglamento de Control Antiplagio e Integridad Académica para trabajos para optar grados y títulos, aplicación del software antiplagio en la UCSS, se establece lo siguiente:

Artículo 8°. Criterios de evaluación de originalidad de los trabajos y aplicación de filtros

El porcentaje de similitud aceptado en el informe del software antiplagio para trabajos para optar grados académicos y títulos profesionales, será máximo de veinte por ciento (20%) de su contenido, siempre y cuando no implique copia o indicio de copia.

## **DEDICATORIA**

A Dios por habernos guiado en el camino que nos ha llevado a concluir nuestra carrera en tiempos difíciles.

A mis padres Alejandro Policarpo Blas e Hilaria Morales Benites; y hermanos Alex, Elizabeth y Saúl por confianza y el absoluto apoyo que me brindaron en cada decisión que tomé para seguir adelante en mi formación profesional.

A mi madrina, Dolores Chaccara Costito, y profesores que nos han guiado y enseñado a lo largo de la carrera universitaria.

**Nataly Policarpo Morales**

Dedico esta tesis a Dios por su amor, la vida y la salud que me brinda día a día para seguir adelante.

A mis padres Effer Silva Gonzales y María Cubas Mego, por su amor, ejemplo y consejos que fortalecieron mi formación personal y profesional.

A mis hermanos Enaid, Yeni, Jhudit, Esther, Isela y Jhon; por formar parte de mi vida y por brindarme su apoyo incondicional.

**Anaid Silva Cubas**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a Dios por permitirnos llegar hasta este momento importante de nuestra carrera profesional.

A nuestros padres y hermanos por su apoyo, quienes nos motivaron a no rendirnos ante las adversidades de la vida.

A todos nuestros profesores de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, quienes fueron participes y forjadores de nuestra formación profesional.

A todos nuestros amigos y familiares quienes contribuyeron con sus consejos y ánimos en el logro de esta investigación.

# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>x</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>xi</b>
<b>ÍNDICE DE APÉNDICE</b> .....	<b>xiv</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xvi</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>4</b>
<b>CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>5</b>
1.1. Antecedentes .....	5
1.1.1. Antecedentes internacionales .....	5
1.1.2. Antecedentes nacionales .....	9
1.2. Bases teóricas especializadas .....	11
1.2.1. Control Poblacional.....	11
1.2.2. Materiales vegetales y extractos de plantas .....	13
1.2.3. Cianobacterias .....	19
1.2.4. Humedales.....	21
<b>CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>23</b>
2.1. Diseño de la investigación.....	23
2.2. Lugar y fecha.....	23
2.3. Materiales y equipos .....	25
2.4. Descripción del experimento .....	27
2.5. Tratamientos .....	39
2.6. Unidades experimentales.....	39
2.7. Identificación de las variables y su mensuración .....	40
2.8. Diseño estadístico del experimento .....	41
2.9. Análisis estadísticos de datos .....	41
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS</b> .....	<b>42</b>
3.1. Cinética de crecimiento poblacional de <i>Microcystis aeruginosa</i> .....	42

3.2. Obtención de extractos y determinación de concentración de fenoles .....	43
3.3. Actividad fenólica del extracto de <i>Potamogeton striatus</i> y <i>Lemna minuta</i> sobre el crecimiento poblacional de <i>Microcystis aeruginosa</i> .....	45
3.4. Determinación de la correlación entre los extractos de <i>Potamogeton striatus</i> y <i>Lemna minuta</i> sobre los parámetros físico químicos de los tratamientos (pH, fósforo total, nitrógeno total, conductividad y temperatura).....	51
<b>CAPÍTULO IV: DISCUSIONES .....</b>	<b>58</b>
4.1. Estimación de la cinética de crecimiento de las colonias de <i>Microcystis aeruginosa</i> a nivel de laboratorio.....	58
4.2. Determinación de la concentración de los fenoles de los extractos de <i>Potamogeton striatus</i> y <i>Lemna minuta</i> . .....	59
4.3. Estimación de la actividad fenólica del extracto de <i>Potamogeton striatus</i> y <i>Lemna minuta</i> sobre el control de las floraciones algales de <i>Microcystis aeruginosa</i> .....	60
4.4. Determinación de la correlación que existe entre los extractos de <i>Potamogeton striatus</i> y <i>Lemna minuta</i> sobre los parámetros físicos químicos de los tratamientos.....	62
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES.....</b>	<b>67</b>
<b>CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES .....</b>	<b>68</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>69</b>
<b>TERMINOLOGÍA .....</b>	<b>79</b>
<b>APÉNDICES .....</b>	<b>81</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 <i>Taxonomía de Lemna minuta</i> .....	16
Tabla 2 <i>Taxonomía de Potamogeton striatus</i> .....	17
Tabla 3 <i>Taxonomía de Microcystis aeruginosa</i> .....	21
Tabla 4 <i>Composición del medio de cultivo BG-11 para cultivo de cianobacterias</i> .....	27
Tabla 5 <i>Solución de Micronutrientes para el cultivo de medio BG-11</i> .....	28
Tabla 6 <i>Tratamientos del experimento</i> .....	39
Tabla 7 <i>Identificación de variables y su mensuración</i> .....	40
Tabla 8 <i>Promedios obtenidos de pH para Potamogeton striatus Los valores son promedios de tres mediciones ± desviación estándar (DS)</i> .....	54
Tabla 9 <i>Promedios obtenidos de pH para Lemna minuta Los valores son promedios de tres mediciones ± desviación estándar (DS)</i> .....	55
Tabla 10 <i>Promedios obtenidos de temperatura (°C) para Potamogeton striatus. Los valores son promedios de tres mediciones ± desviación estándar (DS)</i> .....	55
Tabla 11 <i>Promedios obtenidos de temperatura (°C) para Lemna minuta Los valores son promedios de tres mediciones ± desviación estándar (DS)</i> .....	55
Tabla 12 <i>Promedios obtenidos de conductividad (mS) para Potamogeton striatus Los valores son promedios de tres mediciones ± desviación estándar (DS)</i> .....	56
Tabla 13 <i>Promedios obtenidos de conductividad (mS) para Lemna minuta Los valores son promedios de tres mediciones ± desviación estándar (DS)</i> .....	56

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<i>Figura 1.</i> Humedal Albufera Medio Mundo, zona de colecta de muestras.....	23
<i>Figura 2.</i> Mapa de ubicación.....	24
<i>Figura 3.</i> Preparación de medio de cultivo BG-11 .....	28
<i>Figura 4.</i> Colecta de <i>Microcystis aeruginosa</i> .....	29
<i>Figura 5.</i> Crecimiento de cianobacterias y cuantificación de colonias .....	32
<i>Figura 6.</i> Obtención de extractos .....	34
<i>Figura 7.</i> Determinación de fenoles .....	35
<i>Figura 8.</i> Determinación de la concentración de clorofila y muestras procesadas .....	36
<i>Figura 9.</i> Cuantificación de parámetro fisicoquímico (pH) con equipo Multiparámetro .....	38
<i>Figura 10.</i> Unidades experimentales: recipientes con tratamientos.....	40
<i>Figura 11.</i> Curva de crecimiento poblacional de <i>Microcystis aeruginosa</i> en medio de cultivo BG11 evaluados en 29 días.....	43
<i>Figura 12.</i> Concentración de fenoles totales en el extracto obtenido de <i>Potamogeton striatus</i> .....	44
<i>Figura 13.</i> Concentración de fenoles totales en el extracto obtenido de <i>Lemna minuta</i> .....	44
<i>Figura 14.</i> Concentración de clorofila en los tratamientos con extracto de <i>Potamogeton striatus</i> . .....	45
<i>Figura 15.</i> Concentración de clorofila en los tratamientos con extracto de <i>Lemna minuta</i> .....	46
<i>Figura 16.</i> Crecimiento de colonias de <i>Microcystis aeruginosa</i> (colonias/ mL x 100) para tratamientos con <i>Potamogeton striatus</i> y control .....	47
<i>Figura 17.</i> Actividad fenólica del extracto <i>Potamogeton striatus</i> de los diferentes tratamientos aplicados frente al control.....	48
<i>Figura 18.</i> Crecimiento de colonias de <i>Microcystis aeruginosa</i> (colonias/ mL x100) para tratamientos con extracto de <i>Lemna minuta</i> y el control.....	49
<i>Figura 19.</i> Actividad fenólica del extracto <i>Lemna minuta</i> de los diferentes tratamientos aplicados frente al control.....	50
<i>Figura 20.</i> Concentración de nitrógeno total determinado al inicio para el control y al final del control final de los tratamientos para <i>Potamogeton striatus</i> .....	52
<i>Figura 21.</i> Concentración de nitrógeno total determinado al inicio para el control y al final del control final de los tratamientos para <i>Lemna minuta</i> .....	52

<i>Figura 22.</i> Concentración de fósforo total determinado al inicio para el control, y al final del control final de los tratamientos para <i>Potamogeton striatus</i> .....	53
<i>Figura 23.</i> Concentración de fósforo total determinado al inicio para el control, y al final del control final de los tratamientos para <i>Lemna minuta</i> .....	54
<i>Figura 24.</i> Toma de muestra de cianobacterias en Humedal Albufera Medio Mundo .....	93
<i>Figura 25.</i> Preparación de medio de cultivo BG-11 (1) y distribución en matraces para crecimiento de <i>Microcystis aeruginosa</i> (2) .....	93
<i>Figura 26.</i> Monocultivo de <i>Microcystis aeruginosa</i> obtenido del humedal (1) y crecimiento de <i>Microcystis aeruginosa</i> en matraces para facilitar crecimiento (2).....	94
<i>Figura 27.</i> Toma de muestra en placa Petri (1) y cuantificación de colonias en microscopio (2) .....	94
<i>Figura 28.</i> Colonias de <i>Microcystis aeruginosa</i> observadas al microscopio la primera (1) y última semana de conteo (2) .....	95
<i>Figura 29.</i> Acondicionamiento de muestras para obtención de extractos: preparación de <i>Lemna minuta</i> para secado (1) y proceso de secado en horno (2).....	95
<i>Figura 30.</i> Preparación de cartucho de <i>Lemna minuta</i> para obtención de extractos (1) y pesado de cartucho preparado (2) .....	96
<i>Figura 31.</i> Montaje de equipo Soxhlet para obtención de extractos .....	96
<i>Figura 32.</i> Extracto obtenido de <i>Lemna minuta</i> (1) y su almacenamiento en recipientes ámbar hasta su uso (2) .....	97
<i>Figura 33.</i> Preparación de diluciones de $\text{CO}_2\text{Na}_2$ (1) para generación de curva de calibración para cuantificación de fenoles (2).....	97
<i>Figura 34.</i> Toma de datos de parámetros a muestra de agua inicial .....	98
<i>Figura 35.</i> Preparación de la muestra principal( 1) y las diferentes disoluciones de <i>Microcystis aeruginosa</i> para tratamientos (2).....	98
<i>Figura 36.</i> Preparación de disoluciones de los extractos obtenidos para su aplicación en los tratamientos según las concentraciones establecidas (1 y 2).....	99
<i>Figura 37.</i> Procesamiento de muestras de los tratamientos para determinación de clorofila (1) y etapa de centrifugado para sedimentación de clorofila (2) .....	99

<i>Figura 38.</i> Incorporación de muestras procesadas a viales para cuantificación de clorofila (1). Vista lateral de viales con muestras en el portacubetas del espectrofotómetro para toma de datos (2) .....	100
<i>Figura 39.</i> Colocado de portacubetas en el espectrofotómetro (1) y lectura de dato (2) .....	100
<i>Figura 40.</i> Uso de equipo Multiparámetro para cuantificación de parámetros fisicoquímicos de cada uno de los tratamientos (1) y toma de datos obtenidos (2).....	101
<i>Figura 41.</i> Reparación de muestras para lectura en Espectrofotómetro Photoflex WTW® (1) de los parámetro de nitrógeno (2) y fósforo siguiendo por los tratamientos asignados para cada uno .....	101
<i>Figura 42.</i> Lectura de muestras procesadas en Espectrofotómetro Photoflex WTW® para toma de datos de nitrógeno y fósforo respectivamente (1 y 2).....	102

## ÍNDICE DE APÉNDICE

	Pág.
Apéndice 1. Curva de crecimiento de colonias de <i>Microcystis aeruginosa</i> en 1mL.....	81
Apéndice 2. Determinación de concentración de fenoles (mg/L) de los extractos obtenidos. Los valores corresponden a promedios y desviación estándar .....	82
Apéndice 3. Registro de cantidad de colonias de <i>Microcystis aeruginosa</i> contabilizada en 10 $\mu$ L. Los valores corresponden a promedios y desviación estándar .....	82
Apéndice 4. Concentración de clorofila (mg/L) de los diferentes tratamientos de cada extracto evaluado. Los datos corresponden a los promedios y las desviaciones estándares .....	83
Apéndice 5. Estimación de colonias de <i>Microcystis aeruginosa</i> presente por mL en cada tratamiento .....	85
Apéndice 6. Determinación del porcentaje de inhibición de crecimiento, estimado en función del número de colonias presentes en el medio en comparación del control.....	86
Apéndice 7. Análisis de la varianza ( $p \leq 0.05$ ) para la concentración de clorofila para cada muestra evaluada .....	87
Apéndice 8. Prueba de Tukey y ANOVA aplicada al porcentaje de inhibición de crecimiento para los tratamientos de <i>Potamogeton striatus</i> .....	88
Apéndice 9. Prueba de Tukey y ANOVA aplicada al porcentaje de inhibición de crecimiento para los tratamientos de <i>Lemna minuta</i> .....	89
Apéndice 10. Coeficiente de correlación lineal de Pearson entre los valores de Clorofila, temperatura, conductividad, pH, fósforo total, nitrógeno total y el porcentaje de inhibición de crecimiento para los tratamientos de <i>Potamogeton striatus</i> .....	90
Apéndice 11. Coeficiente de correlación lineal de Pearson entre los valores de Clorofila, temperatura, conductividad, pH, fósforo total, nitrógeno total y el porcentaje de inhibición de crecimiento para los tratamientos de <i>Lemna minuta</i> .....	91
Apéndice 12. Constancia de identificación de especie correspondiente a muestra de <i>Potamogeton striatus</i> obtenida del humedal Albufera de Medio Mundo.....	92
Apéndice 13. Registro fotográfico.....	93

## RESUMEN

El estudio del efecto de los extractos en el crecimiento de las poblaciones algales de *Microcystis aeruginosa* surgió como una necesidad de controlar las proliferaciones masivas de cianobacterias en los humedales de manera sostenible y amigable con el ecosistema. Por ello, esta investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos de los extractos de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* sobre el crecimiento de las poblaciones algales de *Microcystis aeruginosa* obtenidos del Humedal Albufera de Medio Mundo. Al realizar la cuantificación de fenoles presentes en los extractos evaluados se determinó que el extracto de *Potamogeton striatus* presentó mayor concentración de fenoles que *Lemna minuta*, sin embargo, presentaron un comportamiento similar en el control de las poblaciones de la cianobacteria *M. aeruginosa*. Para evaluar los efectos de los fenoles presentes en los extractos, se utilizó un control y 4 tratamientos con tres réplicas para cada especie. El efecto inhibitorio de los extractos se cuantificó mediante determinación de clorofila (con una población inicial de 8000 colonias/mL), donde se obtuvo como dato base de clorofila de 3,888 mg/L. A partir de ello, se determinó el número de colonias y el porcentaje de inhibición en cada uno de los tratamientos. El extracto *Potamogeton striatus* mostró un porcentaje de inhibición máxima de 76,85 y de 80,24 % para los de *Lemna minuta* durante 13 días de aplicación. Los resultados obtenidos mostraron que fenoles de los extractos de las especies evaluadas presentan efectos sobre el crecimiento las colonias de *M. aeruginosa*. Teniendo en cuenta la concentración los fenoles que presentaron cada una de las especies, podemos concluir que la *Lemna minuta* presentó mejores resultados en comparación a los efectos obtenidos del *Potamogeton striatus*.

**Palabras claves:** Extractos, fenoles, cianobacterias, *Microcystis aeruginosa*, *Potamogeton striatus*, *Lemna minuta*, inhibición de crecimiento, clorofila

## ABSTRACT

The study of the effect of extracts on the growth of algal populations of *Microcystis aeruginosa* arose as a need to control the massive proliferation of cyanobacteria in wetlands in a sustainable and ecosystem-friendly manner. Therefore, the objective of this research was to evaluate the effects of *Potamogeton striatus* and *Lemna minuta* extracts on the growth of *Microcystis aeruginosa* algal populations obtained from the wetland Albufera de Medio Mundo. When quantifying the phenols present in the extracts evaluated, it was determined that the extract of *Potamogeton striatus* presented a higher concentration of phenols than *Lemna minuta*, however, they presented similar behavior in the control of the populations of the cyanobacterium *M. aeruginosa*. To evaluate the effects of the phenols present in the extracts, a control and four treatments with three replicates were used for each species. The inhibitory effect of the extracts was quantified by determination of chlorophyll (with an initial population of 8 thousand colonies/mL), where a base chlorophyll level of 3,888 mg/L was obtained. From this, the number of colonies and the percentage of inhibition in each of the treatments were determined. The *Potamogeton striatus* extract showed a maximum inhibition percentage of 76,85 and 80,24 % for those of *Lemna minuta* during 13 days of application. The results obtained showed that phenols from the extracts of the species evaluated have effects on the growth of *M. aeruginosa* colonies. Taking into account the concentration of phenols presented by each of the species, we can conclude that *Lemna minuta* presented better results compared to the effects obtained from *Potamogeton striatus*.

**Key words:** *Extracts, phenols, cyanobacteria, Microcystis aeruginosa, Potamogeton striatus, Lemna minuta, growth inhibition, chlorophyll, chlorophyll*

## INTRODUCCIÓN

La presencia de cianobacterias en la Tierra es tan antigua como la formación del oxígeno de la atmósfera, pues probablemente ellas hayan contribuido a formarla (Madigan *et al.*, 2003), colonizando con éxito diversos tipos de ecosistemas acuáticos, semiacuáticos o terrestres desde ese momento. La distribución de cianobacterias se ha evidenciado también en nuestro país debido a que existen reportes de la presencia de *Microcystis aeruginosa* en lugares como: el Lago Titicaca (Montoya, 2014), la Laguna Huacachina (Mendoza, 2016), el Humedal Albufera de Medio Mundo (Martínez, 2018) y otros lugares.

La *Microcystis aeruginosa* es conocida por producir una cianotoxina conocida como microcistina la cual es causante de muchos envenenamientos de animales domésticos y silvestres a nivel mundial (Adams *et al.*, 1990), especialmente si las aguas contaminadas son ingeridas o usadas para uso recreacional (Chorus y Bartram, 1999).

Uno de los factores que influyen en el crecimiento de cianobacterias se relaciona con la eutrofización de los cuerpos de agua que, con frecuencia, tienen origen en las actividades antrópicas (Chorus y Bartram, 1999). La eutrofización genera un enriquecimiento de nutrientes que favorece la proliferación masiva de cianobacterias (Solano, 2018). Se debe mencionar que este problema se agudiza por calentamiento global (Paerl *et al.*, 2014).

En la actualidad existen muchos compuestos químicos que son utilizados como alguicida para controlar el crecimiento de cianobacterias, sin embargo, su uso ha generado una contaminación secundaria en varias ocasiones (Montoya, 2014). Ante esta situación, muchos estudios investigan el efecto alelopático que tiene los macrófitos hacia determinadas especies de cianobacterias, las cuales pueden presentar diferentes efectos según los metabolitos secundarios que produzcan, como ejemplo tenemos los compuestos fenólicos que afectan la actividad

fotosintética y enzimática; y, de esta manera, recuperar estos ecosistemas de forma menos intrusiva.

Existen muchas investigaciones que evalúan el efecto de *Potamogeton* sp. y *Lemna* sp. así tenemos la investigación realizada por Pakdel *et al.* (2013) donde evalúan al *Potamogeton crispus* L. y *Chara australis* B. en el crecimiento de *Anabaena variabilis* y de *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brébisson; y al estudio realizado por Takeda *et al.* (2011) quienes investigan al *Potamogeton pusillus* L. en comunidades de *Microcystis aeruginosa*.

Es por ello que surge la necesidad de estudiar las floraciones algales de *Microcystis aeruginosa* y proporcionar información que será útil para frenar la proliferación masiva de esta cianobacteria en los humedales costeros con el propósito de adoptar medidas de control o estrategias de intervención.

Teniendo en cuenta lo mencionado, es necesario sustentar teóricamente este trabajo de investigación con publicaciones similares realizados por otros investigadores, además de identificar cada uno de los componentes involucrados, tal como se explica en el Capítulo I. Así mismo, en el Capítulo II se detalla la metodología, procedimientos e instrumentos utilizados durante la investigación, que involucra la obtención e identificación de especies, procesos para la obtención de extractos, la aplicación de los tratamientos y la organización de datos obtenidos. Por otro lado, en el Capítulo III se presentan los resultados obtenidos de nuestro proceso experimental, las cuales se analizan y discuten en el Capítulo IV para presentar las conclusiones a las que se llegaron en el Capítulo V. Finalmente, en el capítulo VI se presentan las recomendaciones que se dan para futuras investigaciones.

En la presente investigación se sometió a las poblaciones algales de *Microcystis aeruginosa* a tratamientos con diferentes concentraciones de fenoles de los extractos obtenidos de

*Potamogeton striatus* y *Lemna minuta*, especies que fueron colectadas del humedal Albufera de Medio Mundo, y se determinó los efectos mediante la cuantificación del porcentaje de inhibición de crecimiento poblacional.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar los efectos de los extractos de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta*, sobre el crecimiento de poblaciones algales de *Microcystis aeruginosa* obtenidas del Humedal Albufera de Medio Mundo.

### Objetivos específicos

- a) Estimar la cinética de crecimiento de las colonias de *Microcystis aeruginosa* a nivel de laboratorio.
- b) Determinar la concentración de los fenoles de los extractos obtenidos de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta*
- c) Estimar la actividad fenólica del extracto de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* sobre el crecimiento poblacional de *Microcystis aeruginosa*.
- d) Determinar la correlación que existe entre de los extractos de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* sobre los parámetros fisicoquímicos de los tratamientos.

# CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

## 1.1. Antecedentes

### 1.1.1. Antecedentes internacionales

Kucala *et al.* (2021) realizaron la investigación Fitorremediación de CYN, MC-LR y ANTX-a del Agua por el Macrófito Sumergido *Lemna trisulca*, con el objetivo de estudiar el potencial de la *Lemna trisulca* eliminando cianotoxinas de las cianobacterias más comunes de agua dulce. Este estudio fue realizado en la Universidad Jagiellonian, Polonia, en donde los autores utilizaron a las cianobacterias *Dolichospermum flos-aquae*, *Raphidiopsis raciborskii* y *Microcystis aeruginosa* para obtener las cianotoxinas: microcistina hepatotóxica (MC-LR), la cilindrospermopsina citotóxica (CYN) y la anatoxina-a neurotóxica (ANTX-a) respectivamente. Los tratamientos evaluados estuvieron compuestos de 20 mL de BG11; 0,7 mg peso seco (dw) de cultivo madre de la cianobacteria y 3 mg dw de la macrófita. Para determinar la diferencia significativa ( $p < 0,05$ ), los resultados fueron sometidos a ANOVA y la Prueba *t-student*. Luego de 14 días de tratamiento, el contenido de las cianotoxinas ( $\text{g.mg.dw}^{-1}$ ) disminuyó para todas las especies: aproximadamente de 0,1  $\text{g.mg.dw}^{-1}$  de CYN en *R. raciborskii* a 0,4; de 2,55 de MC-LR en *Microcystis aeruginosa* a 2,39; de 0,70 de ANT-a en *D. flos-aquae* a 0,10. Además, la macrófita estabilizó los valores de pH y conductibilidad eléctrica. Los resultados presentados por los autores demostraron que la *L. trisulca* presentó un potencial biotecnológico para limitar el crecimiento y la toxicidad de las floraciones de cianobacterias.

Huang *et al.* (2020) realizaron una investigación titulada “Efectos combinados de polifenoles alelopáticos sobre *Microcystis aeruginosa* y respuesta de fluorescencia de clorofila” la cual tuvo como objetivo proporcionar resultados que puedan generar un método para analizar y mejorar

los efectos de los aleloquímicos de polifenoles que inhiben a las cianobacterias. Este análisis ha sido realizado en un laboratorio de Ecología y Biotecnología en China, para el cual utilizaron relaciones de dosis-respuesta en  $1 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  de *Microcystis aeruginosa* K en soluciones de 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5 y 10 mg/L de ácido pirogálico (PA) y ácido gálico (GA); y 2,5; 5; 7,5; 10; 20 y 50 mg/L para ácido elágico (EA) y catequina (CA) evaluados en 72 horas. El análisis estadístico de los datos fue realizado a través del programa SPSS 13,0 para determinar la densidad celular y la concentración de inhibición. Así mismo, aplicaron la prueba de Tukey para determinar las diferencias. En la evaluación de polifenoles individuales obtuvieron que los parámetros más sensibles de CE50 para la *Microcystis aeruginosa* fue de la siguiente manera: parámetros de extinción no fotoquímicos (NPQ) > parámetros de extinción fotoquímica (YII) > densidades celulares siendo PA y GA los que presentaron mejores resultados inhibiendo la actividad del fotosistema II (PSII) con valores de 0,87; 1,05; 18,73 y 11,67 mg/L de NPQ ( $p < 0,05$ ;  $n = 6$ ) para PA, GA, EA y CA respectivamente. Los autores concluyeron que los parámetros de fluorescencia de clorofila (CFP) presentados tienen mayor sensibilidad que las densidades celulares, así como también en las evaluaciones de las muestras de dos o tres fenoles existieron sinergismo y efectos aditivos de fotoprotección inducida por la luz (NPQ) de las poblaciones evacuadas.

Solano (2018) realizó una investigación titulada “Determinación del efecto alelopático del extracto de *Oryza sativa* L. sobre el crecimiento de cianobacterias productoras de toxinas” la cual tuvo por objetivo determinar el efecto inhibitorio de los aleloquímicos presentes en el extracto de la cascarilla de arroz en el crecimiento de las cianobacterias productoras de toxinas en México. En este estudio, la autora utilizó dos extractos de cascarilla de arroz (*Oryza sativa* L., un extracto crudo y un extracto clarificado para controlar el crecimiento de las cianobacterias *Anabaena cylindrica* L., *Anabaena* sp. Bornet, É. y Flahault, C. y *Microcystis aeruginosa* K. (obtenida de una muestra ambiental), las cuales fueron cultivadas en el medio de cultivo BG-11. Para determinar la actividad alelopática empleó dos técnicas: el hemocitómetro de Neubauer y la de citometría de flujo. La autora aplicó concentraciones de 1; 10; 100 y 1000 mg/L durante un periodo de 10 días para evaluar el efecto alelopático de los extractos. Para contabilizar la eficacia del efecto alelopático recurrió a la técnica de citometría de reflujo. En el análisis

estadístico, utilizó el ANOVA de dos vías para determinar las diferencias significativas y determinar el efecto alguistático o alguicida; esto mediante el programa de estadística GraphPad Prism 7,0. En conclusión, los resultados presentados por Solano demostraron que la *Microcystis aeruginosa* K. mostró mayor sensibilidad al extracto crudo, y la *Anabaena* sp. con la *A. cylindrica* L. presentaron mayor sensibilidad el extracto puro.

Kaminski *et al.* (2015), realizaron una investigación titulada “Macrófito acuático *Lemna trisulca* (L.) como factor natural para reducir la concentración de anatoxina-a en el medio acuático y la biomasa de cianobacterias *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) De Breb” la cual tuvo como objetivo evaluar la interacción de la *Lemna trisulca* como factor natural para reducir la concentración de la anatoxina-a en el medio acuático y disminuir la biomasa de cianobacterias de *Anabaena flos-aquae* en la Universidad Jagiellonian, Polonia. Para esta investigación los autores extrajeron la macrófita de agua dulce y las cianobacterias fueron cultivadas en medio de cultivo BG11 durante 28 días. La determinación de fenoles totales fue realizada mediante espectrofotometría, a una absorbancia de 720 nm, con una muestra en blanco que contenía el solvente sin extracto; mientras que las concentraciones fueron halladas mediante la curva estándar para ácido gálico. En el análisis estadístico, los resultados fueron sometidos a ANOVA, compararon las medias con la prueba de Tukey y determinaron las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Como resultado, los autores mostraron que la *L. trisulca* con una concentración de 0,073 mg/L de fenol, inhibió el crecimiento de la cianobacteria *A. flos-aquae* en un 86,9 % en comparación al control en el día 32 de la investigación; con respecto a la cianotoxina con presencia del macrófito, el día 4 la concentración disminuyó en un 39 % y el día 18 ya no se evidenció. Por otro lado, la concentración de cianotoxinas incrementó en un 77 % en el tratamiento que no contenía macrófitas. Al finalizar el estudio, los investigadores concluyeron que la *Lemna trisulca* puede ser usada para la inactivación biológica de la *Anabaena flos-aquae* así como también de la prevención de la proliferación de cianobacterias en los estanques de agua.

Kaminski *et al.* (2014), Realizaron una investigación titulada “Fitorremediación de anatoxina-a por macrófitos acuáticos *Lemna trisulca* L.” la cual tuvo como objetivo evaluar el potencial

biorremediador de *Lemna trisulca* L. y demostrar si es capaz de eliminar las toxinas generadas por *A. flos-aquae* en los medios acuáticos, estas cianobacterias fueron cultivadas en medio BG-11 en un periodo de 28 días, a una temperatura de  $20 \pm 1$  °C. El lugar de estudio fue en la Universidad Jagiellonian (Polonia). Los autores utilizaron medios controlados en que incluía muestras de peso fresco (fw) de *L. trisulca* en diferentes concentraciones, evaluada a los 14, 18 y 24 días de haber iniciado el experimento. Para el análisis estadístico, los resultados fueron sometidos al ANOVA, y compararon las medias y determinaron las diferencias significativas con Tukey. Las muestras de *L. trisulca* que contenían 0,013 mg de ANTX-a/ mL presentaron una disminución significativa de 21 y 30 % a los 18 y 24 días respectivamente. Al evaluar un gramo de peso fresco de *L. trisulca* cultivada en medios con 0,05 mg de ANTX-a durante 14 días, lograron determinar que la planta eliminó el 95 % de la concentración inicial de la cianotoxina; además, en medios con 0,25 mg de ANTX-a eliminaron el 86 %. Los autores concluyeron que la *L. trisulca* tiene el potencial para estabilizar medios alterados, resaltando su importancia como potencial fitorremediador.

Pakdel *et al.* (2013) en la investigación que realizaron en la Universidad de Monash, Australia: “Inhibición alelopática de microalgas por la agripalma agua dulce, *Chara australis*, y una angiosperma sumergida, *Potamogeton crispus*”, tuvieron como objetivo examinar el potencial alelopático del *Potamogeton crispus* L. y *Chara australis* B., sobre el crecimiento de *Anabaena variabilis* Kützinger ex Bornet y Flahault. y de *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brébisson. La metodología presentada por los autores para obtener los extractos consistió en congelar los macrófitos por 24 horas y luego deshidratarlo durante 04 días. Este material fue molido y homogenizado con metanol al 60 % para extraer las sustancias aleloquímicas solubles. El sobrenadante fue evaporado en un rotoevapor y disueltos en 5mL de metanol al 98 %. Los extractos de los macrófitos fueron colocados sobre las capas de agar, lo incubaron por 10 días y fueron evaluados cada 2 días. Para el análisis estadístico, los autores utilizaron el ANOVA de dos y tres vías para comparar la densidad celular de los controles con los tratamientos y, para determinar las diferencias significativas utilizaron las pruebas HSD de Tukey ( $p < 0,05$ ) en el programa estadístico R (versión 2,10,1). Los autores obtuvieron un porcentaje de inhibición cercano al 80 % en tratamientos con extractos de *Potamogeton crispus* y 90 % con extractos de

*Chara australis* para el día 10 en ambas especies. Además, para esta misma fecha se alcanzaron valores cercanos al 100 % de inhibición poblacional utilizando brotes de estas macrófitas. De esa manera, los autores concluyeron que las dos especies de macrófitas son alelopáticamente activas y pueden ser usadas como controladores biológicos. También demostraron que la respuesta alelopática es diferente y específica según la especie que se evalúa logrando, en algunos casos, adaptarse a lo largo del tiempo.

Takeda *et al.* (2011) en la investigación “Potencial alelopático de la comunidad de *Potamogeton pusillus* frente a *Microcystis aeruginosa*”, tuvieron como objetivo evaluar el potencial alelopático del macrófito sumergido *Potamogeton pusillus* L. en comunidades de *Microcystis aeruginosa* K. Para este análisis, los autores obtuvieron las muestras de los estanques distribuidos en las instalaciones del Instituto Nacional de Estudios Ambientales de Japón. En los bioensayos de filtrado del cultivo, el *P. pusillus* L. liberó aleloquímicos que inhibieron el crecimiento de la *Microcystis aeruginosa* K. En esta investigación evidenciaron que la inhibición alelopática del *P. pusillus* L. en un medio natural está sujeta a la presencia, ausencia y cantidad de comunidades de la planta en el mesocosmos. Los investigadores estudiaron el potencial inhibidor de crecimiento de colonias de *Microcystis aeruginosa* con *Potamogeton pusillus* obteniendo un porcentaje de inhibición de crecimiento cercanos al 53 y 48 % en comparación con el control de las muestras obtenidas de los estanques Yamanokami y Bessho Pond respectivamente. Los autores mencionaron que el efecto alelopático puede estar relacionado a otras sustancias presentes en el estanque por lo que sugieren que es necesario realizar una evaluación química. En esta investigación concluyeron que el filtrado de *P. pusillus* L. actúan liberando un aleloquímico la cual inhiben el crecimiento de *Microcystis aureginosa* K., evidenciando su potencial alelopático en estanques naturales con mayor presencia de *P. pusillus* L.

### **1.1.2. Antecedentes nacionales**

Martínez (2018) tuvo como objetivo analizar el potencial de la pajilla de arroz como inhibidor de crecimiento de floraciones algales de *Microcystis aeruginosa* en la investigación titulada

“Evaluación del potencial alelopático de la pajilla de arroz en el control de las floraciones algales producidas por *Microcystis aeruginosa* (Kützing)” Las muestras que utilizó fueron colectadas del Humedal Albufera Medio Mundo de la ciudad de Huaura, las cuales fueron cultivadas en medios de cultivo BG-11, a una temperatura constante de 25 °C, 1100 Lux, por un periodo de 30 días. Para los tratamientos, aplicó monocultivos de *Microcystis aeruginosa* en concentraciones de 0,1 (T1); 1,0 (T2) y 10 g de pajilla de arroz (T3). Este estudio evaluó la cinética de crecimiento de la cianobacteria, la actividad alelopática de la pajilla de arroz en poblaciones de *Microcystis aeruginosa* además de los parámetros fisicoquímicos durante en un periodo de 60 días y evaluados cada 7 días. Para el análisis estadístico, el autor utilizó el programa estadístico SPSS v. 21; en la cual determinó la desviación estándar y las medias de los tratamientos, así mismo, para determinar la relación entre los parámetros con el número de colonias de *M. Aeruginosa*. Utilizó el índice de correlación de Pearson. Como resultado, se alcanzó una inhibición de 90,08; 95,5 y 99,92 % para los tratamientos T1, T2 y T3 respectivamente en la semana N°2. Además, en la última semana de investigación (semana 4) se obtuvo 99,35; 99,94 y 100 % para para los tratamientos T1, T2 y T3 respectivamente. Con ello el autor que demostró que la pajilla de arroz es eficaz en el control de poblaciones de *M. aeruginosa*.

Mendoza (2016), en la investigación “El género *Sphaerocavum* y dominancia de *S. brasiliense* y *Microcystis wesenbergii* (Microcystaceae, Cyanophyceae) en la floración algal de la laguna Huacachina, Perú”, tuvo por objetivo identificar y estudiar las floraciones algales de las cianobacterias presentes en la Laguna Huacachina. Para este estudio colectó dos muestras de fitoplancton superficial y veinte litros de agua filtrada. Estas muestras fueron analizadas en un microscopio Nikon Eclipse E2000. La toma de medidas morfométricas y microfotografías lo realizó con la cámara Nikon DS-Fi2 acoplada con el software NIS Elements (versión 4,10,01). Asimismo, observó las distintas etapas de crecimiento de las cianobacterias para estudiar sus características fenotípicas. En conclusión, en esta investigación el autor logró identificar las dos especies que tienen mayor predominancia en el fitoplancton de la laguna las cuales pertenecen a la familia Microcystaceae: *Sphaerocavum brasiliense* M.T.P. Azevedo y Sant'Anna y *Microcystis wesenbergii* (Komárek) Komárek ex Komárek in Joosen. Además, afirma que esta

investigación presenta el primer reporte de *Microcystis wesenbergii* en el Perú generando un alto riesgo de exposición a las toxinas que produce esta especie.

Montoya (2014) en la investigación “Especies cianobacteriales, formadoras potenciales de floraciones en el lago Titicaca (Perú)” tuvo la finalidad de describir la situación en la que se encontraba este lugar en relación con el potencial cianobacteriano de las floraciones de agua durante el periodo de verano 2013 y 2014. Para ello, colectó muestras de plancton del litoral durante marzo del 2014 en la Bahía de Puno del Lago Titicaca utilizando una red de plancton con aberturas de 10 $\mu$ m. También estudió la comunidad plántica utilizando los microscopios Olympus BX 51 y Leitz Dialux 22, siendo documentado por el micrómetro. Los resultados mostraron una alta presencia de floración de cianobacterias nuevas que aún no habían sido encontradas en estudios anteriores en lago como la *Microcystis aeruginosa*, *Limnoraphis robusta* (Paracutty) J. Komárek, *Nodularia inca* Montoya, Komárková y Komárek que son productora de toxinas. Llegó a la conclusión que estas cianobacterias estuvieron muy desarrolladas en este lugar debido a la eutrofización que presenta el lago, el cual está agudizando constantemente debido al impacto antrópico generados por las actividades turísticas y los establecimientos humanos ubicados en las orillas.

## **1.2. Bases teóricas especializadas**

### **1.2.1. Control Poblacional**

Existe varios métodos utilizados para el manejo de poblaciones de cianobacterias que incluyen los métodos físicos (radiación ultravioleta, limpieza mecánica, floculación, etc.), métodos químicos (cloración, herbicidas, alguicidas, antibióticos, etc.) y métodos biológicos (consumidores primarios, bacterias, macrófitos terrestres o acuáticos, extractos y /o derivados, etc.) (Cobo, 2015; Solano, 2018) cada uno de ellos con un efecto diferente en los ecosistemas en donde se realiza el control (Martínez, 2018).

El Control biológico es un método que implica el uso intencional de organismos que son enemigos naturales para regular el crecimiento de la población que se comporta como plaga; y de sustancias naturales como aceites esenciales y extractos acuosos procedentes de las plantas que limitan el crecimiento de las cianobacterias. Las especies utilizadas en el control biológico son aplicadas de diferentes maneras: importando enemigos exóticos a las áreas afectadas, liberando periódicamente especies controladoras/ depredadoras y observando a los enemigos nativos mediante el manejo del ambiente en el que viven. Con respecto a los controles biológicos según Cobo (2015) tenemos:

- Agentes bacterianos: las bacterias rompen la pared celular de las cianobacterias alcanzando resultados diferentes en función de los niveles de población, de los nutrientes y del estado del agua en la que se encuentra. La eficiencia del control depende de varios factores como: la capacidad de respuesta de la bacteria frente a los cambios fisiológicos y ecológicos de las especies de cianobacterias y sus mutaciones, la tasa de supervivencia, la tasa de reproducción y la capacidad de adaptación que puede presentar ante amplias variaciones en las condiciones físicas del medio en donde se desarrolla (Cobo, 2015).
- Hongos y protozoos: su eficacia depende de la tasa de crecimiento, la relación con sus depredadores, capacidad de adaptación entre otros factores (Cobo, 2015).
- Macrófitas: el crecimiento de las cianobacterias se ve limitadas por las plantas acuáticas debido a que estas absorben nutrientes del agua y sedimento compitiendo directamente con ellas por la disponibilidad de los nutrientes y luz. Algunas macrófitas liberan sustancias químicas (aleloquímicos) que podrían disminuir el crecimiento de las cianobacterias, producir cambios en la biomasa, en su comportamiento o en la composición del fitoplancton (Cobo, 2015).
- Materiales vegetales y extractos de plantas: los extractos acuosos, así como aceites esenciales extraídos de varias plantas terrestres y acuáticas, tienen efectos negativos sobre el desarrollo del fitoplancton como controladores biológicos (Cobo, 2015).

Los controles poblacionales mencionados no representan ningún riesgo para la salud pública, ni causa contaminación ambiental, además, podría ser más rentable que el control químico. Su desventaja principal es que un enemigo natural recomendable en un lugar no necesariamente funcionará de la misma manera en otro lugar, es decir hay que estudiar el problema de plaga en particular (Hanson y Hilje, 1993).

## **1.2.2. Materiales vegetales y extractos de plantas**

### **A. Macrófitas**

También conocido como plantas acuáticas o hidrófitas, son plantas que no poseen flores llamativas. Su producción en gran escala carece de utilidad dado que no pueden utilizarse como alimento, por otro lado, en ecosistemas acuáticos, estos organismos juegan un papel importante ya que sin ellas los ecosistemas presentan un cambio considerable. Las plantas acuáticas suelen ser utilizadas como bioindicadores dado que son una especie muy susceptible a los cambios de pH, salinidad, temperatura, nutrientes, etc. (García *et al.*, 2010).

A continuación, se detalla algunas de las características importantes de los macrófitos

- Características de hábitat: García *et al.* (2010) identificaron algunos de los ambientes más comunes de macrófitas, siendo estos los sistemas lóticos (en aguas permanentes, cursos bajo y medio y aguas estacionales) y en sistemas lénticos (en lagunas de alta montaña, lagunas permanentes, humedales turbosos, marismas no mareales, aguas estacionales salinas, etc.).

El ciclo de vida de las macrófitas es diferente a las de una planta terrestre. Su presencia en un ecosistema puede estar determinado por el periodo de inundación (tiempo de duración de la inundación o de circulación del agua), turbidez del agua e intensidad de la radiación luminosa (los macrófitos son fotosintéticos por lo que la distribución y estratificación

dentro del ecosistema está relacionado a la accesibilidad a la radiación luminosa), salinidad y concentración de los iones disueltos en el agua (la concentración de nutrientes y otros elementos necesarios disponibles en el agua tiene gran influencia en su metabolismo ya que muchas de estas plantas obtienen sus nutrientes a través de la epidermis de sus hojas) (García *et al.*, 2010).

- Tipos biológicos: Los botánicos han establecido diversos términos para definir y agrupar a las plantas acuáticas: hidrófitas o macrófitas acuáticas (plantas que tienen estructura vegetativa completa, pudiendo estar sumergidas o flotando), higrófilos (plantas más de carácter terrestre que necesitan de un suelo húmedo o pueden soportar un periodo de encharcamiento temporal), fitoplancton (formado por diversos grupos de algas unicelulares, que quedan suspendidos dentro del agua, son organismos pioneros en ecosistemas dañados) y algas filamentosas (su estructura es simple y se reduce a un filamento de células, suelen predominar en cuerpos eutrofizados) (García *et al.*, 2010).

Dentro los hidrófitos o macrófitos acuáticos podemos identificar tres tipos biológicos que se agrupan según el lugar donde enraízan y crecen: macrófitos sumergidos (enraízan en el sustrato del cuerpo hídrico y permanecen completamente sumergidas), macrófitos flotantes (no se adhieren al sustrato) y los macrófitos enraizados-flotantes (enraízan en el sustrato y pueden tener una parte de su estructura vegetativa flotando que por lo general suelen ser sus grandes hojas). Es objeto de nuestro estudio dos especies que pertenecen a este último grupo de macrófitas (García *et al.*, 2010).

- Estructura vegetativa de macrófitas: La anatomía y fisiología que presenta son parecidas al de las plantas vasculares, las cuales presentan modificaciones que permiten adaptarse a su medio de desarrollo: tallo (son siempre herbáceos, con reducido o nula presencia de xilema y tejidos de sostén, en su mayoría tiene tallos rizomatosos), raíces (en su gran mayoría el sistema radial se encuentra atrofiada o escasamente desarrollada ya que han perdido su funcionalidad como órgano de absorción, la mayoría presenta raíces adventicias), hojas (son lineales o están finamente divididas dado que a mayor superficie foliar mayor acceso a

nutrientes, algunas plantas pueden presentar dos tipos de hojas, heterofilia, en la parte flotante con hojas semejante a las plantas terrestres y en la parte sumergida con hojas con forma lineal o finamente divididas), flores (las que no presenta pétalos, son pequeñas y poco vistosas utilizando al viento y agua como polinizador mientras que las que tiene flores vistosas y estructuras completas son polinizadas por insectos) y frutos (su aparición es ocasional, ya que muchos de ellos se propagan por multiplicación vegetativa) (García *et al.*, 2010).

- Los macrófitos acuáticos como bioindicadores: Los macrófitos acuáticos responden rápidamente a las variaciones en las condiciones fisicoquímicas del medio lo que los hace buenos bioindicadores. Frente a los cambios ambientales, estas plantas presentan una respuesta de mediano a largo plazo, reflejando las condiciones ambientales en los últimos meses o años. Su presencia y/o ausencia en el medio acuático puede estar relacionada a la calidad el agua. En los diferentes hábitats acuáticos en donde están distribuidas, estas especies tienen la capacidad de acumular sustancias tóxicas en su cuerpo (García *et al.*, 2010).
- Beneficios y problemas asociados a las plantas acuáticas: Reciclar y absorber los nutrientes, oxigenar el agua, fijar el CO<sub>2</sub>, regular la temperatura, luz y transporte de sedimentos del ecosistema al cual pertenecen, ser el hábitat de numerosas especies de insectos, peces y anfibios, y, ser indicadores de calidad del agua son algunos de los múltiples beneficios que se conocen de los macrófitos. Aun así, su presencia también ha representado varios problemas: impiden el paso de la luz al fondo del cuerpo hídrico; si se trata de una especie invasora y territorial, pueden llegar a alterar el equilibrio ecológico del lugar; reducen el valor económico del medio donde se encuentran porque modifican el hábitat; y obstaculizan canales de riego y bombeo de agua (García *et al.*, 2010).

### ***Lemna minuta***

Dentro de la familia Areceae, en el Perú se encuentran cuatro especies del género *Lemna* (*L. aequinoctialis* Welw.; *L. gibba* L.; *L. minuta* Kunth y *L. valdiviana* Phil.) los cuales ocupan las

zonas costeras, andinas y amazónicas como su hábitat natural dentro del territorio nacional (Aponte, 2016). Se debe mencionar que varias especies de las Araceae son utilizadas como alimento de peces, animales de granja y tratamiento de aguas residuales (Kahn *et al.*, 1993).

El adjetivo minuta proviene del latín que significa muy pequeño porque tiene un tamaño de 3mm aproximadamente de largo (Preston y Croft, 1997). La *Lemna minuta* presenta un crecimiento acelerado por lo que puede convertirse en una especie invasora afectando el crecimiento de las demás plantas acuáticas presentes en su medio (Aponte, 2016). En la Tabla 1 se describe la taxonomía de la especie.

**Tabla 1**

*Taxonomía de Lemna minuta*

<b>TAXONOMÍA</b>	
Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Alismatales
Familia	Araceae
Subfamilia	Lemnoideae
Tribu	Lemneae
Género	<i>Lemna</i>
Especie	<i>Lemna minuta</i>

*Nota.* Adaptado de *Lemna minuta-Taxonomía*, por Natusfera, 2020 (<https://spain.inaturalist.org/taxa/59076-Lemna-minuta>)

### ***Potamogeton striatus***

Según Galán-Mera (1991) el *Potamogeton striatus* (Tabla 2) se encuentra distribuido a nivel nacional: en las orillas de las lagunas glaciares de los Andes centrales (*Potamogeton ferrugineus* H.), en las lagunas de valles salinos cuaternarios (*Potamogeton illinoensis* M.), en pequeñas lagunas salinas a lo largo de la costa del Perú (*Potamogeton pusillus* L., las orillas de lagos y

lagunas entre 3500 - 4000 m s.n.m. (*Potamogeton filiformis* Pers.), sumergida en aguas ligeramente corrientes en el centro y sur del Perú (*Potamogeton punense* Galán-Mera), y en aguas ligeramente salobres del desierto Pacífico y en el Amazonas (*Potamogeton striatus* Ruiz y Pav).

**Tabla 2**

*Taxonomía de Potamogeton striatus*

<b>Taxonomía</b>	
Reino	Plantae
División	Angiosperma
Clase	Monocotyledoneae
Orden	Helobiae
Familia	Potamogetonaceae
Género	Potamogeton
Especie	<i>Potamogeton striatus</i>

*Nota.* Adaptado de *Inventario de especies vegetales nativas del departamento La Libertad, Perú*, por Aredo, V., Carranza-Cabrera, J. y Siche, R., 2017, *Agroindustrial science* (<https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience>).

## **B. Extractos**

Sustancia obtenida por extracción de la materia prima la cual utiliza alcohol para extraer las sustancias o principio activo de una planta. Esto puede actuar como fungicida, repelente o inhibidor de crecimiento de otras especies dependiendo del tipo de especie a utilizar (Caldas, 2012). Solano (2018) menciona que los extractos se pueden obtener mediante extracción por reflujo, filtración y evaporación de disolvente, extracción por maceración y por rendimiento de los extractos crudos.

## Fenoles

Los fenoles son compuestos orgánicos considerados metabolitos secundarios presentes en aguas naturales resultado de la descomposición de materia orgánica y la exudación de las raíces (Chludil, 2017), muchos de ellos se encuentran presentes en macrófitas (Thurman, 1985) por lo que son los compuestos más comunes para el estudio del efecto alelopático que muestran estas especies sobre las cianobacterias (Solano, 2018) además de otros efectos como su actividad antioxidante, antimicrobiana, anticancerígeno y otras actividades biológicas (Martín, 2018) por lo que las especies *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* presentan un efecto inhibitor de las colonias cianobacterianas que estaría asociada a la producción de algún elemento químico liberado por estas plantas conocidos como aleloquímicos.

A continuación, se detalla la variación de la concentración de los fenoles en las plantas y cuál es el proceso de acción de estos:

- Concentración de fenoles en especies vegetativas: La concentración de fenoles presente en las plantas varían dado que es influenciado por el estrés biótico y abiótico al que están expuestas (Nieto *et al.*, 2018). Uno de estos factores es la radiación UV o la luz porque favorece la generación y acumulación de fenoles en diferentes especies (Beker *et al.*, 2020; Petinatti *et al.*, 2012; Berli *et al.*, 2011) dado que la ubicación de las macrófitas a diferentes niveles de la columna de agua determina la accesibilidad a la radiación luminosa y, por ende, está relacionado con la actividad fotosintética y otros ciclos biológicos de la especie (García *et al.*, 2010; Piñol *et al.*, 2013).

Se debe tener en cuenta que, para efectos de investigación, la concentración de fenoles en los extractos también está influenciada por condiciones que se dan en el momento de obtener los extractos naturales, por ejemplo: el tamaño de la partícula procesada, la pureza del solvente, la temperatura y el tiempo que toma el proceso, etc. (Caldas, 2012; Naranjo, 2016; Amaguaña y Churuchumbi, 2018).

- Proceso de acción de los fenoles en las cianobacterias: Esta sustancia puede generar una disminución de la actividad fosfatasa (APA), una exo-enzima asociada a la capacidad del fitoplancton a responder a periodos de escasez de fósforo inorgánico, y la actividad del fotosistema II (PSII) de la cianobacteria limitando su disposición a nutrientes y su capacidad crecimiento (Eigemann, 2013). Los fenoles generan daño en la membrana celular porque tiene la capacidad de penetrar la membrana celular debido a sus características lipofílica pudiendo actuar como inhibidor enzimático al unirse al oxidarse y unirse a otros metabolitos mediante enlaces de hidrogeno (Eigemann *et al.*, 2013).

### **1.2.3. Cianobacterias**

Las cianobacterias, también conocidos como algas verdes-azules, son considerados como uno de los seres vivos más longevos del mundo que tienen en su estructura clorofila permitiéndoles realizar la fotosíntesis. Ellas tienen características fisiológicas similares con bacterias y algas eucariotas, las cuales les permite adaptarse con facilidad en condiciones extremas (Bonilla, 2009) como en aguas termales con temperaturas mayores a 60 °C (Ward *et al.*, 1994).

La mayoría de las cianobacterias se desarrollan en ecosistemas acuáticos, pero algunas también se encuentran ecosistemas semi-acuáticos o terrestres.

A continuación, se presentan algunas características generales que tienen las cianobacterias:

- Nutrición de cianobacterias: son muy simples, no requieren de vitaminas y utilizan nitrato o amoniaco como fuente de nitrógeno. La mayoría de las especies son fototrópicas obligadas. Algunas cianobacterias filamentosas pueden crecer en la oscuridad con glucosa y utilizan material orgánico como fuente de energía. Existen diversos productos metabólicos de las cianobacterias que producen potentes neurotoxinas que pueden llegar a matar animales que beban agua contaminada (Madigan *et al.*, 2003).

- Factores ambientales que influyen en las floraciones de cianobacterias: El desarrollo masivo de las cianobacterias, que tiene relación con el incremento de cianotoxinas, se ve influenciada por a la interacción de determinados factores como la eutrofización, que es un proceso de enriquecimiento de nutrientes, especialmente nitrógeno y fósforo; disponibilidad de luz, relacionado a la ubicación de las cianobacterias dentro de la columna del agua; y calentamiento global, debido a la variación de la temperatura (Solano, 2018).
- Cianotoxinas: Ellas generan diferentes tipos de toxinas como es la Hepatotoxinas (microcistina, nodularinas y cilindrospermopsinas), Neurotoxinas y la Dermatotoxinas (Solano, 2018).
- Métodos para el manejo de floraciones de cianobacterias tóxicas: Solano (2018) presenta los siguientes métodos para el control de floraciones: métodos físicos (utiliza la remoción y reducción de entrada de nutrientes, radiación ultrasónica), métodos químicos (cloración, antibióticos, herbicidas) y métodos biológicos (consumidores primarios, bacterias, cianofagos, macrófitas acuáticos y terrestres: alelopatía y aleloquímicos, alelopatía de los macrófitos sobre las cianobacterias).

### ***Microcystis aeruginosa* K.**

En el año 1846 el científico Kützing descubrió a esta cianobacteria, que tiene la capacidad de producir una sustancia conocida como microcistina la cual es una toxina natural, que pueden originar problemas ambientales. Las toxinas que se encuentran al interior de las células de la *Microcystis aeruginosa* se liberan al ecosistema acuático cuando estas mueren y se descomponen. Estas toxinas, al ser imperceptibles para las víctimas, son ingeridas ocasionando problemas de la salud. En lugares cercanos a la orilla y a la superficie, la concentración de las toxinas es más alta por lo que la probabilidad de entrar en contacto con animales y humanos es mayor (Martínez, 2006; Ding y Han, 1998). En la Tabla 3 se describe la taxonomía de la especie.

**Tabla 3***Taxonomía de Microcystis aeruginosa*

Característica	Descripción
Imperio	Prokaryota
Reino	Eubacteria
Subreino	Negibacteria
Filo	Cyanobacteria
Clase	Cyanophyceae
Subclase	Oscillatoriophyceae
Orden	Chroococcales
Familia	Microcystaceae
Género	<i>Microcystis</i>
Especie	<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kützing) Kützing

*Nota.* Tomado de *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing 1846 por Guiry, M.D., 2020, AlgaeBase. World-wide electronic publication (<https://www.algaebase.org>).

**1.2.4. Humedales**

Los humedales son un ecosistema semiacuático donde el agua es el componente principal para el desarrollo de la vida que se forman en lugares donde la capa freática inunda el suelo. La Secretaría de la Convención de Ramsar (2006) precisa que los humedales son extensiones cubiertas de agua natural o artificial que se pueden presentar de forma permanente o temporal, muchas de ellas se encuentran estancadas mientras que otras son fluidas. Según el origen del agua que las forman, los humedales podrían contener aguas saladas o dulces. Se debe tener en cuenta que en la Secretaría de la Convención de Ramsar (2006) también se considera como humedal a todas las extensiones de agua marina que están a una profundidad menor a seis metros en marea baja.

Se ha identificado a cinco sistemas de humedales de origen natural en la cual tenemos: el Marino, son los costeros la cual incluye arrecifes de coral y costas con dominancia rocosa; el Estuarino, incluye a las marismas de marea, pantanos de manglares y deltas; el Lacustre, asociado a la presencia de los lagos; el Ribereño, asociado a arroyos y ríos; y el Palustre, que incluye a los pantanos y a las ciénagas. También existen humedales artificiales los cuales fueron construidos por el ser humano (Secretaría de la Convención de Ramsar, 2006).

## CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Diseño de la investigación

Esta investigación presentó un diseño experimental debido a que se manipuló las concentraciones de fenoles de los extractos obtenidos de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* en los diferentes tratamientos y poder determinar si ejerce alguna influencia en las poblaciones algales de *M. aeruginosa*. Además, presentó un enfoque de tipo cuantitativo y alcance explicativo que permitió analizar nuestros datos (Hernández *et al.*, 2010).

### 2.2. Lugar y fecha

Esta investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Católica Sedes Sapientiae en la sede ubicada en el distrito de Los Olivos, Lima; iniciando el 16 de marzo del año 2021. Las muestras fueron colectadas del Humedal Albufera de Medio Mundo (Figura 1) que se encuentra ubicado en el distrito de Vegueta provincia de Huaura región de Lima, ubicadas entre las coordenadas geográficas UTM; punto 1: 206206,03 E; 8794047,87 S; y punto 2: 207587,88 E; 8792231,94 S (Figura 2). Se escogió dichos puntos de muestreo considerando su accesibilidad y la presencia de las muestras biológicas a colectar.

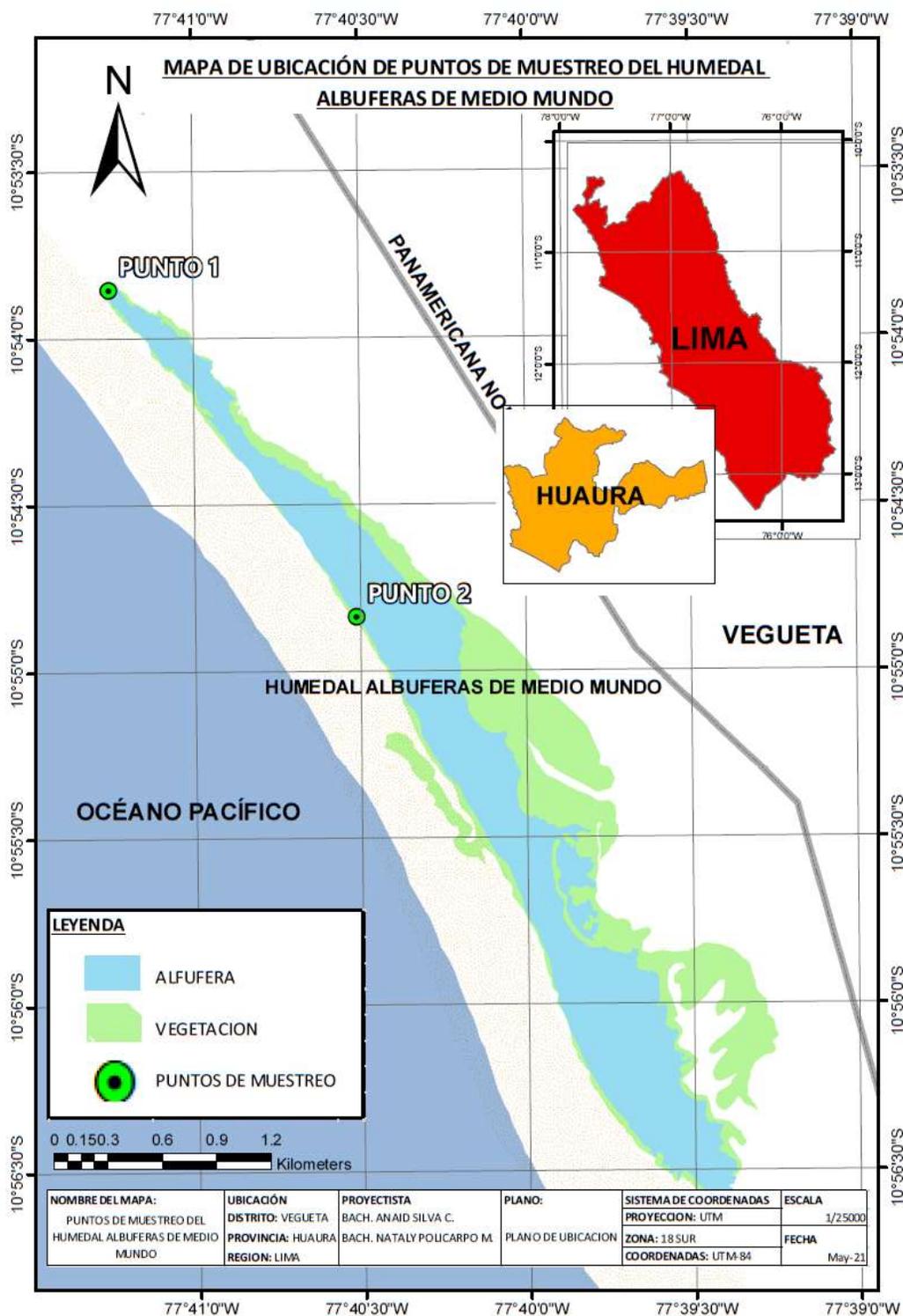
#### Figura 1

*Humedal Albufera Medio Mundo, zona de colecta de muestras*



**Figura 2**

*Mapa de ubicación*



## **Caracterización de área de estudio**

### Humedales Albufera Medio Mundo

El Humedal Albufera Medio Mundo, es un ecosistema de reciente formación, forma parte del circuito turístico-recreacional local, regional y del Corredor Biológico del Pacífico. Se encuentra ubicado en el distrito de Vegueta, presenta una extensión de 687,71 ha y por sus características es considerado un humedal marino-continental debido a que su sostenibilidad se debe a la cuenca del Río Huaura y del Océano Pacífico. Tiene una biodiversidad representativa de la costa central de Lima, brindando servicios ambientales, culturales, educativos, económicos y sociales (Gobierno regional de Lima [GORE], 2009).

- Flora: se caracteriza por presentar 26 especies de flores vasculares (entre ellas destacan la totora y el junco), además de 48 especies de algas que componen el fitoplancton en donde se pueden identificar a las algas verdes, algas azules, y otros (Gobierno Regional de Lima [GORE], 2015).
- Fauna: las aves son características de la zona contando con 22 especies de naturaleza migratoria de las 63 especies registradas (GORE Lima, 2015).
- Características climáticas: presenta un clima húmedo por su ubicación en la costa peruana con una temperatura promedio de 20 °C en invierno y 22 °C en verano. Presenta vientos fuertes asociados a la corriente de Humboldt que pueden llevar a superar los 50 km/h además, la precipitación pluvial es 10 mm al año siendo casi nula (GORE Lima, 2009).

### **2.3. Materiales y equipos**

A continuación, se enlistará los diferentes materiales y equipos utilizados en este trabajo de investigación: “Efecto de los extractos de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta*, sobre el crecimiento de poblaciones algales de *Microcystis aeruginosa* obtenidas del Humedal Albuferas de Medio Mundo”.

## **Material Biológico**

Se utilizaron poblaciones de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* además de muestras de los macrófitos *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* en ambos casos obtenidos de una muestra ambiental del Humedal Albuferas de Medio Mundo.

## **Insumos y reactivos**

Los insumos y reactivos utilizados en la investigación fueron variados en los diferentes procesos:

- Preparación de media de cultivo BG 11: Agua destilada, ácido cítrico, citrato de amonio férrico, carbonato de sodio, nitrato de cobalto, nitrato de sodio, sulfato de zinc, cloruro de magnesio, ácido bórico y sulfato de cobre.
- Determinación de fenoles (curva de calibración): Ácido Gálico, Folin Ciocalteu
- Obtención de extractos: Metanol al 90.
- Cuantificación de nitrógeno y fósforo en tratamientos: Kit para nitrógeno y Kit para fósforo.

## **Materiales y equipos de laboratorio**

Los materiales de laboratorio fueron variados; desde matraces, picetas, vasos de precipitado, picetas graduadas, agitador, frascos ámbar, contenedores de vidrio de boca ancha, balón de fondo plano, equipo Soxhlet, etc.

En cuanto a los equipos, se utilizaron Autoclave, Microscopio electrónico, agitador vórtex, Equipo de centrifugación, Horno eléctrico, Equipo de Baño María, Espectrofotómetro, Fotómetro Photo-Flex WTW, Equipo Multiparámetros, Balanza analítica, entre otros.

## 2.4. Descripción del experimento

### Preparación del medio de cultivo BG-11

Para cultivar y obtener las poblaciones unialgales de *Microcystis aeruginosa* se preparó 2 L del medio de cultivo BG-11, para la cual se mezclaron las sustancias químicas descritas en la Tabla 4 y 5, en las proporciones que se señalan. Se debe mencionar que las cantidades especificadas en las Tablas 4 y 5 están establecidas para preparar 1 L de medio de cultivo. Luego de realizar la mezcla (Figura 3), se esterilizó el medio de cultivo en autoclave y se mantuvo refrigerada a 4°C hasta su uso.

**Tabla 4**

*Composición del medio de cultivo BG-11 para cultivo de cianobacterias*

COMPUESTO	NOMENCLATURA	CONCENTRACIÓN (mg/L)
Nitrato de sodio	NaNO <sub>3</sub>	1500
Fosfato de hidrogeno di-potásico tri-hidratado	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 3H <sub>2</sub> O	40
Sulfato de magnesio hepta-hidratado	MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	75
Cloruro de Calcio di-hidratado	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	36
Ácido cítrico	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	6
Citrato férrico-amoniaco	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> FeNO <sub>7</sub>	6
Ácido Etilendiaminotetraacetico disódico	Na <sub>2</sub> -EDTA	1
Carbonato de sodio monohidratado	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (H <sub>2</sub> O)	20
Solución de micronutrientes		1

*Nota.* Adaptado de *Composition of standard mineral media* por Rippka *et al.*, 1979, Journal of General Microbiology (DOI: 10.1099/00221287-111-1-1)

**Tabla 5**

*Solución de Micronutrientes para el cultivo de medio BG-11*

COMPUESTO	NOMENCLATURA	CONCENTRACIÓN (g/L)
Ácido bórico	$H_3BO_3$	2,86
Cloruro de manganeso tetra-hidratado	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1,81
Sulfato de zinc hepta-hidratado	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,22
Molibdato de sodio di-hidratado	$NaMoO_4 \cdot 2H_2O$	0,39
Sulfato de cobre penta-hidratado	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,08
Nitrato de cobalto hexa-hidratado	$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	0,049

*Nota.* Adaptado de *Composition of standard mineral media* por Rippka *et al.*, 1979, Journal of General Microbiology (DOI: 10.1099/00221287-111-1-1)

**Figura 3**

*Preparación de medio de cultivo BG-11*



*Nota.* 1. Pesado de los insumos para preparación de medio de cultivo. 2. Preparación de las disoluciones.

## Colecta de organismos biológicos

- Poblaciones de *Microcystis aeruginosa*

Luego de identificar una zona sin sombra, con poca exposición a las corrientes de aires o con mayor concentración visual de la cianobacterias (Universidad Nacional Mayor de San Marcos [UNMSM], 2014) como los puntos para realizar la toma de muestra de *Microcystis aeruginosa*, se utilizó un tamiz de 0,2  $\mu\text{m}$  y un recipiente para recolectar las muestras obtenidas. El proceso consistió en tomar una muestra de agua de  $\frac{1}{2}$  L con el recipiente y verterlo en el tamiz para luego hacer movimientos circulares hasta que el líquido se retenga y presente un color verdoso (Figura 4). El líquido que se obtuvo se colectó en contenedores esterilizados. El proceso se repitió por cada punto de muestreo hasta llenar el recipiente (UNMSM, 2014).

### Figura 4

*Colecta de Microcystis aeruginosa*



- Poblaciones de *Potamogeton striatus*

Para realizar la colecta del *Potamogeton striatus* se identificaron los puntos de muestreos *in situ* tomando en cuenta la distribución y la accesibilidad al punto de muestreo. Una vez identificado la zona, se procedió con la colecta de la especie nadando hasta el lugar de toma de muestra. Las muestras obtenidas presentaron raíces, hojas, tallo y algunas flores para facilitar la identificación a la especie que pertenece (Sánchez y Gonzales, 2007).

- Poblaciones de *Lemna minuta*

El procedimiento descrito en la colecta de *Potamogeton striatus* también se aplicó para la obtención de poblaciones de *Lemna minuta*, teniendo en cuenta que se debe de obtener la mayor parte de su morfología para facilitar la identificación a la especie que pertenece (Sánchez y Gonzales, 2007).

### **Identificación de especies**

La muestra *Potamogeton striatus* obtenida del Humedal Albufera de Medio Mundo fue llevado al Laboratorio de Historia Natural de la Universidad de San Marcos para la identificación de la especie en donde fue clasificada como *Potamogeton striatus* Ruiz & Pav. según el sistema de Clasificación de APG IV (2016) como deja en evidencia la Constancia N°-004-2022-USM-HN (ver Apéndice L). La muestra vegetal contaba con toda la estructura vegetativa (raíces, tallo, hojas y flores) por lo que se trataba de una muestra de una especie acuática fértil.

Las muestras obtenidas para *Lemna minuta* fueron caracterizadas siguiendo la descripción de la especie realizada según Landolt y Schmidt (2009) y Kahn *et al.* (1993) dado que la especie es ampliamente estudiada y distribuida debidos a que se la encuentra en la región altoandina en canales y drenajes de agua lenta (Kahn *et al.*, 1993); y, también a lo largo de la costa peruana en lugares como humedales y Lomas (Aponte, 2016).

Además, se verificó que la especie era una de las dos especies de *Lemna* (*Lemna minuta* y *Lemna gibba*) identificadas en el humedal según se publicó en el Plan Maestro de Medio Mundo 2009-2013. La *Lemna minuta* se caracteriza por tener un solo nervio poco visible en su hoja cuyo envés foliar es plano, distinta a lo que presenta la *Lemna gibba* donde el envés es abultado (Kahn *et al*, 1993).

## Crecimiento poblacional de *Microcystis aeruginosa*

Para obtener el monocultivo de *Microcystis aeruginosa*, se realizó tres aislamientos sucesivos de 10 mL agua de la muestra ambiental en el medio de cultivo BG-11, manteniéndolo a una temperatura ambiente con 1100 luxes de intensidad constante y agitación manual dos veces al día. Posteriormente se analizó las colonias obtenidas en los matraces de Erlenmeyer utilizando 10  $\mu$ L de cultivo que se colocó en el portaobjeto e identificó en el microscopio (Figura 5). Una vez obtenida las colonias de *Microcystis aeruginosa* se procedió a incrementar la biomasa en dos frascos de vidrio con capacidad de 1 L cada uno, que contenían medio de cultivo de BG-11 líquido durante 29 días.

### Figura 5

*Crecimiento de cianobacterias y cuantificación de colonias*



Nota. 1. Crecimiento de *Microcystis aeruginosa*. 2. Cuantificación de colonias.

Los datos obtenidos en los análisis de laboratorio se utilizaron para establecer la curva y la cinética de crecimiento de las cianobacterias, así como la tasa de crecimiento, tiempo de duplicidad y capacidad de carga del cultivo (Sánchez, 2014; Martínez, 2018), para ello se utilizaron las siguientes fórmulas:

*Tasa de crecimiento continuo:*

$$\ln Nt = a + bt \quad \text{Que equivale a: } Nt = Noe^{\mu t}$$

Donde:

Nt: Población final

No: Población inicial

e: Constante de neperiano

$\mu$ : Tasa de crecimiento exponencial

t: Tiempo

*Tiempo de duplicidad (T)*

$$T = \frac{\ln(2)}{r}$$

Siendo “r” tasa de crecimiento exponencial

*Capacidad de Carga (K)*

$$Nt = \frac{K}{1 - \left(1 - \left(\frac{K}{No}\right) e^{-\mu t}\right)}$$

Donde:

Nt: Población en tiempo t

$\mu$ : Tasa de crecimiento

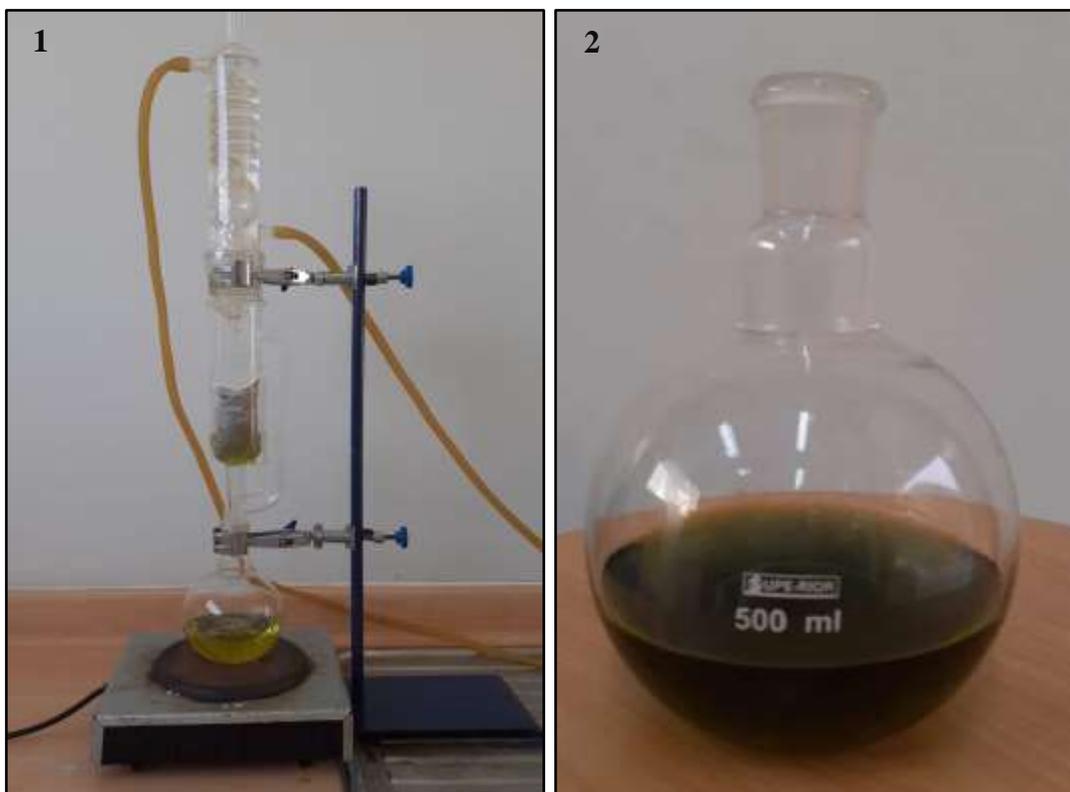
K: Capacidad de carga del cultivo

## Obtención de extractos metanólicos

Para la obtención de los extractos se secaron las muestras de los macrófitos en horno eléctrico en pequeñas cantidades por un tiempo de 45 min a 250 °C, se pulverizó y prepararon los cartuchos para la filtración. El extracto se obtuvo mediante la destilación de metanol a 45 °C aproximadamente en el equipo Soxhlet hasta obtener un extracto que fue almacenado en recipientes ámbar hasta su posterior uso (Figura 6) (Núñez, 2008; Solano, 2018). Este procedimiento fue repetido para cada macrófita extraídos del humedal. Estos extractos fueron aplicados sobre poblaciones *Microcystis aeruginosa* en diferentes concentraciones que se detallan en los tratamientos.

### Figura 6

*Obtención de extractos*



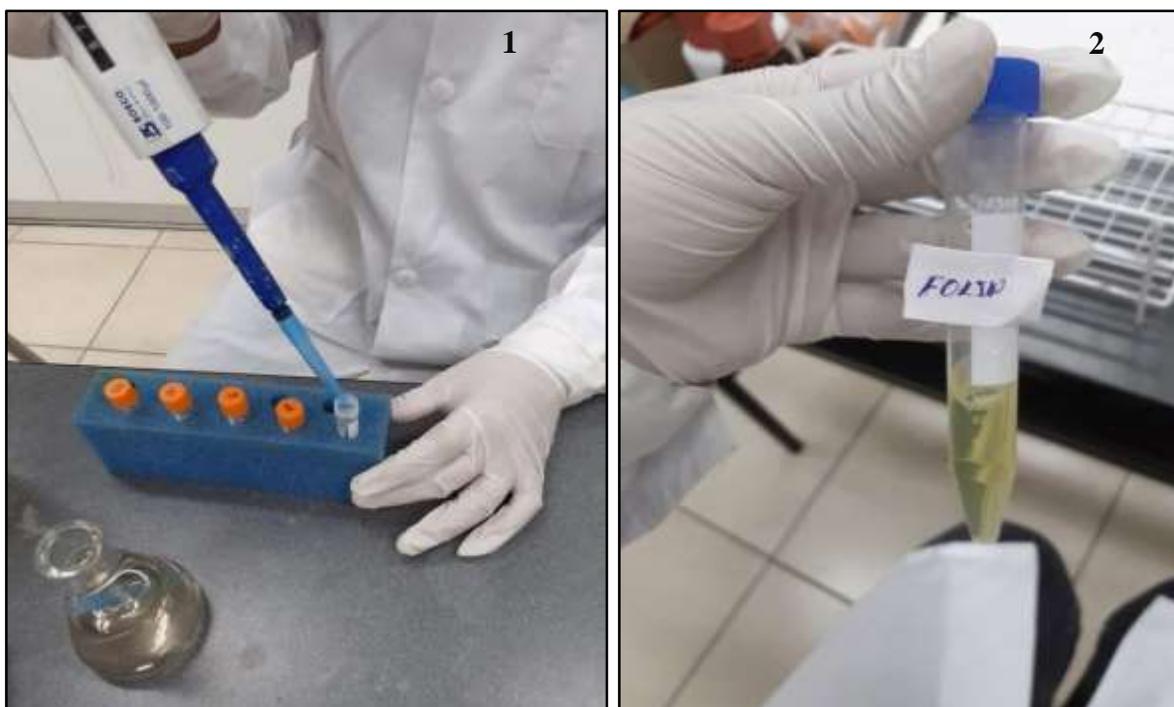
*Nota.* 1. Proceso de obtención de extracto. 2. Extracto obtenido *Potamogeton striatus*

## Determinación de concentración de fenoles de los extractos de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta*

Se realizó la determinación de Fenoles Totales presentes en los extractos de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* mediante la metodología descrita por Waterhouse (2002), en donde el Folin Ciocalteau actúa como reactivo. Esta metodología utiliza el ácido gálico de 0,1 g/L,  $\text{CO}_2\text{Na}_2$  al 20 % y Folin Ciocalteau 1 N para realizar la curva de calibración en el Espectrofotométrico Photoflex WTW® (Figura 7). Posteriormente se determinó la cantidad de fenoles totales presentes en nuestras muestras de extractos.

### Figura 7

#### Determinación de fenoles



Nota. 1. Preparación de disoluciones de  $\text{CO}_2\text{Na}_2$  para curva de calibración. 2. Reactivo Folin Ciocalteau 1 N

## Determinación de la acción de los fenoles mediante la concentración de la clorofila

Para determinar la acción de los fenoles, obtenidos de los extractos de las macrófitas, frente a las poblaciones de cianobacterias, se realizó la evaluación de la clorofila utilizando el Método

de Extracción con Metanol 90 % realizado por Azov (1982) (Figura 8). Para calcular la concentración se utilizó la siguiente ecuación (Azov, 1982):

$$\text{Clorofila } \alpha \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = 13,9 (A_{665 \text{ nm}} - A_{750 \text{ nm}}) U/V$$

Donde:

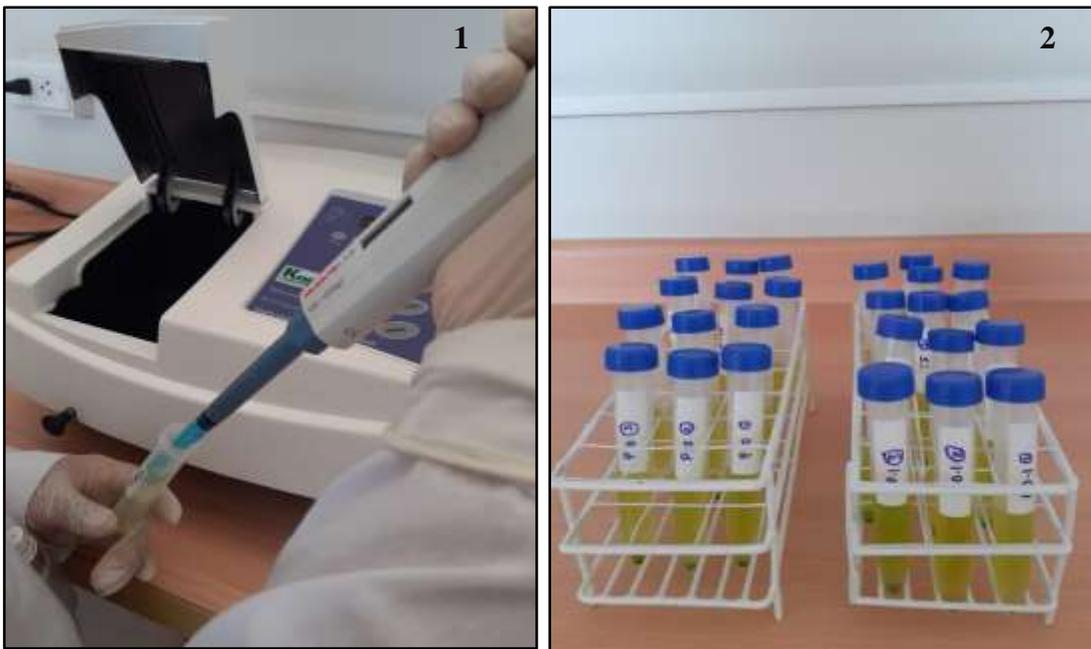
A: Absorbancia

U: Volumen de metanol

V: Volumen de la muestra

### Figura 8

*Determinación de la concentración de clorofila y muestras procesadas*



*Nota.* 1. Preparación de muestra blanco (metanol 90 %) en Espectrofotómetro Photoflex WTW® para toma de datos. 2. Muestras de tratamientos preparados para cuantificación de clorofila.

### **Determinación de porcentaje de inhibición a partir de la concentración de clorofila**

Para la determinación del porcentaje de inhibición de crecimiento de las colonias de *Microcystis aeruginosa* se cuantificó la cantidad de colonias presentes en el control y los tratamientos en cada evaluación a partir de la variación de la concentración de la clorofila en cada uno de ellos. Para calcular el porcentaje de inhibición se realizó siguiendo la metodología utilizada por Huang *et al.* (2020):

$$\text{Porcentaje de inhibición} = 100 * \frac{(\text{X control} - \text{X tratamiento})}{\text{X control}}$$

En donde:

X control: número de colonias presentes en el control

X tratamiento: número de colonias presentes en el tratamiento

### **Determinación de los parámetros fisicoquímicos: pH, conductividad, nitrógeno total, fósforo total y temperatura en los tratamientos y control**

- Determinación de Potencial de Hidrógeno (pH)

Para determinar el Potencial de Hidrógeno (pH) se utilizó un equipo conocido como Multiparámetro mediante el cual se determinó si la muestra es ácida o alcalina (Instituto De Investigaciones Marinas y Costeras [INVEMAR], 2003) (Figura 9).

## Figura 9

*Cuantificación de parámetro fisicoquímico (pH) con equipo Multiparámetro*



- Determinación de conductividad

Para determinar la conductividad se utilizó el equipo Multiparámetro, las unidades de medidas correspondiente a este parámetro fue el de ms/cm. Mediante este método se determinó la capacidad que tiene la muestra para conducir corriente eléctrica (Instituto Nacional de Salud, 2011).

- Determinación de nitrógeno total

Para determinar el nitrógeno total se siguió la metodología descrita por (Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH [WTW], 2016) en el programa N° 35 en donde se utilizó 10 mL de la muestra y se le colocó 1 cucharita de N-1K WTW® y 6 gotas de N-2K WTW® para calentarlo a 120 °C durante una hora. En la cubeta de reacción se colocó una cuchara de N-3K WTW® y 1,5 mL del medio procesado con anterioridad, luego de homogenizarlo y reposar, con la ayuda del Espectrofotómetro Photoflex WTW®, se determinó la concentración de nitrógeno total.

- Determinación de fósforo total

Para determinar el fósforo total se siguió la metodología descrita por (WTW, 2016) en el programa N° 23 en donde se analizó 5 mL de muestra en una cubeta junto a los reactivos para fósforo total PO1 y PO2 WTW®. Luego de 5 minutos de reposo se procedió a realizar las lecturas en el equipo Espectrofotómetro Photoflex WTW®.

## 2.5. Tratamientos

Los tratamientos que se describen en la Tabla 6 fueron planteados según la metodología desarrollada en la investigación de Solano (2018).

**Tabla 6**

*Tratamientos del experimento*

Tratamiento (T)	Dosis
T0	100 mL de CM
T1	14,08 mg/L de Fenol del EP en 100 mL de CM
T2	7,04 mg/L de Fenol del EP en 100 mL de CM
T3	3,52 mg/L de Fenol del EP en 100 mL de CM
T4	1,76 mg/L de Fenol del EP en 100 mL de CM
T5	4,71 mg/L de Fenol del EL en 100 mL de CM
T6	2,36 mg/L de Fenol del EL en 100 mL de CM
T7	1,18 mg/L de Fenol del EL en 100 mL de CM
T8	0,59 mg/L de Fenol del EL en 100 mL de CM

*Nota. Abreviaturas: EP= Extracto de Potamogeton striatus; EL= Extracto de Lemna minuta; CM= Cultivo de Microcystis aeruginosa a  $8 \times 10^3$  col/mL).*

## 2.6. Unidades experimentales

La unidad experimental en esta investigación estuvo formada por frascos de vidrio de cuello ancho esterilizadas con una capacidad de 300 mL. Cada unidad experimental contenía 100 mL de cultivo de *Microcystis aeruginosa* más la dosis de los extractos de las plantas *Potamogeton*

*striatus* y *Lemna minuta* en diferentes concentraciones. Este trabajo experimental contó con un total de 24 unidades experimentales (3 réplicas por cada tratamiento) y un control (Figura 10).

### Figura 10

*Unidades experimentales: recipientes con tratamientos*



### 2.7. Identificación de las variables y su mensuración

La identificación de la variable y de su mensuración se describe en la Tabla 7.

#### Tabla 7

*Identificación de variables y su mensuración*

Variable	Unidad	Metodología	Instrumento
<b>Variable independiente</b>			
Concentración de fenol en los extractos de <i>Potamogeton striatus</i> y <i>Lemna minuta</i> .	mg/L	Reacción de Folin Ciocalteu	Espectrofotómetro
<b>Variable dependiente</b>			
A. Crecimiento población de <i>Microcystis aeruginosa</i> (Evaluación de clorofila)	mg/L	Método de Extracción con Metanol 90 %	Espectrofotómetro y Microscopio

(Continuación)

**B. Parámetros Físicoquímicos:**

pH	-	Potenciometría	Multiparámetro
Conductividad	mS/cm	Conductimetría	Multiparámetro
Nitrógeno	mg/L	Fotometría	Fotómetro
Fósforo	mg/L	Fotometría	Fotómetro
Temperatura	°C	Método de resistencia	Multiparámetro

---

## 2.8. Diseño estadístico del experimento

Se utilizó el diseño completo al azar (DCA) en esta investigación, con una muestra control y ocho tratamientos que corresponden a 14,08; 7,04; 3,52 y 1,76 mg/L de fenol de los extractos de *Potamogeton striatus* y para los de *Lemna minuta* fueron de 4,71; 2,36; 1,18 y 0,59 mg/L, respectivamente; a los que fueron sometidos las poblaciones de *Microcystis*. El diseño estadístico fue el mismo para evaluar ambos extractos, considerando que se hicieron tres réplicas por cada tratamiento.

## 2.9. Análisis estadísticos de datos

Los datos que se obtuvieron del proceso experimental fueron analizados en programa Microsoft Excel 2016 en donde se realizaron las tablas y gráficos presentados en esta tesis. Así mismo, se procesó la información en el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 28 para el cálculo de la varianza ( $p \leq 0,05$ ) y desviación estándar (DE). Se realizó comparaciones múltiples con Tukey para determinar los tratamientos que presentaron diferencia significativa y, la correlación lineal de Pearson, para determinar la influencia presentó los parámetros con el número de colonias (Martínez, 2018).

## CAPÍTULO III: RESULTADOS

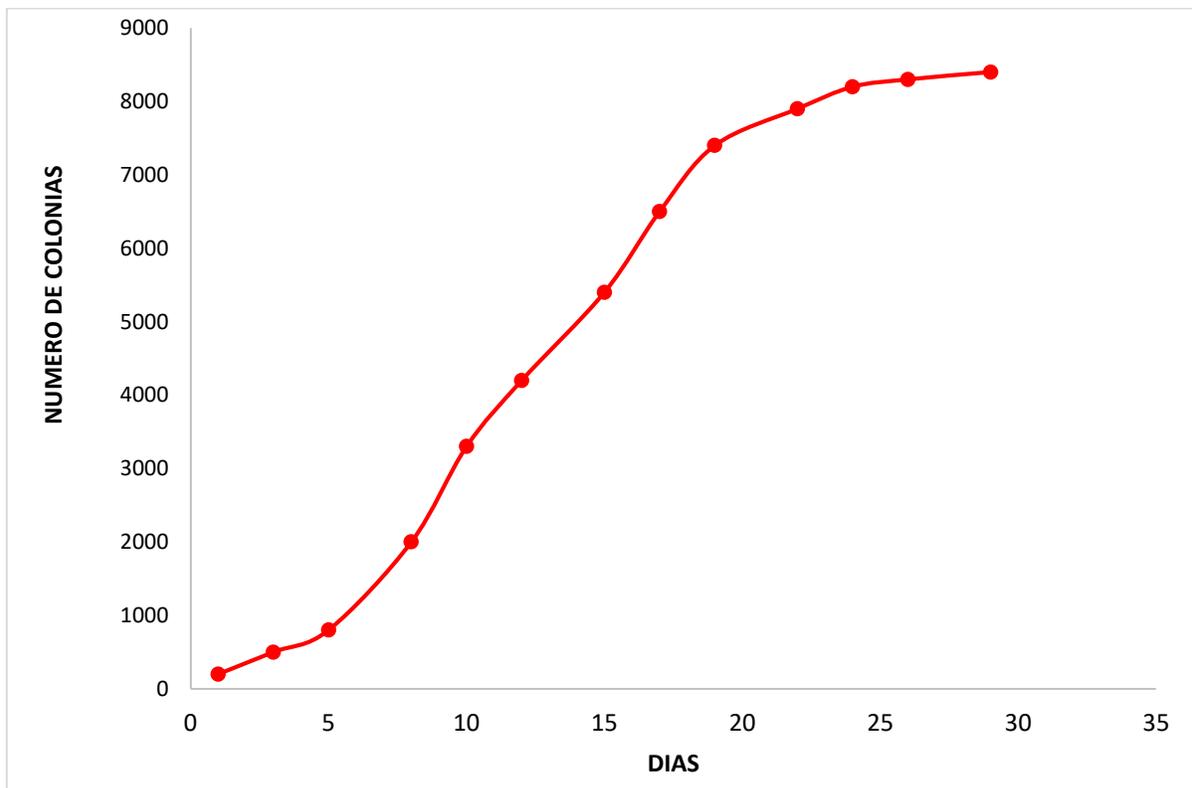
### 3.1. Cinética de crecimiento poblacional de *Microcystis aeruginosa*

Las muestras biológicas de *Microcystis aeruginosa* que se obtuvieron del humedal Albufera Medio Mundo se cultivaron en el medio de cultivo BG-11 durante un periodo de 29 días luego del cual se determinó los parámetros cinéticos de crecimiento de la especie: la tasa de crecimiento ( $r = 0,13 \text{ días}^{-1}$ ), el tiempo de duplicación ( $t_2 = 5,38 \text{ días}$ ) y la capacidad de carga ( $K = 404,79 \text{ colonias/ día}$ ).

Las colonias de *Microcystis aeruginosa* contabilizadas en 1 mL mostraron un crecimiento continuo durante un periodo de 29 días cultivadas en condiciones de laboratorio. Esta cianobacterias presentó una etapa exponencial de crecimiento en un tiempo aproximado de 15 días, entre el día 5 y 20 (Figura 11) de iniciado el cultivo cianobacteriano. Además, presentó un crecimiento exponencial que se relacionó con la siguiente fórmula  $y = 343,98x - 199,99$  ( $R = 0,955$ ) (ver Apéndice 1).

### Figura 11

Curva de crecimiento poblacional de *Microcystis aeruginosa* en medio de cultivo BG11 evaluados en 29 días

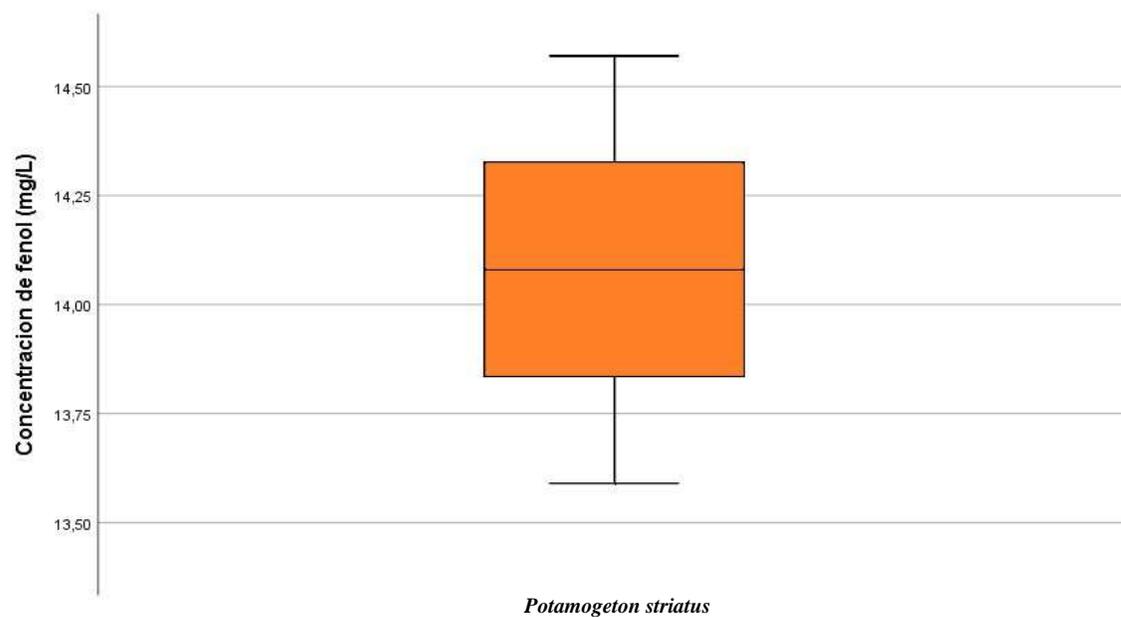


### 3.2. Obtención de extractos y determinación de concentración de fenoles

Las muestras de *Potamogeton striatus* y *Lemna* obtenidas del Humedal Albufera Medio Mundo fueron procesadas para la determinación de la concentración de fenoles totales. El análisis presentó los siguientes resultados: para el extracto de *Potamogeton striatus* una concentración de 14,08 mg/L (Figura 12) y 4,71 mg/L para el extracto de *Lemna minuta* (Figura 13).

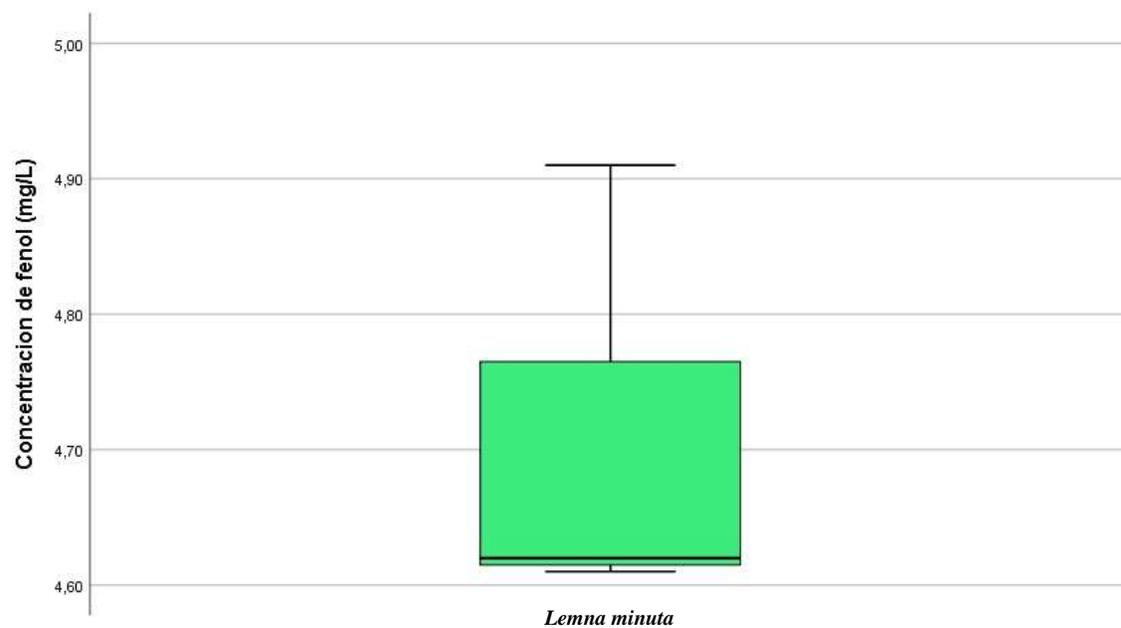
**Figura 12**

*Concentración de fenoles totales en el extracto obtenido de Potamogeton striatus*



**Figura 13**

*Concentración de fenoles totales en el extracto obtenido de Lemna minuta*

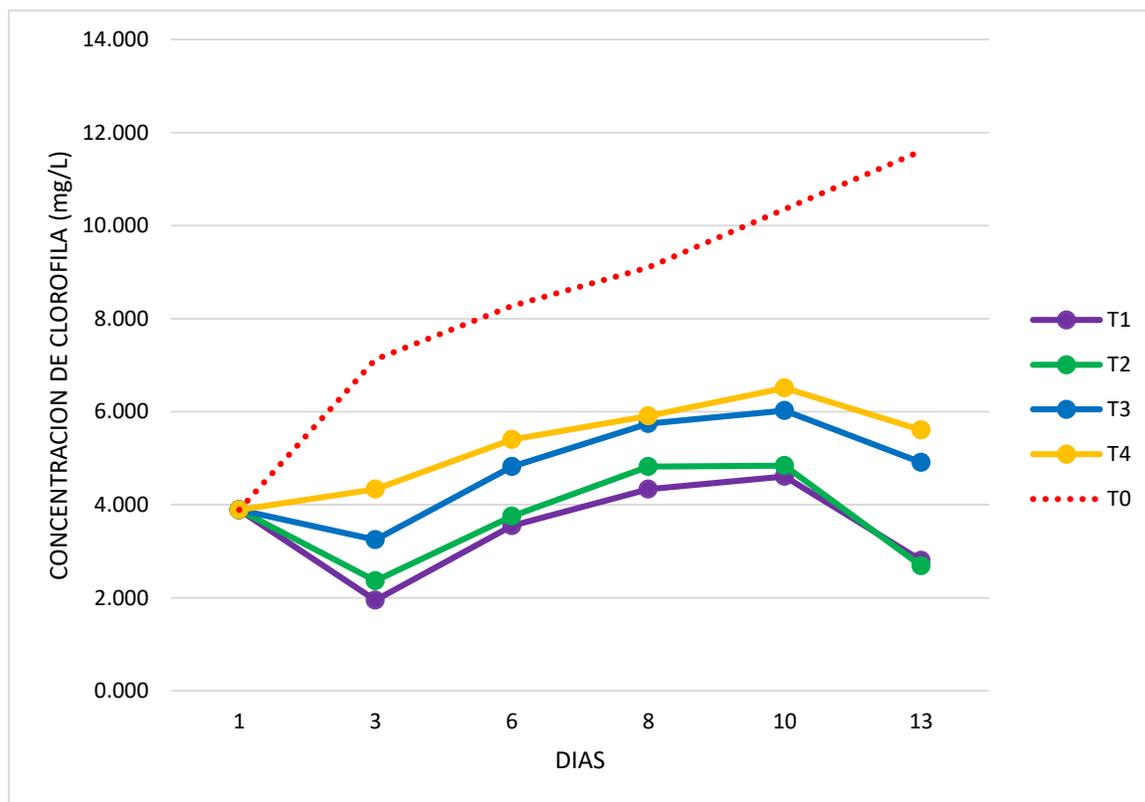


### 3.3. Actividad fenólica del extracto de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* sobre el crecimiento poblacional de *Microcystis aeruginosa*

El efecto inhibitor de los extractos se determinó mediante la cuantificación de la concentración de clorofila debido al efecto que tiene los fenoles sobre ella. Con una población inicial de 8 mil colonias/mL se obtuvo como dato base 3,888 mg/L de clorofila. Luego de realizar los tratamientos, se analizó la clorofila en cada uno de ellos (ver Figura 14 y 15; Apéndice 4.1 y 4.2) y, tomando como base la concentración de clorofila de la población inicial, se determinó el número de colonias presentes para cada tratamiento (ver Apéndice 5) además del porcentaje de inhibición en comparación con el control (ver Apéndice 6).

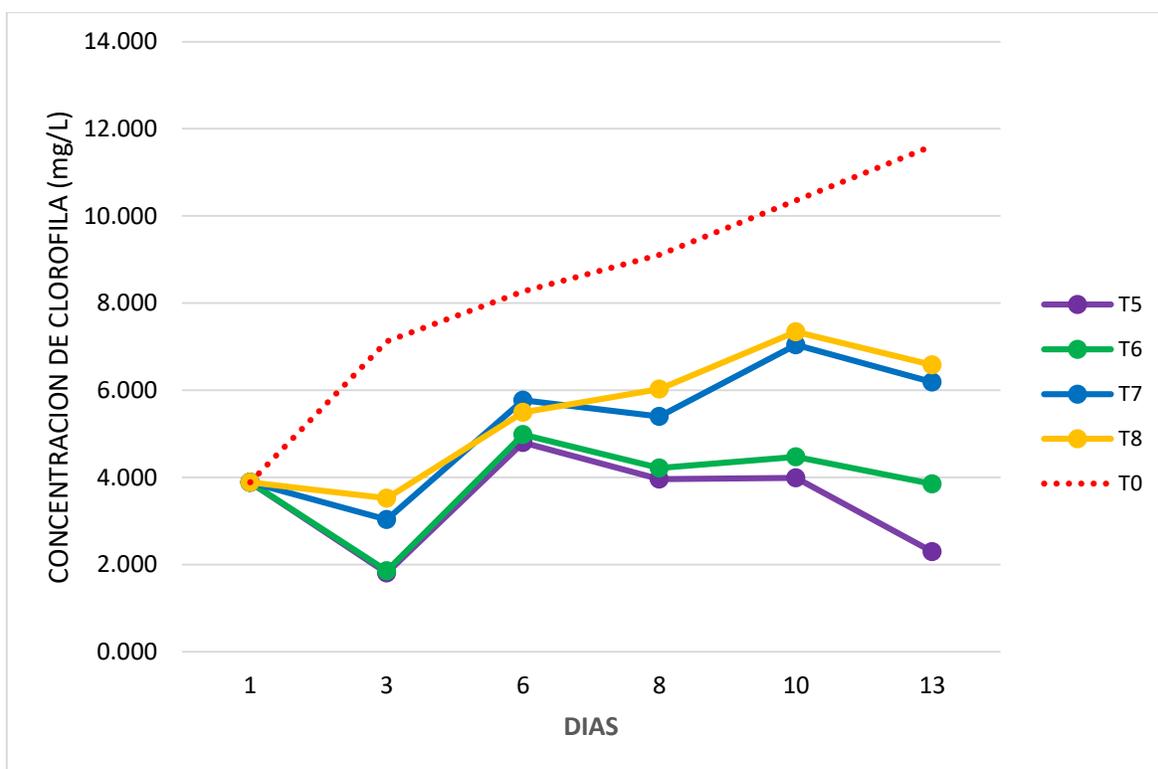
**Figura 14**

*Concentración de clorofila en los tratamientos con extracto de Potamogeton striatus*



**Figura 15**

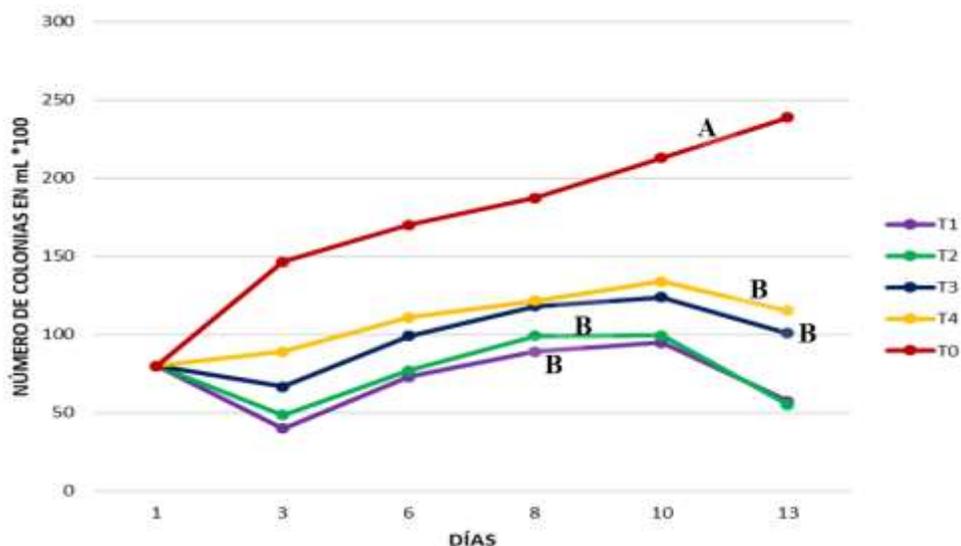
*Concentración de clorofila en los tratamientos con extracto de Lemna minuta*



En la Figura 16 se observó un crecimiento de las colonias de *Microcystis aeruginosa* en el control y en los diferentes tratamientos que se realizaron para el extracto de *Potamogeton striatus*, visualizándose un descenso del número total de colonias de los tratamientos respecto al control.

**Figura 16**

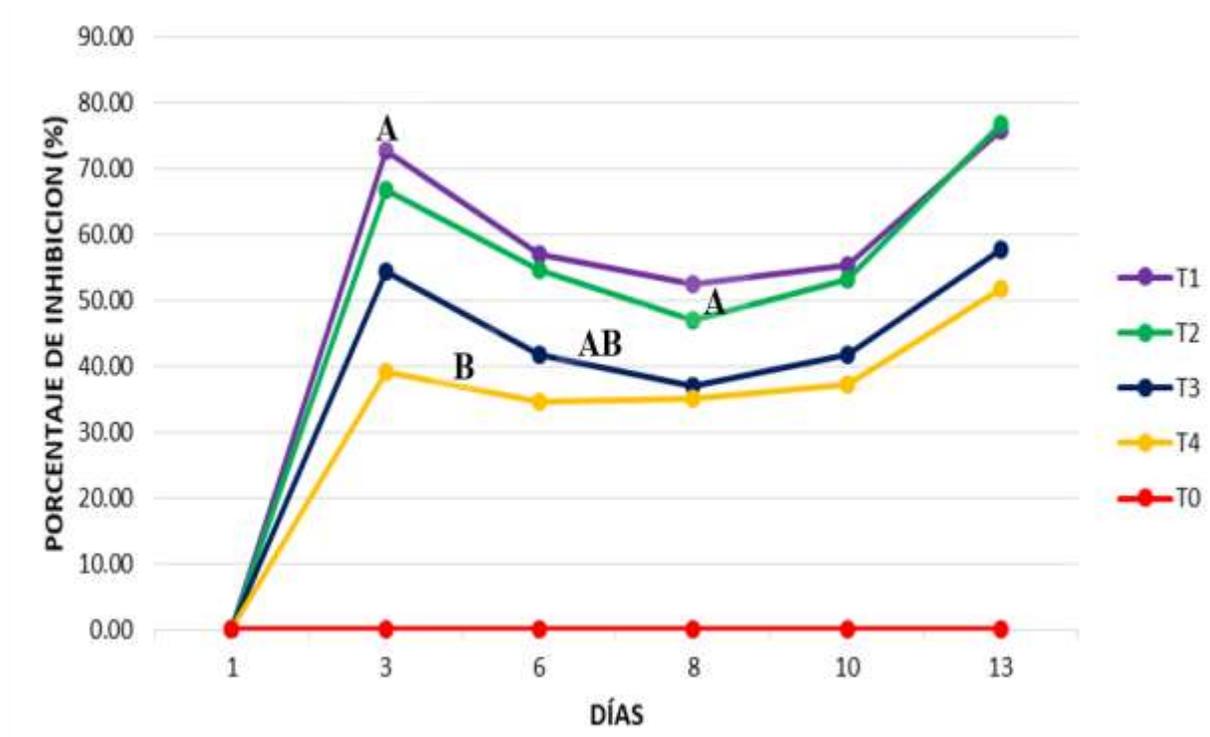
*Crecimiento de colonias de Microcystis aeruginosa (colonias/ mL x 100) para tratamientos con Potamogeton striatus y control*



En el porcentaje de inhibición de colonias de los diferentes tratamientos de *Potamogeton striatus* se obtuvo lo siguiente: el T1 (14,08 mg/L) presentó un porcentaje de inhibición mínima de 52,42 y máxima de 75,85 % para los días N° 8 y 13 de iniciados los tratamientos respectivamente. También se obtuvo los datos mínimos y máximos de los porcentajes de inhibición de los diferentes tratamientos: para T2 (7,04 mg/L), 47,07 y 76,85 % para los días N°8 y 13; en T3 (3,52 mg/L), 36,90 y 57,68 % en los días N°8 y 13; finalmente, en T4 (1,76 mg/L) se presentó un porcentaje de inhibición mínima y máxima de 34,73 y 51,70 % para los días N° 6 y 13 respectivamente (Figura 17).

**Figura 17**

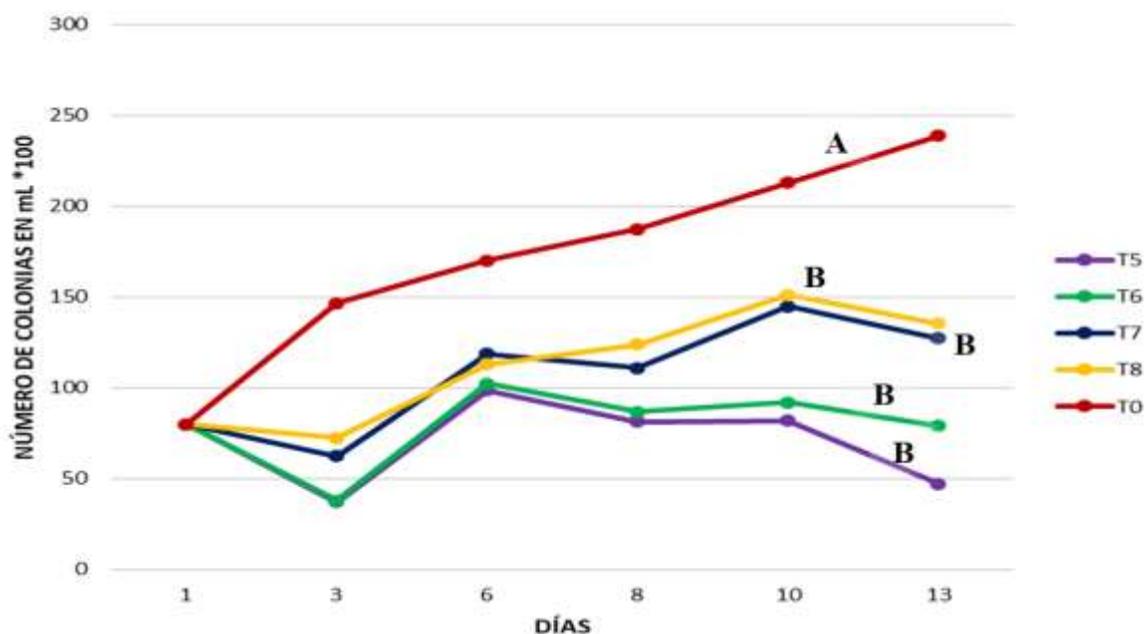
Actividad fenólica del extracto *Potamogeton striatus* de los diferentes tratamientos aplicados frente al control



En la Figura 18 se muestra el crecimiento de las colonias de *Microcystis aeruginosa* en el control y en los diferentes tratamientos de *Lemna minuta*, en la que se observa un descenso notorio del número total de colonias de los tratamientos con respecto al control.

**Figura 18**

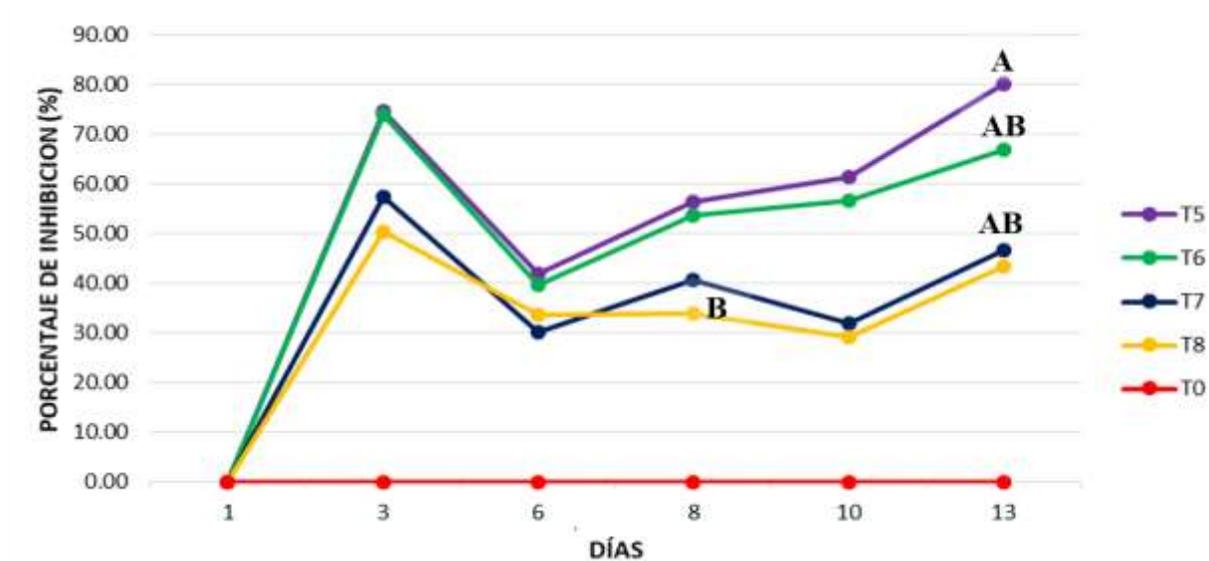
*Crecimiento de colonias de Microcystis aeruginosa (colonias/ mL x100) para tratamientos con extracto de Lemna minuta y el control*



Esto se puede constatar en la determinación del porcentaje de inhibición de colonias de los diferentes tratamientos en donde se observó lo siguiente: T5 (4,71 mg/L) presentó un porcentaje de inhibición mínima de 42,02 y máxima de 80,24 % para los días N° 6 y 13 de iniciados los tratamientos respectivamente. De igual manera se obtuvo un porcentaje de inhibición mínima y máxima los días N°6 y 3 con valores de 39,78 y 73,98 % para el T6 (2,36 mg/L); de 30,25 y 57,40 % en los días N° 6 y 3 para T7 (1,18 mg/L) y finalmente, en T8 (0,59 mg/L) se presentó un porcentaje de inhibición de 29,08 y 50,57 % para los días N° 10 y 3 respectivamente (Figura 19).

**Figura 19**

*Actividad fenólica del extracto Lemna minuta de los diferentes tratamientos aplicados frente al control*



El análisis de varianza realizado para la concentración de clorofila mostró un  $p < 0,00$  para los tratamientos con *Potamogeton striatus* (ver Apéndice 7.1), al igual que para *Lemna minuta* (ver Apéndice 7.2); ello indicó que existe una diferencia significativa entre los tratamientos. En la prueba realizada con Tukey se observó que los tratamientos fueron significativamente diferentes del control, esta situación se presentó en ambos casos.

El porcentaje de inhibición de *Potamogeton striatus* mostró una varianza  $p = 0,006$ ; demostrando que hay una diferencia significativa entre los tratamientos. En la prueba realizada con Tukey se observó que existe una diferencia significativa entre el tratamiento T4 con respecto a T1 y T2, mientras que el T3 no fue significativamente diferente a los demás tratamientos. Las medias que presentaron valores más altos son los T1 (62,71 %) y T2 (59,72 %) (ver Apéndice 8.1).

En los tratamientos de *Lemna minuta* la varianza obtenida ( $p = 0,012$ ) demuestra que existía una diferencia significativa entre uno o más de los tratamientos. En la prueba de Tukey se identificó que T5 presentó una diferencia significativa con respecto a T8; mientras que el T6 y T7 no es significativamente diferentes a los demás tratamientos. La media que presentó valores más altos es T5 (62,98 %) (ver Apéndice 8.2).

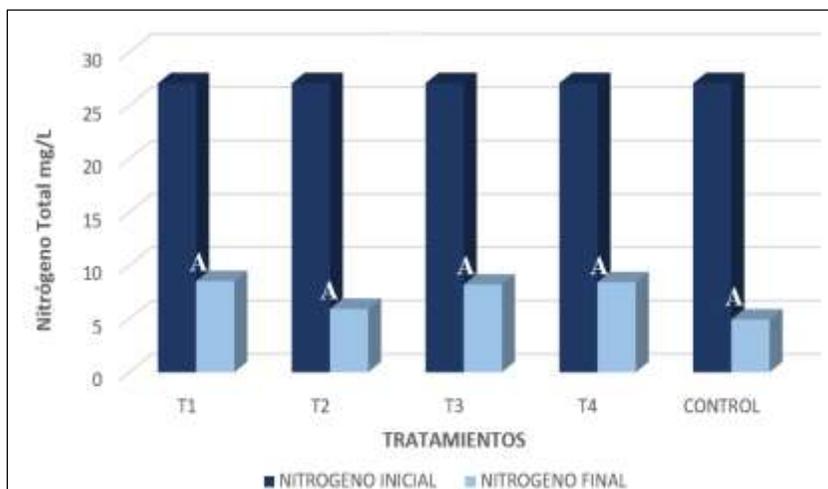
#### **3.4. Determinación de la correlación entre los extractos de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* sobre los parámetros fisicoquímicos de los tratamientos (pH, fósforo total, nitrógeno total, conductividad y temperatura)**

La determinación inicial de la concentración de nitrógeno y fósforo totales mostró como resultado 27,1mg/L y 1,52 mg/L respectivamente.

La concentración de nitrógeno total obtenido al inicio de los análisis fue de 27,1 mg/L y evidenció una disminución significativa en los datos de las concentraciones obtenidos luego de 02 semanas de tratamiento; en donde se obtuvo 4,99 mg/L para T0 (control); 8,55; 5,94; 8,22 y 8,45 mg/L para T1, T2, T3 y T4 respectivamente (*Potamogeton striatus*) (Figura 20); y 10,08; 7,69; 4,43 y 6,73 mg/L para T5, T6, T7 y T8 (*Lemna minuta*) (Figura 21).

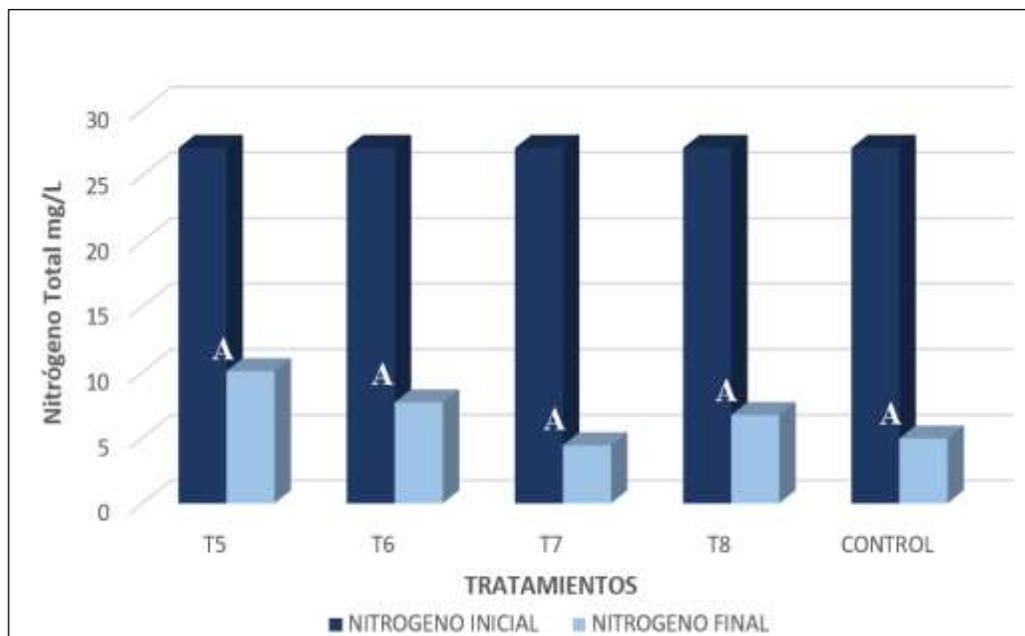
**Figura 20**

*Concentración de nitrógeno total determinado al inicio para el control y al final del control final de los tratamientos para *Potamogeton striatus**



**Figura 21**

*Concentración de nitrógeno total determinado al inicio para el control y al final del control final de los tratamientos para *Lemna minuta**



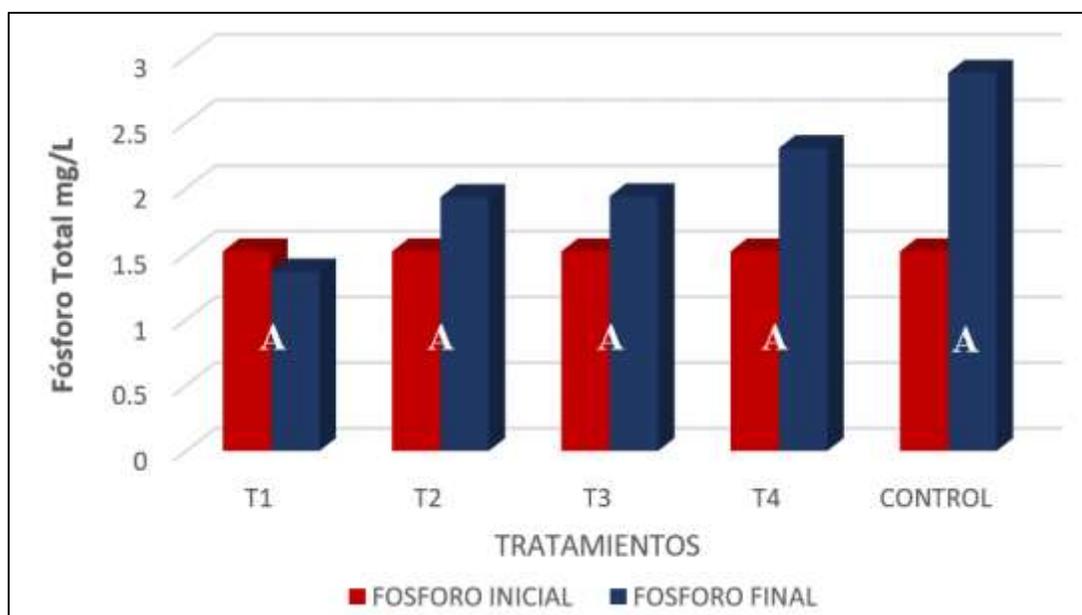
El análisis de Tukey aplicado al nitrógeno total para los tratamientos de *Potamogeton striatus* mostró que no existen diferencias significativas entre la concentración de nitrógeno total y los

tratamientos ( $p = 0,9$ ) al igual que los tratamientos de *Lemna minuta*, donde tampoco presentó diferencia significativa ( $p = 0,99$ ). De lo anterior, se puede indicar que la concentración de nitrógeno total no varía significativamente en los diferentes tratamientos.

La concentración inicial de fósforo total fue de 1,52 mg/L y en la cuantificación final de la concentración de fósforo se obtuvo 2,88 mg/L para T0 (control); 1,37; 1,93; 1,94 y 2,31 mg/L para T1, T2, T3 y T4 respectivamente (Figura 22); y 1,32; 1,80; 2,24 y 1,90 mg/L para T5, T6, T7 y T8 (Figura 23).

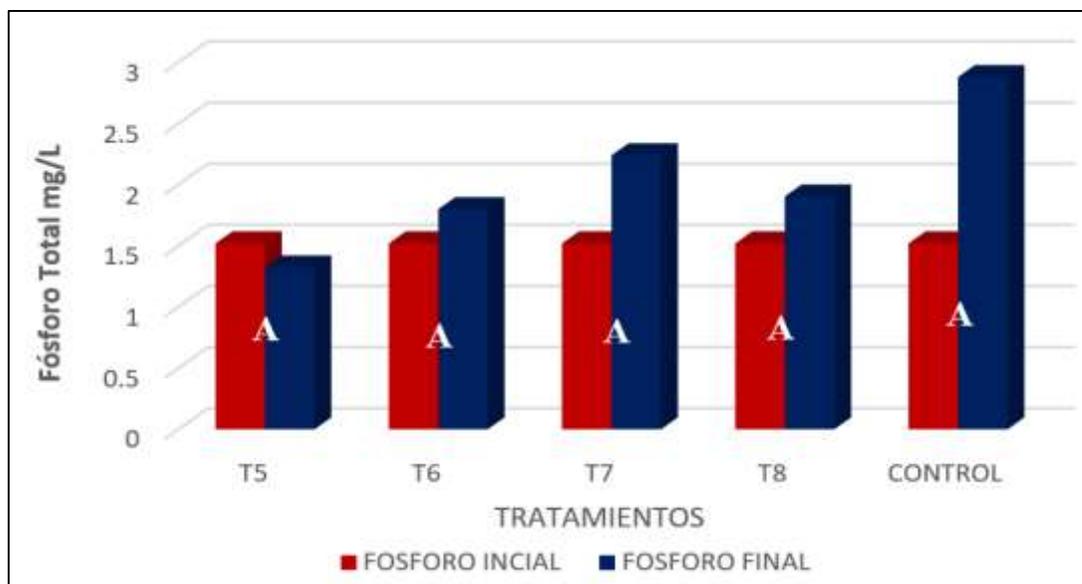
### Figura 22

*Concentración de fósforo total determinado al inicio para el control, y al final del control final de los tratamientos para Potamogeton striatus*



**Figura 23**

Concentración de fósforo total determinado al inicio para el control, y al final del control final de los tratamientos para *Lemna minuta*



Los resultados de las mediciones de pH para el control fluctuaron entre  $7,70 \pm 0,00$  (día N° 13) y  $8,70 \pm 0,00$  (día N° 10), mientras que para los tratamientos con *Potamogeton striatus* el pH osciló entre  $8,00 \pm 0,10$  (día N° 8) y  $9,33 \pm 0,12$  (día N° 1) (Tabla 8). En tanto el pH varió entre  $8,07 \pm 0,06$  (día N° 8) y  $9,37 \pm 0,21$  (día N° 1) para el pH de los tratamientos con *Lemna minuta* (Tabla 9).

**Tabla 8**

Promedios obtenidos de pH para *Potamogeton striatus* Los valores son promedios de tres mediciones  $\pm$  desviación estándar (DS)

	DÍAS					
	1	3	6	8	10	13
T1	9,03 $\pm$ 0,15	8,17 $\pm$ 0,31	8,60 $\pm$ 0,26	8,20 $\pm$ 0,46	8,20 $\pm$ 0,17	8,13 $\pm$ 0,15
T2	9,20 $\pm$ 0,10	8,67 $\pm$ 0,32	8,73 $\pm$ 0,12	8,33 $\pm$ 0,06	8,37 $\pm$ 0,06	8,27 $\pm$ 0,06
T3	9,30 $\pm$ 0,10	9,13 $\pm$ 0,57	8,70 $\pm$ 0,20	8,00 $\pm$ 0,10	8,23 $\pm$ 0,06	8,20 $\pm$ 0,10
T4	9,33 $\pm$ 0,12	9,30 $\pm$ 0,46	8,70 $\pm$ 0,20	8,13 $\pm$ 0,21	8,37 $\pm$ 0,15	8,30 $\pm$ 0,10
T0	7,90 $\pm$ 0,00	8,10 $\pm$ 0,00	8,55 $\pm$ 0,07	8,30 $\pm$ 0,00	8,70 $\pm$ 0,00	7,70 $\pm$ 0,00

**Tabla 9**

*Promedios obtenidos de pH para Lemna minuta Los valores son promedios de tres mediciones  $\pm$  desviación estándar (DS)*

	DÍAS					
	1	3	6	8	10	13
T5	9,23 $\pm$ 0,12	8,90 $\pm$ 0,36	8,63 $\pm$ 0,15	8,20 $\pm$ 0,10	8,40 $\pm$ 0,17	8,33 $\pm$ 0,21
T6	9,37 $\pm$ 0,15	9,20 $\pm$ 0,36	8,70 $\pm$ 0,26	8,07 $\pm$ 0,06	8,23 $\pm$ 0,15	8,30 $\pm$ 0,17
T7	9,37 $\pm$ 0,21	9,27 $\pm$ 0,51	8,73 $\pm$ 0,15	8,20 $\pm$ 0,26	8,37 $\pm$ 0,21	8,43 $\pm$ 0,15
T8	9,07 $\pm$ 0,21	9,27 $\pm$ 0,32	8,47 $\pm$ 0,21	8,07 $\pm$ 0,21	8,30 $\pm$ 0,10	8,57 $\pm$ 0,31
T0	7,90 $\pm$ 0,00	8,10 $\pm$ 0,00	8,55 $\pm$ 0,07	8,30 $\pm$ 0,00	8,70 $\pm$ 0,00	7,70 $\pm$ 0,00

Los valores de temperatura ( $^{\circ}$ C) para el control, esta fluctuó entre 21,30  $\pm$  0,00 (día N $^{\circ}$  8) y 24,30  $\pm$  0,00 (día N $^{\circ}$  1), mientras que para los tratamientos con *Potamogeton striatus* la temperatura osciló entre 21,90  $\pm$  0,17 (día N $^{\circ}$  8) y 25,33  $\pm$  0,10 (día N $^{\circ}$  1) (Tabla 10) y entre 22,10  $\pm$  0,13 (día N $^{\circ}$  8) y 25,40  $\pm$  0,04 (día N $^{\circ}$  1) para la temperatura de los tratamientos con *Lemna minuta* (Tabla 11).

**Tabla 10**

*Promedios obtenidos de temperatura ( $^{\circ}$ C) para Potamogeton striatus. Los valores son promedios de tres mediciones  $\pm$  desviación estándar (DS)*

	DÍAS					
	1	3	6	8	10	13
T1	24,62 $\pm$ 0,15	23,07 $\pm$ 0,12	24,37 $\pm$ 0,29	21,73 $\pm$ 0,58	24,13 $\pm$ 0,15	21,93 $\pm$ 0,15
T2	24,95 $\pm$ 0,10	23,43 $\pm$ 0,32	24,63 $\pm$ 0,25	21,90 $\pm$ 0,26	24,47 $\pm$ 0,38	22,20 $\pm$ 0,26
T3	25,03 $\pm$ 0,15	23,83 $\pm$ 0,32	24,80 $\pm$ 0,30	23,93 $\pm$ 3,44	24,83 $\pm$ 0,06	22,23 $\pm$ 0,23
T4	25,42 $\pm$ 0,29	24,07 $\pm$ 0,38	24,77 $\pm$ 0,21	21,90 $\pm$ 0,10	24,47 $\pm$ 0,06	22,23 $\pm$ 0,15
T0	24,30 $\pm$ 0,00	22,80 $\pm$ 0,00	23,90 $\pm$ 0,00	21,30 $\pm$ 0,00	24,10 $\pm$ 0,00	22,00 $\pm$ 0,00

**Tabla 11**

*Promedios obtenidos de temperatura ( $^{\circ}$ C) para Lemna minuta Los valores son promedios de tres mediciones  $\pm$  desviación estándar (DS)*

	DÍAS					
	1	3	6	8	10	13
T5	25,45 $\pm$ 0,17	23,90 $\pm$ 0,36	24,80 $\pm$ 0,26	22,10 $\pm$ 0,26	24,53 $\pm$ 0,06	22,27 $\pm$ 0,29
T6	25,27 $\pm$ 0,12	24,27 $\pm$ 0,15	24,87 $\pm$ 0,32	22,23 $\pm$ 0,15	24,23 $\pm$ 0,25	22,37 $\pm$ 0,21

	(continuación)					
T7	25,27±0,12	24,17±0,31	24,73±0,29	22,20±0,10	24,30±0,36	22,30±0,10
T8	24,87±0,12	24,17±0,32	24,57±0,31	22,43±0,32	24,23±0,12	22,20±0,20
T0	24,30±0,00	22,80±0,00	23,90±0,00	21,30±0,00	24,10±0,00	22,00±0,00

En cuanto a las mediciones de conductividad (mS) para el control, esta fluctuó entre  $0,79 \pm 0,00$  (día N° 1) y  $1,81 \pm 0,00$  (día N° 3), mientras que para los tratamientos con *Potamogeton striatus* la conductividad osciló entre  $0,61 \pm 0,17$  (día N° 8) y  $1,62 \pm 0,10$  (día N° 13) (Tabla 12). Asimismo, este parámetro fluctuó entre  $0,54 \pm 0,13$  (día N° 8) y  $1,49 \pm 0,04$  (día N° 13) para la conductibilidad de los tratamientos con *Lemna minuta* (Tabla 13).

**Tabla 12**

*Promedios obtenidos de conductividad (mS) para Potamogeton striatus Los valores son promedios de tres mediciones ± desviación estándar (DS)*

	DÍAS					
	1	3	6	8	10	13
T1	1,09±0,03	1,41±0,01	0,99±0,11	0,93±0,13	1,10±0,12	1,62±0,10
T2	1,04±0,05	1,35±0,03	0,81±0,09	0,73±0,04	1,20±0,02	1,48±0,02
T3	0,98±0,03	1,53±0,33	0,78±0,06	0,61±0,17	1,11±0,12	1,47±0,03
T4	0,98±0,03	1,30±0,02	0,68±0,06	0,62±0,03	1,11±0,12	1,48±0,03
T0	0,79±0,00	1,81±0,00	1,31±0,00	1,44±0,00	1,27±0,00	1,65±0,00

**Tabla 13**

*Promedios obtenidos de conductividad (mS) para Lemna minuta Los valores son promedios de tres mediciones ± desviación estándar (DS)*

	DÍAS					
	1	3	6	8	10	13
T5	0,95±0,04	1,13±0,08	0,60±0,11	0,54±0,13	1,08±0,06	1,49±0,04
T6	0,93±0,03	1,21±0,02	0,68±0,11	0,62±0,08	0,93±0,21	1,44±0,09
T7	0,98±0,01	1,21±0,02	0,65±0,14	0,59±0,10	1,11±0,06	1,44±0,08
T8	1,02±0,02	1,26±0,02	0,75±0,10	0,60±0,18	1,09±0,04	1,40±0,05
T0	0,79±0,00	1,81±0,00	1,31±0,00	1,44±0,00	1,27±0,00	1,65±0,00

Se utilizó el índice de correlación de Pearson para determinar la relación que existe entre el pH, conductividad, temperatura, nitrógeno, fósforo total, clorofila y porcentaje de inhibición para

los tratamientos de *Potamogeton striatus* la cual mostró que existe correlación negativa entre la clorofila y el porcentaje de inhibición ( $r = -0,651$ ;  $P < 0,05$ ); una correlación positiva entre la clorofila y fósforo total ( $r = 0,875$ ;  $P < 0,01$ ); el fósforo total presentó una correlación negativa con el nitrógeno ( $r = -0,677$ ;  $P < 0,05$ ); una correlación positiva entre el nitrógeno y la conductividad ( $r = -0,954$ ;  $P < 0,01$ ); la temperatura presentó una correlación negativa con la conductibilidad ( $r = -0,928$ ;  $P < 0,01$ ) además de una correlación positiva con el pH ( $r = 0,708$ ;  $P < 0,05$ ) y con el nitrógeno ( $r = 0,976$ ;  $P < 0,01$ ) (Apéndice 10).

Así mismo, para los tratamientos de *Lemna minuta*, el índice de correlación de Pearson mostró que existe una correlación negativa entre la clorofila y el porcentaje de inhibición ( $r = -0,672$ ;  $P < 0,05$ ), mientras que con el fósforo total presentó una correlación positiva ( $r = 0,913$ ;  $P < 0,01$ ). El porcentaje de inhibición mostró una correlación positiva con el pH ( $r = 0,670$ ;  $P < 0,05$ ). En el caso del nitrógeno, tuvo una correlación negativa con el fósforo total ( $r = -0,648$ ;  $P < 0,05$ ) y con la conductibilidad ( $r = -0,955$ ;  $P < 0,01$ ), mientras que presentó una relación positiva con el pH ( $r = 0,642$ ;  $P < 0,05$ ), fósforo total ( $r = 0,651$ ;  $P < 0,05$ ) y temperatura ( $r = 0,972$ ;  $P < 0,01$ ). El pH presentó una correlación positiva con la temperatura ( $r = 0,760$ ;  $P < 0,05$ ) y la temperatura mostró una correlación negativa con la conductividad ( $r = -0,922$ ;  $P < 0,01$ ) (ver Apéndice 11).

## CAPÍTULO IV: DISCUSIONES

### 4.1. Estimación de la cinética de crecimiento de las colonias de *Microcystis aeruginosa* a nivel de laboratorio

El crecimiento poblacional de *Microcystis aeruginosa* que se realizó en el medio de cultivo BG-11 a un pH de 8,5 en un periodo de 29 días, sometidos a 24 °C y 1100 luxes de manera constante, mostró las siguientes características: una tasa de crecimiento ( $r$ ) de 0,13 días<sup>-1</sup>, un tiempo de duplicación ( $t_2$ ) de 5,38 días y una capacidad de carga ( $K$ ) de 404,8 colonias/día; además, presentó un crecimiento exponencial que se relacionó con la siguiente fórmula  $y = 343,98x - 199,99$  ( $R = 0,955$ ). Estos resultados son similares a los obtenidos por Moscoso (2021) quien obtuvo una tasa de crecimiento ( $r$ ) de 0,133 días<sup>-1</sup>, el tiempo de duplicación ( $t_2$ ) de 5,211 días y con una capacidad de carga ( $K$ ) de 499,9 colonias/día; además, se ajustó a una curva, cuya fórmula fue  $y = 547,14x - 290$  ( $R = 0,9527$ ), en colonias de *Microcystis aeruginosa* que fueron cultivadas en el medio BG-11 con un pH de 8,0 sometidos a una temperatura de 25 °C y 1100 luxes de iluminación de manera constante durante 30 días. A su vez, Martínez (2018) obtuvo un crecimiento parecido para *Microcystis aeruginosa* utilizando BG-11 como medio de cultivo, con un pH de 8,5 sometidos a 25 °C y 1100 luxes de iluminación de manera constante durante 25 días luego del cual mostró una tasa de crecimiento ( $r$ ) de 0,12 días<sup>-1</sup>, un tiempo de duplicación ( $t_2$ ) de 5,75 días y una capacidad de carga ( $K$ ) de 499,9 colonias/día; además, los datos se ajustaron a una curva, cuya fórmula fue  $y = 143,28x - 147,9$  ( $R = 0,975$ ). En la presente investigación la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* se adaptó adecuadamente al medio de cultivo BG-11 aplicado durante 29 días, facilitando su crecimiento en condiciones de laboratorio.

La temperatura ha mostrado ser un factor indispensable para el crecimiento de la *Microcystis aeruginosa* debido a que está asociado a su velocidad de crecimiento de las cianobacterias. Crettaz (2018) menciona que la velocidad de crecimiento de esta cianobacteria estudiado a nivel de laboratorio puede aumentar 4,8 veces cuando se eleva la temperatura de 15 a 35 °C en medios de BG-1. Esto se relaciona con los datos de capacidad de carga que se obtuvieron en Moscoso (2021) y Martínez (2018), debido a que este trabajo de investigación obtuvo una capacidad de carga ligeramente menor ( $K = 404,8$  colonias/día a 24 °C) en comparación con los resultados obtenidos por los autores antes mencionados ( $K = 499,9$  colonias/día a 25 °C para ambos casos) a pesar de que las colonias de *Microcystis aeruginosa* fueron cultivadas en similares condiciones de laboratorio.

El Medio de cultivo BG-11 ha demostrado ser eficaz para el crecimiento óptimo de la *Microcystis aeruginosa* por diferentes investigaciones como Moscoso (2021) y Martínez (2018), donde se adaptaron fácilmente y presentaron una alta tasa de crecimiento. Además, este medio de cultivo también fue recomendado por Rippka (1988) por su alta concentración de nutrientes tales como el nitrato de sodio, magnesio, calcio, cobre, etc.; que son requeridas para el crecimiento de cianobacterias. Por lo tanto, los nutrientes presentes en el BG-11 lo convierten de un medio de cultivo adecuado para el crecimiento de *Microcystis aeruginosa* que, junto a la temperatura y la exposición a la luz, presentan gran influencia en el crecimiento de las cianobacterias a nivel laboratorio.

#### **4.2. Determinación de la concentración de los fenoles de los extractos de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta***

Según los resultados obtenidos para la determinación de fenoles totales a partir de los extractos metanólicos, se obtuvo 14,08 y de 4,71 mg/L. g<sup>-1</sup> para *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* respectivamente. Existen otras investigaciones como la que realizaron Kaminski *et al.* (2015), quienes determinaron que la concentración de fenoles totales presentes en la *Lemna trisulca* fue de 0,071 mg/L en masa viva; así mismo, Andrade y Baque (2020) determinaron la concentración de fenoles en *Lemna minor* de 2,76 mg/kg en extracto acuoso y de 20,28 mg/kg en extracto

etanólico. Para el caso de *Potamogeton* existe escasa investigación de la cantidad de fenoles presente en este género, ciñéndose netamente a la investigación como potencial fitorremediador de metales pesados y otros compuestos tóxicos presentes en los ecosistemas acuáticos como lo estudiado por Ochieng *et al.* (2021) y Lyu *et al.* (2021).

La variación de la concentración de fenoles en las diferentes especies vegetales se da por la influencia del estrés biótico y abiótico al que se somete la planta (Nieto *et al.*, 2018) entre las cuales se encuentra la radiación UV o la luz que favorece la generación y acumulación de fenoles en diferentes especies (Beker *et al.*, 2020; Petinatti *et al.*, 2012; Berli *et al.*, 2011). En la investigación realizado por Paz (2019) se cuantificó la concentración de fenoles en algunas especies acuáticas como *Ludwigia peploides* (flotante), quien presentó una concentración de  $28,24 \pm 6,60$  mg. g<sup>-1</sup> de fenoles; *Gymnocoronis spilanthoides* (emergente) con  $9,41 \pm 0,72$  mg. g<sup>-1</sup> y *Egeria densa Plach* (sumergida) con  $9,12 \pm 1,73$  mg. g<sup>-1</sup> donde se pudo visualizar una variación de los fenoles en especies ubicadas en diferentes estratos de la columna acuática. La estratificación dentro del ecosistema puede favorecer el acceso a diferentes intensidades de la radiación luminosa, lo que está relacionado con la actividad fotosintética y otros ciclos biológicos (García *et al.*, 2010; Piñol *et al.*, 2013).

Además, es importante mencionar que la concentración de componentes de los extractos también está influenciada por algunas condiciones que se dan en el momento de obtener los extractos naturales, por ejemplo: el tamaño de la partícula procesada, la pureza del solvente, la temperatura y el tiempo que toma el proceso, *etc.* (Caldas, 2012; Naranjo, 2016; Amaguaña y Churuchumbi, 2018).

#### **4.3. Estimación de la actividad fenólica del extracto de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* sobre el control de las floraciones algales de *Microcystis aeruginosa***

El tratamiento que presentó un mayor porcentaje de inhibición a las colonias de *Microcystis aeruginosa* fue el T2, que contenía 7,04 mg/L. g<sup>-1</sup>de fenol (76,85 % de inhibición, el día 13),

seguido del T1 que contenía 14,08 mg/L. g<sup>-1</sup> de fenol (75,85 % de inhibición), el cual tuvo un comportamiento similar a lo presentado por Pakdel (2013), ya que obtuvo un porcentaje de inhibición cercano al 80 % para la cianobacteria *Anabaena variabilis* el día 10 con extractos de *Potamogeton crispus*.

Garay (2012), quien evaluó la actividad inhibidora de las cianobacterias por especies vivas de macrófitas, obtuvo una disminución de 52 % de la tasa de crecimiento de la cianobacteria *Ankistrodesmus minuta* con la macrófita *Potamogeton illinoensis*. De igual manera, Takeda *et al.* (2011) estudió el potencial inhibidor de crecimiento de colonias de *Microcystis aeruginosa* con *Potamogeton pusillus* obteniendo un porcentaje de inhibición de crecimiento cercanos al 53 y 48 % en comparación con el control de las muestras obtenidas de los estanques Yamanokami y Bessho Pond respectivamente; mientras que Pakdel (2013), obtuvo valores de inhibición poblacional de *A. variabilis* cercanos al 100 % utilizando brotes de *P. crispus*.

En esta investigación, el mayor porcentaje de inhibición de las colonias de *Microcystis aeruginosa* generado por *Lemna minuta* fue de 80,24 % para T5 (4,71 mg/L. g<sup>-1</sup> de fenol) el día 13 del tratamiento y T6 (2,36 mg/L. g<sup>-1</sup> de fenol) con 73,98 % de inhibición el día 3. Similares resultados fueron obtenidos por Kaminski *et al.* (2015), en donde se analizó a la *Lemna trisulca* (con 0,07 mg/L de fenol) para reducir la concentración de la cianobacterias *Anabaena flos-aquae* obteniendo una inhibición del crecimiento de *A. flos-aquae* en un 86,9 % en comparación con el control para el día 32 de la investigación. Con estos datos, los autores concluyen que ésta macrófita puede ser usada para la inactivación biológica de esta cianobacteria.

En la investigación de Kucala *et al.* (2021), quienes analizaron el potencial fitorremediador de la *Lemna trisulca* con tres cianobacterias: *D. flos-aquae*, *R. raciborskii* y *Microcystis aeruginosa*, los tratamientos de control presentaron un crecimiento de la biomasa de *Microcystis aeruginosa* de 6,9 veces el valor inicial luego de 14 días. En los cocultivos de *Microcystis aeruginosa* y *Lemna trisulca*, se obtuvo un 47 % de disminución de crecimiento el día 14 en

comparación del tratamiento inicial (día 1) y fue 12 veces menor que la biomasa obtenida el día 14 para el tratamiento control sin macrófito. Contrario a estos resultados, Martínez (2018) obtuvo un potencial fitorremediador de la pajilla de arroz de hasta el 90 % de inhibición de crecimiento de poblaciones de *Microcystis aeruginosa* a partir de la segunda semana de tratamiento.

De esta manera se demuestra que estas especies tiene un alto potencial inhibidor de colonias cianobacterianas asociados a la producción de algún elemento químico liberado por estas plantas, tales como los polifenoles, que son compuestos más comunes en el estudio del efecto alelopático que presentan las macrófitas en cianobacterias (Solano, 2018). Eigemann *et al.* (2013) muestra que estas sustancias químicas liberadas por las macrófitas pueden generar un daño a la membrana celular e inhibir la actividad fosfatasa (APA) y la actividad del fotosistema II (PSII) de la cianobacteria limitando su disposición a los nutrientes.

Por los resultados obtenidos en el presente trabajo y lo observado en los resultados de otras investigaciones, queda confirmado que el *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* son buenos controladores biológicos porque presentan un alto porcentaje de inhibición de crecimiento de las cianobacterias tanto en su forma natural (por acción alelopática) o como extractos (mediante acción de los fenoles) como es el caso de la *Microcystis aeruginosa*.

#### **4.4. Determinación de la correlación que existe entre los extractos de *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* sobre los parámetros físicos químicos de los tratamientos**

El pH generado de los tratamientos arrojó datos que oscilaron entre  $8,00 \pm 0,10$  (día N° 8) y  $9,33 \pm 0,12$  (día N° 1) para las muestras de *Potamogeton striatus*, y entre  $8,07 \pm 0,06$  (día N° 8) y  $9,37 \pm 0,21$  (día N° 1) para los de *Lemna minuta*. La variación del pH no fue significativa en ninguno de los tratamientos ( $p > 0,05$ ). Los datos de pH tienen una tendencia de mantenerse alcalina en ambos casos lo que coincide con los resultados obtenidos por Martínez (2018), quien analizó la actividad alelopática de la pajilla de arroz en poblaciones de *Microcystis aeruginosa*,

donde el pH fluctuó entre  $6,75 \pm 1,6$  (semana 1) a  $7,79 \pm 3,5$  (semana 4). En la investigación realizada por Kucala *et al.* (2021) los valores de pH que se obtuvieron presentaron una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) en comparación del control en donde se presentó un incremento continuo desde 7,9 a 9,5 durante los 14 días alcanzando un pH alcalino. En el caso de los tratamientos de *Microcystis aeruginosa* y *L. trisulca* presentó un aumento de pH 8,9 unidades en el pH luego de 4 días de tratamiento de un pH inicial cercano a 8, para disminuir y mantenerse estable hasta el día 14 variando ligeramente en  $\pm 0,25$  unidades de pH.

Lo mencionado anteriormente hace referencia a lo descrito por Rippka *et al.* (1981) quien obtuvo con un pH final de 7,4 mencionando que las cianobacterias presentan un crecimiento óptimo en un pH neutro o ligeramente alcalino (en un rango de 7-10 de pH) llegando a ser considerada una variable cuantitativa para la determinación de poblaciones de cianobacterias dado que el pH tiende a aumentar cuando hay mayor biomasa (Pelizer *et al.*, 2002). Rosso y Giannuzzi (2017) afirmaron que el aumento de pH a elevadas temperaturas está asociado a un mayor desarrollo de colonias de cianobacterias y las toxinas que éstas producen. Por lo tanto, queda demostrado que el pH se comporta como un indicador debido a que su valor está relacionado a la presencia de poblaciones de cianobacterias en el medio, en donde a mayor concentración de cianobacterias el pH tiende a incrementar.

La concentración de nitrógeno total inicial para este estudio fue de 27,1 mg/L (para todos los tratamientos), y el nitrógeno total final para *Potamogeton striatus* fue de 5,94 mg/L y para *Lemna minuta* fue de 4,43 mg/L; la variación del nitrógeno entre los tratamientos no fue significativa ( $p > 0,05$ ). En el análisis de los datos obtenidos, se observó un descenso de la concentración del nitrógeno, similar comportamiento fue obtenido por Martínez (2018) debido que inició sus tratamientos con un valor inicial de nitrógeno de 2,47 mg/L alcanzando un valor máximo de  $6,09 \pm 0,99$  mg/L en la semana 4 (T3) y mínimo de  $0,081 \pm 0,017$  mg/L en la semana 4 (T1), pero con una varianza significativa entre los tratamientos ( $p < 0,01$ ). Los resultados obtenidos por Martínez (2018) presentaron una tendencia a disminuir al igual que los datos obtenidos en la presente investigación. De la misma manera, Kaminski (2015), quien estudió a

la *Lemna trisulca* como inhibidor de la cianobacteria *Anabaena flos-aquae*, determinó que la concentración de nitrógeno también se redujo en un 82 % en su investigación.

Existen distintos puntos de vista sobre la influencia del nitrógeno en las cianobacterias, mientras algunos autores afirman que a mayor concentración de nitrógeno hay en un medio, mayor es el crecimiento de cianobacterias (Sivonen, 1990), otros lo contradicen, indicando que a menor concentración de nitrógeno hay mayor crecimiento de *Microcystis aeruginosa* (Long *et al.*, 2001). La información presentada en las investigaciones de Sivonen (1990) y Martínez (2018) muestran que concentración de nitrógeno total se comporta como un indicador que podía estar relacionado a la presencia o ausencia de poblaciones de cianobacterias en el medio debido que a menor concentración de cianobacterias el nitrógeno tiende a disminuir. En conclusión, la concentración del nitrógeno total es proporcional a la cantidad de colonias de *Microcystis aeruginosa* presentes en un medio.

La concentración de fósforo total inicial para los tratamientos con extractos fue de 1,52 mg/L y concentración final para *Lemna minuta* fue de  $1,89 \pm 0,39$  mg/L y para *Potamogeton striatus* fue de  $1,82 \pm 0,38$  mg/L, para ambos casos no se vieron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). En los resultados se pudo observar un leve incremento de la concentración de fósforo al igual que Martínez (2018), donde presentó una concentración mínima de  $0,21 \pm 0,076$  mg/L la primera semana y una concentración máxima de  $8,53 \pm 0,40$  mg/L la cuarta semana en sus tratamientos. A diferencia de estos resultados, Kaminski (2015) estudia a la *L. trisulca* como inhibidor natural de la *Anabaena flos-aquae*, el cual presentó un descenso de la concentración del fósforo total en un 99,8 % el día 32 de investigación comparado con el control, por lo cual el autor concluyó que este comportamiento se debería a la capacidad que tiene el macrófito de absorber fácilmente los iones de fosfato.

Según Crettaz (2018) la *Microcystis aeruginosa* tienden a liberar fósforo total al medio cuando mueren debido a que suelen almacenar mayores cantidades de que otras especies de

fitoplancton. Martínez (2018) afirma que este incremento de fósforo total se debe a la descomposición de las poblaciones algales que han sido afectadas por el potencial alelopático de la pajilla de arroz además en la investigación de Rosso y Giannuzzi (2017) se menciona que el fósforo total puede llegar a ser un elemento limitante de crecimiento de la cianobacteria en los diferentes cuerpos de agua ya que existe una relación entre ellos. En esta investigación la evaluación de fósforo total presentó una alta correlación positiva con la clorofila para *Potamogeton striatus* ( $r = 0,875$ ;  $P < 0,01$ ) y *Lemna minuta* ( $r = 0,913$ ;  $P < 0,01$ ), por lo tanto, se puede decir que el incremento del fósforo total está relacionado directamente con la muerte de la muerte de la *Microcystis aeruginosa*.

Los datos de temperatura de los tratamientos con extracto de *Potamogeton striatus* varió entre  $21,90 \pm 0,17$  °C (día N° 8) y  $25,33 \pm 0,10$  °C (día N° 1) y entre  $22,10 \pm 0,13$  °C (día N° 8) y  $25,40 \pm 0,04$  °C (día N° 1) para los extractos con *Lemna minuta*; además, no presentó diferencia significativa ( $p > 0,05$ ) en ninguna de las especies evaluadas. El promedio general de temperatura ( $23,42$  °C) se encontraba dentro del rango establecido por Crettaz (2018) el cual indica que la temperatura mínima y máxima donde se presenta un crecimiento de *Microcystis aeruginosa* es de  $8,58 \pm 2,34$  y  $45,04 \pm 1,35$  °C. La temperatura no fue un parámetro influyente ya que los tratamientos se realizaron in-vitro.

Los datos obtenidos en el trabajo de investigación, para la conductividad eléctrica muestra un leve incremento en ambas especies estudiadas, fluctuando de  $0,61-1,62$  mS/cm para las muestras analizadas de *Potamogeton striatus*, y entre  $0,54-1,49$  mS/cm para la *Lemna minuta* Comparado con lo de Martínez (2018), los valores de conductividad fluctuaron de  $1,46 \pm 0,1$  mS/cm (semana 1) a  $5,88 \pm 0,5$  mS/cm (semana 3), se puede verificar que se ha presentado un comportamiento similar en los tratamientos, pero presentaron valores superiores a la presente investigación, ya que la conductividad presentó una correlación positiva muy fuerte con la actividad alelopática ( $r = 0,819$ ;  $P < 0,01$ ), lo cual podría indicar que se debe a la liberación de electrolitos de *Microcystis aeruginosa* por el daño a la pared celular generados por los compuestos fenólicos presentes en la pajilla de arroz. Lepillanca *et al.* (2018) en su investigación menciona que la

conductividad eléctrica (junto a la temperatura) del agua son dos variables importantes para determinar la abundancia y la toxicidad de las cianobacterias.

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

1. La cianobacteria *Microcystis aeruginosa* cultivada en el medio de cultivo BG 11 presentó una adecuada cinética de crecimiento en condiciones de laboratorio, siendo la tasa de crecimiento (r) de 0,13 días<sup>-1</sup>, el tiempo de duplicación (t<sub>2</sub>) de 5,38 días y la capacidad de carga (K) de 404,79 colonias/ día.
2. El extracto de *Potamogeton striatus* presentó una concentración de fenoles totales de 14,08 mg/L, mientras que para el extracto la *Lemna minuta* se obtuvo una concentración de 4,71 mg/L.
3. Los extractos de las especies *Potamogeton striatus* y *Lemna minuta* desempeñaron un control poblacional sobre las colonias formadas por *Microcystis aeruginosa*, obteniéndose un porcentaje de inhibición de máximo en el décimo tercer día con 76,85 % para los tratamientos de *Potamogeton striatus*, y de 80,24 % para los de *Lemna minuta*.
4. Los parámetros nitrógeno total, fosforo total, pH y temperatura no presentaron correlación directa con el porcentaje inhibición de las cianobacterias (P > 0,05) para ninguna de las especies evaluadas; sin embargo, si presentó una correlación positiva la concentración de clorofila con el fósforo total para *Potamogeton striatus* (r = 0,875; P<0,01) y *Lemna minuta* (r = 0,913; p < 0,01), siendo este un parámetro importante a ser evaluado ya que puede ser un indicador para determinar la presencia o ausencia de las cianobacterias, en donde a menor concentración de clorofila, que está relacionado con el número de colonias, la concentración de fósforo tiende a incrementarse.

## CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES

1. En vista que este trabajo de investigación realizó las evaluaciones en función de los fenoles totales de los extractos, se recomienda realizar un estudio detallado de los compuestos de cada uno de los extractos (como: ácido gálico, ácido pirogálico, ácido eálico, azúcares, entre otros) para poder establecer qué tipo de influencia ejercen cada uno de ellos sobre la *Microcystis aeruginosa*. Además, de hacer pruebas de análisis complementario para determinar la toxicidad aguda de cada uno de estos componentes.
2. Realizar pruebas del efecto inhibitorio con macrófitas vivas para determinar cuál de las dos metodologías es más eficiente: si los tratamientos que poseen extractos o aquellos que contienen brotes vivos de las mismas especies evaluadas.
3. Se recomienda realizar una caracterización fisicoquímica del fósforo y nitrógeno para poder verificar si el incremento de estos nutrientes está relacionado con la muerte de las cianobacterias. Se debe tener en cuenta las diferentes variantes del nitrógeno tales como nitrato, nitrito y amonio; de igual manera que el fósforo, como el ortofosfato y polifosfato.

## REFERENCIAS

- Adams, W.N., Sihgelman, H.W., Slatyin, D.N. y Stoner, R.D. (1990). Cyclosporine A inhibition of microcystin toxins [Ciclosporina A inhibición de toxinas de microcistina]. *Toxicol.* 28(5), 569-573. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(90\)90301-M](https://doi.org/10.1016/0041-0101(90)90301-M)
- Amaguaña R., F. y Churuchumbi R., E. (2018). *Estandarización fitoquímica del extracto de Caléndula (Calendula officinalis)* [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/16149>
- Anaya, A. (1989). Papel de los aleloquímicos en el manejo de los recursos naturales. *Boletín de la Sociedad Botánica de México.* 49, 85-98. DOI: 10.17129/botsci.1368
- Andrade, I. A. y Baque, M. A. (2020). *Composición química y actividad antioxidante de la lenteja de agua (Lemna minor L.)* [Tesis de grado, Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/50871>
- Aponte, H. (2016). Nuevo registro de flora para las lomas de Lachay (Lima, Perú): primer reporte de *Lemna minuta* Kunth (ARACEAE). *Ecología Aplicada*, 15(1), 57-60. DOI: <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v15i1.583>
- Aredo, V., Carranza-Cabrera, J. y Siche, R. (2017) Inventario de especies vegetales de La Libertad (Perú) y análisis de su potencial agroindustrial, *Agroindustrial science*, 7(2): 87 - 104 <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience>
- Azov, Y. (1982). Effect of pH on inorganic carbon uptake in algal culture [Efecto del pH sobre la absorción de carbono inorgánico en cultivo de algas]. *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 1300-1306.
- Beker, M.; Fernandez, O. y Klich, M. (2020). Variaciones estacionales y espaciales en la concentración de fenoles en *Elaeagnus angustifolia* L. *Pastos y Forrajes.* 43(1).26-31.

- Berli, F.; Fanzone, M.; Piccoli, P. y Bottini, R. (2011). La radiación solar ultravioleta-B y el ácido abscísico incrementan la biosíntesis de polifenoles en los hollejos de *Vitis vinifera* L. cv. Malbec. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 4874-4884.
- Bonilla; S. (Ed). (2009). *Cianobacterias plantónicas del Uruguay: Manual para la identificación y medidas de gestión*. Uruguay: Programa Hidrológico Internacional (PHI) de la Oficina Regional de Ciencia para América Latina y el Caribe de la UNESCO y de la Facultad de Ciencias de Universidad de la Republica.
- Caldas, A (2012). *Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido* [Tesis de grado, Universidad de Cuenca]. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2468/1/tq1111.pdf>
- Carreto, J., Montoya, N. y Carignan, M. (2008). Florecimiento de algas nocivas. *Atlas de Sensibilidad Ambiental del Mar y de la Costa*. [https://www.researchgate.net/publication/285479252\\_Floraciones\\_de\\_algas\\_toxicas](https://www.researchgate.net/publication/285479252_Floraciones_de_algas_toxicas)
- Chorus, I. y Bartram, J. (1999). Toxic cyanobacteria in Water. A guide to their public health consequences, monitoring and management [Cianobacterias tóxicas en agua. Una guía sobre sus consecuencias para la salud pública, su seguimiento y gestión]. Nueva York: *E y FN Spon.* [https://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/resourcesquality/toxcyanbegin.pdf](https://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxcyanbegin.pdf)
- Chludil, H. (2017). Compuestos aleloquímicos. *Ciencia hoy*, 26 (153); 33-39.
- Cobo, F. (2015). Métodos de control de las floraciones de cianobacterias en aguas continentales. *Limnetica*, 34(1); 247-268. DOI: 10.23818/limn.34.20
- Crettaz, M. C. (2018). *Estudio del crecimiento de Microcystis aeruginosa y de la producción de microcystina en cultivos de laboratorio* [Tesis doctoral, Universidad Nacional de la Plata]. [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/83223/CONICET\\_Digital\\_Nro.06be5b5d-7b3b-4960-9aba-3982bebee388\\_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/83223/CONICET_Digital_Nro.06be5b5d-7b3b-4960-9aba-3982bebee388_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y)

Ding, W. X. y Han, S. (1998). Microcystic Cyanobacteria Causes Mitochondrial Membrane Potential Alteration and Reactive Oxygen Species Formation in Primary Cultured Rat Hepatocytes [Las cianobacterias microquísticas provocan una alteración del potencial de la membrana mitocondrial y la formación de especies reactivas de oxígeno en hepatocitos de rata en cultivo primario]. *Environmental Health Perspectives*, 106 (7), 409-413.

Eigemann, F. (2013). *Allelopathic effects of submerged macrophytes on phytoplankton: determining the factors of phytoplankton sensitivity and detection of new modes of action* [ Efectos alelopáticos de macrófitos sumergidos sobre el fitoplancton: determinación de los factores de sensibilidad del fitoplancton y detección de nuevos modos de acción]. Freien Universität Berlin. DOI: 10.13140/RG.2.1.4348.2961

Eigemann, F.; Hilt, S. y Schmitt-Jansen, M. (2013). Flow cytometry as a diagnostic tool for the effects of polyphenolic allelochemicals on phytoplankton [ La citometría de flujo como herramienta de diagnóstico de los efectos de los aleloquímicos polifenólicos en el fitoplancton]. En F. Eigemann... (Ed.), *Allelopathic effects of submerged macrophytes on phytoplankton: determining the factors of phytoplankton sensitivity and detection of new modes of action* [ Efectos alelopáticos de macrófitos sumergidos sobre el fitoplancton: determinación de los factores de sensibilidad del fitoplancton y detección de nuevos modos de acción] (pp. 21-46). Freien Universität Berlin. DOI: 10.13140/RG.2.1.4348.2961

Galán-Mera (1991). *Notas Sobre El Género Potamogeton L. (Potamogetonaceae) en el Perú*. Publicación del museo de Historia Natural UNMSM, B (35), 1-6.

García, P., Fernández, R. y Cirujano, S. (2010). *Habitantes del agua. Macrófitos*. Agencia Andaluza del Agua. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía.

Garay, A. L. (2012). *Efectos de las plantas acuáticas Potamogeton illinoensis (Morong) y Myriophyllum quitense (Kunth) sobre la clorofita Ankistrodesmus sp.* [Tesis de grado, Universidad de la República]. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/1416>

Gobierno Regional de Lima (2009). *Plan Maestro 2009-2013, Albufera de Medio Mundo*.

Gobierno Regional de Lima (2015). *Plan Maestro 2015-2019, Albufera de Medio Mundo*.

Guiry, M.D. (2020) AlgaeBase. *World-wide electronic publication*, Universidad Nacional de Irlanda, Galway. <https://www.algaebase.org>

Hanson, P. y Hilje, L. (1993). *Control biológico de insectos*. Turrialba, Costa Rica: CATIE.

Hernández, R, Fernández, C y Baptista, P. (2010). *Metodología de la Investigación*. (Quinta Edición). México D.F, México: McGraw-Hill.

Huang, S., Zhu, J., Zhang, L., Peng, X., Zhang, X., Ge, F., Liu, B. y Wu, Z. (2020). Combined Effects of Allelopathic Polyphenols on *Microcystis aeruginosa* and Response of Different Chlorophyll Fluorescence Parameters [ Efectos combinados de polifenoles alelopáticos en *Microcystis aeruginosa* y respuesta de diferentes parámetros de fluorescencia de clorofila]. *Microbiol frontal*. 11,614570. Doi: 10.3389/fmicb.2020.614570

Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (2003). *Manual de técnicas analíticas para la determinación de parámetros fisicoquímicos y contaminantes marinos (aguas, sedimentos y organismos)*. Colombia –INVEMAR.

Instituto Nacional de Salud. (2011). *Manual de métodos fisicoquímicos básicos para el análisis de aguas para consumo humano*. Bogotá, Colombia.

Kahn, F., Leon, B. y Young, K. (1993). *Las plantas vasculares en las aguas continentales del Perú*. Instituto Francés de Estudios Andinos. [https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/divers09-06/39107.pdf](https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers09-06/39107.pdf)

Kaminski, A; Boder, B.; Chrapusta, E.y Bialczyk, J. (2014). Phytoremediation of anatoxin-a by aquatic macrophyte *Lemna trisulca* L. [ Fitorremediación de la anatoxina-a por la macrófita acuática *Lemna trisulca* L.]. *Chemosphere*, 112 (2014), 305-310. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.04.064

Kaminski, A.; Chrapusta, E.; Bober, B.; Adamski, M.; Latkowska, E. y Bialczyk, J. (2015). Aquatic macrophyte *Lemna trisulca* (L.) as a natural factor for reducing anatoxin-a concentration in the aquatic environment and biomass of cyanobacterium *Anabaena flos-*

- aquae* (Lyngb.) de Bréb [ La macrófita acuática *Lemna trisulca* (L.) como factor natural para reducir la concentración de anatoxina-a en el medio acuático y la biomasa de la cianobacteria *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) de Bréb]. *Algal Research*. 9, 212-217. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.03.014>
- Kelley, C., Gaither, K. K., Baca-Spry, A. y Cruickshank, B. J. (2000). Incorporation of phytoremediation strategies into the introductory chemistry laboratory [ Incorporación de estrategias de fitorremediación en el laboratorio de química introductoria]. *Chem Educato*, 5, 140-143. <https://doi.org/10.1007/s00897000383a>
- Kucala, M.; Saladyga, M. y Kaminski, A. (2021). Phytoremediation of CYN, MC-LR and ANTX-a from Water by the Submerged Macrophyte *Lemna trisulca* [Fitorremediación de CYN, MC-LR y ANTX-a del Agua por el Macrófita Sumergido *Lemna trisulca*]. *Células*. 10 (3), 619. DOI: 10.3390/cells10030699.
- Landolt, E. y Schmidt, M. (2009). *Lemnaceae. Flora de Colombia*. Colombia, Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. [https://www.researchgate.net/publication/263660863\\_Lemnaceae](https://www.researchgate.net/publication/263660863_Lemnaceae)
- Lepillanca; F., Martínez de la Escalera; G., Bordet; F., O'Farell; I. y Piccini; C. (2018). Detección de poblaciones toxicas de *Microcystis* spp. con distintas preferencias ambientales. Estudio de caso: embalse de Salto Grande. Laboratorio Tecnológico del Uruguay. *INNOTEC*, (16), 08-16.
- Long, B. M., Jones, G. J. y Orr, P. T. (2001). Cellular microcystin content in N-limited *Microcystis aeruginosa* can be predicted from growth rate [ El contenido de microcistina celular en *Microcystis aeruginosa* limitada en N se puede predecir a partir de la tasa de crecimiento]. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(1), 278-283. Con DOI: 10.1128/aem.67.1.278-283.2001
- Lyu, R., Gu, B., Zhang, T., y Yang, Z. (2021). Simultaneous removal of Cd (II), Ni (II), and Pb (II) from water by a submerged macrophyte pondweed (*Potamogeton malaianus*) [ Eliminación simultánea de Cd (II), Ni (II) y Pb (II) del agua por una alga macrófita sumergida (*Potamogeton malaianus*)]. *Water Environment Research*, 93(11), 2637-2647.

- Madigan, M.; Martinko, J. y Parker, J. (2003). *Brock. Biología de los microorganismos*. España: Pearson Educación.
- Martín G., D.A (2018.). Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. Laboratorio de Espectroscopia y Análisis Instrumental. *Revista de investigación agraria y ambiental*, 9(1), 81-104. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>
- Martínez, M. D. (2006). *Mecanismos fisicoquímicos de la degradación de la toxina microcistina* [Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://132.248.52.100:8080/xmlui/handle/132.248.52.100/978>
- Martínez, P. M. (2018). *Evaluación del potencial alelopático de la pajilla de arroz en el control de las floraciones algales producidas por Microcystis aeruginosa* (Kützing) [Tesis de grado, Universidad Católica Sedes Sapientiae]. <https://hdl.handle.net/20.500.14095/506>
- Mendoza, L. H. (2016). El género *Sphaerocavum* y dominancia de *S. brasiliense* y *Microcystis wesenbergii* (Microcystaceae, Cyanophyceae) en la floración algal de la laguna Huacachina, Perú. *Revista peruana de biología*, 23(1), 53-60.
- Montoya, H. (2014). Especies cianobacteriales, formadoras potenciales de floraciones en el lago Titicaca (Perú). *Arnaldoa*, 21(2), 381-39. DOI: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v23i1.11835>
- Moscoso C., K. (2021). *Evaluación de la toxicidad de alevines de "tilapia" Oreochromis niloticus L. expuestos a la cianobacteria Microcystis aeruginosa* (Kützing) procedentes el Humedal de Medio Mundo- Huaura [Tesis de grado, Universidad Católica Sedes Sapientiae]. <https://hdl.handle.net/20.500.14095/1122>
- Naranjo M., J (2016). *Evaluación de dos métodos para la obtención de extractos con actividad antioxidante a partir de Gulupa (Passiflora edulis Sims.) con aplicación en productos mínimamente procesados* [Tesis de grado, Universidad de la Salle]. <http://hdl.handle.net/10185/21263>

National Agricultural Library Agricultural Research Service United States Department of Agriculture (2007). *Glosario 2007*. <https://www.loc.gov/cds/desktop/documents/NAL-spa.pdf>

Nausfera. (2020). *Lemna minua*. <https://spain.inaturalist.org/taxa/59076-Lemna-minuta>

Nieto R., M.; García T., J.; Caltzontzin R., V.; Chávez J., R. y Estrada S., M (2018). Efecto de las condiciones de cultivo en la producción de fenoles, flavonoides totales y su capacidad antioxidante en el árnica (*Heterotheca inuloides*). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (21), 4296-4305.

Núñez, C. E. (2008). *Extracciones con equipos soxhlet*. <http://cenunez.com.ar/archivos/39-ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf>

Ochieng, W. A., Xian, L., Nasimiya, A. T., Muthui, S. W., Ndirangu, L. N., Otieno, D. O. y Liu, F. (2021). Exploring the ammonium detoxification mechanism of young and mature leaves of the macrophyte *Potamogeton lucens* [ Explorando el mecanismo de desintoxicación de amonio de las hojas jóvenes y maduras de la macrófita *Potamogeton lucens*]. *Aquatic Toxicology*, 237(), 105879. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105879>

Paerl, H.W., Gardner, W.S., Havens, K.E., Joyner, A.R., McCarthy, M.J., Newell, S.E., Qin, B. y Scott, J.T. (2014) Mitigating cyanobacterial harmful algal blooms in aquatic ecosystems impacted by climate change and anthropogenic nutrients [ Mitigación de la proliferación de algas nocivas causadas por cianobacterias en ecosistemas acuáticos afectados por el cambio climático y los nutrientes antropogénicos]. *Harmful Algae* 54(), 213–222.

Pakdel, F.; Sim, L Beardall, J.; y Davis, J (2013). Allelopathic inhibition of microalgae by the freshwater stonewort, *Chara australis*, and a submerged angiosperm, *Potamogeton crispus* [Inhibición alelopática de microalgas por la agripalma agua dulce, *Chara australis*, y una angiosperma sumergida, *Potamogeton crispus*]. *Aquatic Botany*. 110, 24-30.

Paz, L. E. (2019). *El rol de las macrófitas y los invertebrados para el diagnóstico y la rehabilitación de sistemas lóticos pampeanos* [Tesis Doctoral, Universidad Nacional de la Plata]. <https://doi.org/10.35537/10915/73282>

- Pelizer, L. H.; Carvalho, J.M.C; Sato, S. y Oliveira, I. (2002). *Spirulina platensis* growth estimation by pH determination at different cultivations conditions [ Estimación del crecimiento de *Spirulina platensis* mediante la determinación del pH en diferentes condiciones de cultivo]. *Electron J. Biotechnology*. 5(3), 17-18.
- Petinatti P., D.; Petinatti P., S.; Niehues, M. y Peporine L., N. (2012). Exogenous influences on plant secondary metabolite levels [ Influencias exógenas en los niveles de metabolitos secundarios de las plantas]. *Animal Feed Science and Technology*, 176 (1- 4), 5-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.002>
- Piñol, M.; Palazón, J. y Cusidó, R. M. (2013). Introducción al metabolismo secundario. En Azcón, J. y Talón, M. (Ed), *Fundamentos de fisiología vegetal* (pp. 330-337). España.
- Preston C.D. y Croft J.M. (1997). *Aquatic plants in Britain and Ireland*. New Phytologist [Plantas acuáticas en Gran Bretaña e Irlanda]. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00794.x>
- Real Academia Española [RAE] (2021). Inhibir. En *Diccionario de la lengua española* (23<sup>a</sup> ed.) consultado en: <https://dle.rae.es/inhibir>
- Rippka, R. (1988). Isolation and purification of cyanobacteria [ Aislamiento y purificación de cianobacterias]. *Cyanobacteria*. 167, 3-27. DOI: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(88\)67004-2](https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)67004-2) [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(88\)67004-2](https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)67004-2)
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., Herdman, M., y Stanier, R. Y. (1979). Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria [ Asignaciones genéricas, historias de cepas y propiedades de cultivos puros de cianobacterias]. *Journal of General Microbiology*. 110(2), 1-61. DOI: 10.1099/00221287-111-1-1
- Rippka R., Waterbury J.B. y Stanier R.Y. (1981) Isolation and Purification of Cyanobacteria: Some General Principles [ Aislamiento y purificación de cianobacterias: algunos principios generales]. En M.P. Starr; H. Stolp; H.G. Trüper; A. Balows y h.g. Schlegel (Ed.), *The Prokaryotes* [Los procariotas] (pp. 212-220). Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-13187-9\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-662-13187-9_8)

- Rosso; L. y Giannuzzi; L. (2017). Factores ambientales y antropogénicos que afectan la formación de floraciones de cianobacterias y cianotoxinas. En T. Petcheneshsky; L. Giannuzzi; M. Hansen; A. Aguilera... (Ed.), *Cianobacterias como determinantes ambientales de la salud* (pp. 79-93). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- Sánchez, A. y Gonzales, M. (2007). Técnicas de recolecta y herborización de plantas. En Contreras, R.; Goyenechea, I.; Cuevas, C. e Iturbe; U. (Ed.), *La Sistemática, base del conocimiento de la biodiversidad*. (pp. 123-133). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- Sánchez, H. (2014). *Cultivo de spirulina platensis (gomont) geitler en fast biol T20 para obtención de biomasa como fuente alternativa de proteína* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos].
- Secretaría de la Convención de Ramsar. (2006). Manual de la Convención de Ramsar: Guía a la Convención sobre los Humedales. Gland, Suiza.
- Sivonen, K. (1990). Effects of light, temperature, nitrate orthophosphate, and bacteria on growth and hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhii* strains [ Efectos de la luz, la temperatura, el nitrato, el ortofosfato y las bacterias sobre el crecimiento y la producción de hepatotoxinas por cepas de *Oscillatoria agardhii*]. *Appl Environ Microbiol.* 56(9), 2658–2666. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/ppmc/articles/PMC184825/?page=1>
- Smayda, T. J. (1997). Harmful algal Blooms: Their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea [ Floraciones de algas nocivas: su ecofisiología y relevancia general para las floraciones de fitoplancton en el mar]. *Limnology and Oceanography.* 42 (5), 1137-1153. <http://www.theodorejsmayda.org/download/-95.pdf>
- Solano J., R. (2018). *Determinación del efecto alelopático del extracto de Oryza sativa L. sobre el crecimiento de cianobacterias productoras de toxinas* [Tesis de postgrado, Instituto Mexicano de Tecnología del Agua]. <http://hdl.handle.net/20.500.12013/2009>
- Stefouli, M., Dimitrakopoulos, D., Papadimitrakis, J. y Charou, E. (2005). Monitoring and assessing internal waters (lakes) using operational space born and field measures [ Monitoreo y evaluación de aguas internas (lagos) utilizando medidas operativas de campo

y de espacio]. *European Water Publications*. 9(10), 25-33.  
[https://www.ewra.net/ew/pdf/EW\\_2005\\_9-10\\_03.pdf](https://www.ewra.net/ew/pdf/EW_2005_9-10_03.pdf)

Takeda, F., Nakano, K., Nishimura, O., Shimada, Y., Fukuro, S., Tanaka, H., Hayashi, N. y Inamori Y. (2011). Allelopathic potential of *Potamogeton pusillus* community against *Microcystis aeruginosa* [Potencial alelopático de la comunidad de *Potamogeton pusillus* frente a *Microcystis aeruginosa*]. *Journal of Water and Environment Technology*, 9 (1), 21-28. Doi: 10.2965/jwet.2011.21.

Thurman, E. M. (1985). *Organic geochemistry of natural waters* [Geoquímica orgánica de aguas naturales]. Holland, Dordrecht: Springer Science Business Media.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos. (2014). *Métodos de colecta, identificación y análisis de comunidades biológicas: plancton, perifiton, bentos (macroinvertebrados) y necton (peces) en aguas continentales del Perú*. Museo de Historia Natural, Departamento de Limnología, Departamento de Ictiología: Ministerio del Ambiente. Lima, Perú.

Ward, D. M., Ferris, M. J., Nold, S. C., Kopczynski, E., D. y Ruff, A. L. (1994). Species diversity in hot spring microbial mats as revealed by both molecular and enrichment culture approaches relationship between biodiversity and community structure [Diversidad de especies en mantos microbianos de aguas termales, según lo revelan los enfoques de cultivo tanto molecular como de enriquecimiento. Relación entre la biodiversidad y la estructura de la comunidad.]. *Microbial Mats*, 35 (), 33-44.

Waterhouse, A. (2002). *Determination of Total Phenolics* [Determinación de Fenoles Totales]. University of California, United States.

Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH (2016). *Manual de análisis de fotometría. Photoflex STD. Práctica y normas de análisis. Programa V 2.06 W*.

Yaisys, B. (2006). La utilización de la aleopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas. *Cultivos Tropicales*. 27(3), 5-16. <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193215825001.pdf>

## TERMINOLOGÍA

**Actividad fenólica.** Es la actividad de las sustancias químicas o metabolitos secundarios conocidos como fenoles que tienen ciertas propiedades e influyen en el crecimiento o desarrollo de ciertas especies afectando la actividad enzimática, fotosintética, ADN, estructura celular, respiración celular (Solano, 2018).

**Alelopatía.** Término utilizado para definir al fenómeno de liberación de una sustancia química de una planta que ocasiona un efecto en otra (Yaisys, 2006).

**Aleloquímico.** Son compuestos químicos o metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas y que al interactuar con el medio tiene un efecto positivo o negativo sobre las plantas, hongos, bacterias, animales, etc. Y a la vez desempeñan funciones biológicas y ecológicas (Anaya, 1989).

**Bloom.** Término en inglés que hace referencia a las floraciones algales, específicamente al fenómeno natural de crecimiento acelerado de cianobacterias (Smayda, 1997).

**Cocultivo.** Es una técnica de cultivo que consiste en combinar dos o más microorganismos in vitro, la cual genera interacciones antagónicas o sinérgicas (National Agricultural Library Agricultural Research Service United States Department of Agriculture, 2007).

**Cianobacterias.** Las cianobacterias son unos de los organismos más antiguos del planeta, los cuales contienen en su estructura clorofila que les permite realizar la fotosíntesis. Son conocidos como algas verdes-azules. Poseen características comunes con otras bacterias y también con algas eucariotas, lo que los hace únicos en cuanto a su fisiología. Es tolerante a condiciones extremas y tiene una gran flexibilidad adaptativa a diferentes lugares de todo el mundo (aguas saladas, salobres, estuarios, termales) (Bonilla, 2009 y Ward *et al.*, 1994).

**Eutrofización.** Se denomina eutrofizado a los lugares (lagos, lagunas, embalses, *etc.*) que se encuentran con gran cantidad de nutrientes (Nitrógeno, Fósforo, Carbono, *etc.*) lo que genera la

proliferación masiva de cianobacterias (Stefouli *et al.*, 2005). Muchos de los lugares eutrofizados se han dado origen debido a diferentes actividades antropogénicas.

**Extracto alcohólico.** Sustancia obtenida por extracción de la materia prima la cual utiliza alcohol para extraer las sustancias o principio activo de una planta. Esto puede actuar como fungicida, repelente o inhibidor de crecimiento de otras especies dependiendo del tipo de especie a utilizar (Caldas, 2012).

**Fenol.** Son compuestos orgánicos, que se encuentran presentes en aguas naturales, resultado de la descomposición de materia orgánica, muchos de ellos presentes en macrófitas. (Thurman, 1985).

**Fitorremediación.** Es un proceso eficiente que utiliza la capacidad que tienen las plantas para absorber, remover, bioacumular, eliminar contaminantes sin afectar al medio ambiente (Kelley *et al.*, 2000).

**Floración algal.** Es un fenómeno de crecimiento acelerado de cianobacterias que está estrechamente relacionado con el incremento de nutrientes en las aguas continentales y marino costeras. Esto está generando un impacto negativo al ecosistema (Carreto *et al.*, 2008).

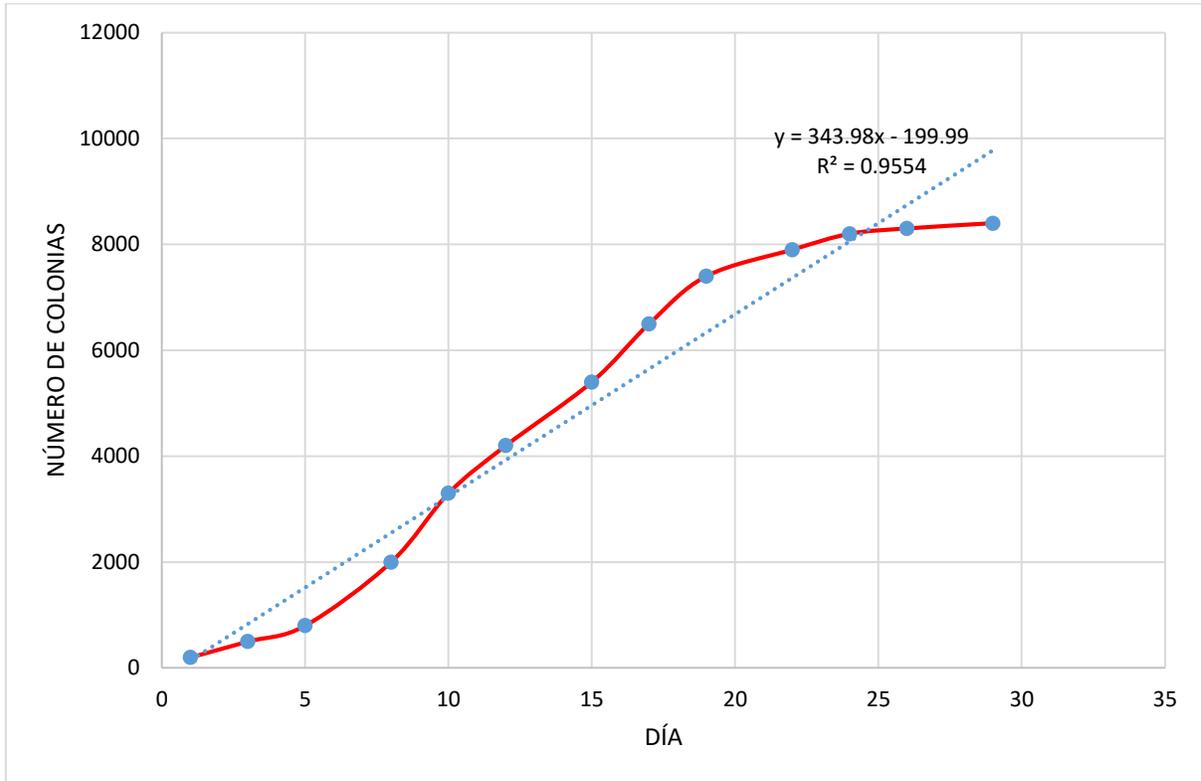
**Inhibir.** “Suspender transitoriamente una función o actividad del organismo mediante la acción de un estímulo adecuado” (Real Academia Española [RAE], 2021).

**Macrófito.** También conocido como plantas acuáticas. Estos organismos juegan un papel importante en la constitución de los ecosistemas acuáticos. Las plantas acuáticas suelen ser utilizadas como bioindicadores dado que son una especie muy susceptible a los cambios de pH, salinidad, temperatura, nutrientes, etc. (García *et al.*, 2010).

# APÉNDICES

## Apéndice 1

### Curva de crecimiento de colonias de *Microcystis aeruginosa* en 1 mL



## Apéndice 2

**Determinación de concentración de fenoles (mg/L) de los extractos obtenidos. Los valores corresponden a promedios y desviación estándar**

EXTRACTOS		
	<i>Potamogeton striatus</i>	<i>Lemna minuta</i>
RÉPLICA 1	14,08	4,62
RÉPLICA 2	14,59	4,61
RÉPLICA 3	13,59	4,91
PROMEDIO ± D.E.	<b>14,09 ± 0,50</b>	<b>4,71 ± 0,17</b>

## Apéndice 3

**Registro de cantidad de colonias de *Microcystis aeruginosa* contabilizada en 10 µL. Los valores corresponden a promedios y desviación estándar**

DIA	N° COLONIAS EN µL			Promedios ± D.E.
	RÉPLICA 1	RÉPLICA 2	RÉPLICA 3	
1	3	1	2	2 ± 1,00
3	7	5	3	5 ± 2,00
5	10	8	6	8 ± 2,00
8	27	16	17	20 ± 6,08
10	27	33	39	33 ± 6,00
12	41	47	38	42 ± 4,58
15	55	59	48	54 ± 5,57
17	65	72	58	65 ± 7,00
19	73	67	82	74 ± 7,55
22	73	81	83	79 ± 5,29
24	85	81	80	82 ± 2,65
26	87	81	78	82 ± 4,58
29	80	77	95	84 ± 9,64

#### Apéndice 4

**Concentración de clorofila (mg/L) de los diferentes tratamientos de cada extracto evaluado. Los datos corresponden a los promedios y las desviaciones estándares**

**Tabla 4.1**

*Concentración de clorofila (mg/L) para los extractos de Potamogeton striatus*

ESPECIE	TRATAMIENTO	DIAS					
		1	3	6	8	10	13
<i>Potamogeton striatus</i>	T1	3,888±0,00	1,946±1,32	3,545 ±0,43	4,332±0,49	4,610±0,20	2,803±0,24
	T2	3,888±0,00	2,363±0,07	3,753±0,39	4,819±0,26	4,842±0,34	2,687±0,41
	T3	3,888±0,00	2,317±0,66	3,869±0,21	4,703±0,14	5,097±0,56	3,985±0,38
	T4	3,888±0,00	2,479±1,05	3,406±0,28	5,004±0,14	5,653±0,40	4,772±0,21
CONTROL	T0	3,888±0,00	7,124±0,15	8,271±0,00	9,105±0,00	10,356±0,00	11,607±0,00

**Tabla 4.2**

*Concentración de clorofila (mg/L) para los extractos de Lemna minuta*

ESPECIE	TRATAMIENTO	DIAS					
		1	3	6	8	10	13
<i>Lemna minuta</i>	T5	3,888±0,00	1,807±0,28	4,796±0,24	3,962±0,42	3,985±0,86	2,294±0,43
	T6	3,888±0,00	1,853±0,17	4,981±0,70	4,216±0,74	4,471±0,42	3,846±0,53
	T7	3,888±0,00	2,108±0,46	5,769±0,43	4,332±0,22	6,209±0,08	5,027±0,07
	T8	3,888±0,00	2,595±0,26	5,491±0,21	5,027±0,20	6,487±0,28	5,630±0,50
CONTROL	T0	3,888±0,00	7,124±0,15	8,271±0,00	9,105±0,00	10,356±0,00	11,607±0,00

## Apéndice 5

### Estimación de colonias de *Microcystis aeruginosa* presente por mL en cada tratamiento

ESPECIE	TRATA MIENTO	Colonias de <i>Microcystis aeruginosa</i> en mL (días)					
		1	3	6	8	10	13
<i>Potamogeton striatus</i>	T1	8000	4004	7293	8914	9486	5768
	T2	8000	4862	7722	9915	9963	5529
	T3	8000	6674	9915	11822	12394	10106
	T4	8000	8914	11107	12155	13395	11536
<i>Lemna minuta</i>	T5	8000	3718	9867	8151	8199	4719
	T6	8000	3813	10249	8676	9200	7913
	T7	8000	6245	11869	11107	14491	12727
	T8	8000	7246	11297	12394	15111	13538
CONTROL	T0	8000	14658	17017	18734	21308	23882

## Apéndice 6

### Determinación del porcentaje de inhibición de crecimiento, estimado en función del número de colonias presentes en el medio en comparación del control

ESPECIE	TRATA MIENTO	INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO ( % )					
		1	3	6	8	10	13
<i>Potamogeton striatus</i>	T1	0,00	72,68	57,14	52,42	55,48	75,85
	T2	0,00	66,83	54,62	47,07	53,24	76,85
	T3	0,00	54,47	41,74	36,90	41,83	57,68
	T4	0,00	39,19	34,73	35,11	37,14	51,70
<i>Lemna minuta</i>	T5	0,00	74,63	42,02	56,49	61,52	80,24
	T6	0,00	73,98	39,78	53,69	56,82	66,87
	T7	0,00	57,40	30,25	40,71	31,99	46,71
	T8	0,00	50,57	33,61	33,84	29,08	43,31

## Apéndice 7

### Análisis de la varianza ( $p \leq 0.05$ ) para la concentración de clorofila para cada muestra evaluada

**Tabla 7.1**

*Concentración de clorofila (mg/L) para Potamogeton striatus. Los datos corresponden a los promedios y las desviaciones estándares*

ANOVA

**CLOROFILA (*Potamogeton striatus*)**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	92,109	4	23,027	10,011	<0,001
Dentro de grupos	57,506	25	2,300		
Total	149,615	29			

**Tabla 7.2**

*Concentración de clorofila (mg/L) para Lemna minuta Los datos corresponden a los promedios y las desviaciones estándares*

ANOVA

**CLOROFILA (*Lemna minuta*)**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	90,156	4	22,539	7,884	<0,001
Dentro de grupos	71,469	25	2,859		
Total	161,625	29			

## Apéndice 8

### Prueba de Tukey y ANOVA aplicada al porcentaje de inhibición de crecimiento para los tratamientos de *Potamogeton striatus*

**Tabla 8.1**

*Prueba de ANOVA para inhibición de crecimiento para tratamientos de Potamogeton striatus*

ANOVA					
% INHIBICION	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1793,699	3	597,900	6,152	0,006
Dentro de grupos	1554,894	16	97,181		
Total	3348,594	19			

**Tabla 8.2**

*Prueba de Tukey para inhibición de crecimiento para tratamientos de Potamogeton striatus*

% INHIBICION				
HSD Tukey <sup>a</sup>				
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	
T4	5	39,5740		
T3	5	46,5240	46,5240	
T2	5		59,7220	
T1	5		62,7140	
Sig.		0,686	0,082	

## Apéndice 9

### Prueba de Tukey y ANOVA aplicada al porcentaje de inhibición de crecimiento para los tratamientos de *Lemna minuta*

**Tabla 9.1**

*Prueba de ANOVA para inhibición ce crecimiento para tratamientos de Lemna minuta*

% INHIBICION					
ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2259,248	3	753,083	5,015	<b>0,012</b>
Dentro de grupos	2402,771	16	150,173		
Total	4662,019	19			

**Tabla 9.2**

*Prueba de Tukey para inhibición ce crecimiento para tratamientos de Lemna minuta*

% INHIBICION				
HSD Tukey <sup>a</sup>				
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	
T8	5	38,0820		
T7	5	41,4120	41,4120	
T6	5	58,2280	58,2280	
T5	5		62,9800	
Sig.		0,082	0,058	

## Apéndice 10

**Coefficiente de correlación lineal de Pearson entre los valores de Clorofila, temperatura, conductividad, pH, fósforo total, nitrógeno total y el porcentaje de inhibición de crecimiento para los tratamientos de *Potamogeton striatus***

		COLORO FILA	TEMPERA TURA	CONDUCTI VIDAD	PH	FOSFO RO	NITRO GENO	% INHIBI CION
CLORO FILA	Correlación de Pearson	1						
	Sig. (bilateral)							
	N	10						
TEMPERA TURA	Correlación de Pearson	-0,343	1					
	Sig. (bilateral)	0,331						
	N	10	10					
CONDUC TIVIDAD	Correlación de Pearson	0,410	-0,928**	1				
	Sig. (bilateral)	0,239	0,000					
	N	10	10	10				
PH	Correlación de Pearson	-0,412	0,708*	-0,509	1			
	Sig. (bilateral)	0,236	0,022	0,133				
	N	10	10	10	10			
FÓSFORO	Correlación de Pearson	0,875**	-0,608	0,624	-0,447	1		
	Sig. (bilateral)	0,001	0,062	0,054	0,195			
	N	10	10	10	10	10		
NITROGE NO	Correlación de Pearson	-0,392	0,976**	-0,954**	0,628	-0,677*	1	
	Sig. (bilateral)	0,262	0,000	0,000	0,052	0,032		
	N	10	10	10	10	10	10	
% INHIBI CION	Correlación de Pearson	-0,651*	-0,051	0,191	0,450	-0,448	-0,060	1
	Sig. (bilateral)	0,041	0,889	0,596	0,192	0,194	0,869	
	N	10	10	10	10	10	10	10

\*\* La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral)

\* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral)

## Apéndice 11

**Coefficiente de correlación lineal de Pearson entre los valores de Clorofila, temperatura, conductividad, pH, fósforo total, nitrógeno total y el porcentaje de inhibición de crecimiento para los tratamientos de *Lemna minuta***

		TEMPERA TURA	CONDUCTI VIDAD	PH	FOSFO RO	NITRO GENO	% INHIBI CION	CLORO FILA
TEMPERA TURA	Correlación de Pearson	1						
	Sig. (bilateral)							
	N	10						
CONDUCTI VIDAD	Correlación de Pearson	-0,922**	1					
	Sig. (bilateral)	0,000						
	N	10	10					
PH	Correlación de Pearson	0,760*	-0,573	1				
	Sig. (bilateral)	0,011	0,083					
	N	10	10	10				
FOSFO RO	Correlación de Pearson	-0,601	0,651*	-0,539	1			
	Sig. (bilateral)	0,066	0,041	0,108				
	N	10	10	10	10			
NITROGE NO	Correlación de Pearson	0,972**	-0,955**	0,642*	-0,648*	1		
	Sig. (bilateral)	0,000	0,000	0,045	0,043			
	N	10	10	10	10	10		
%INHIBI CION	Correlación de Pearson	0,242	-0,071	0,670*	-0,605	0,147	1	
	Sig. (bilateral)	0,500	0,845	0,034	0,064	0,685		
	N	10	10	10	10	10	10	
CLORO FILA	Correlación de Pearson	-0,384	0,483	-0,472	0,913**	-0,417	-0,672*	1
	Sig. (bilateral)	0,273	0,157	0,169	0,000	0,231	0,033	
	N	10	10	10	10	10	10	10

\*\* . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral)

\* . La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral)

## Apéndice 12

### Constancia de identificación de especie correspondiente a muestra de *Potamogeton striatus* obtenida del humedal Albufera de Medio Mundo



#### CONSTANCIA N°-004-2022-USM-HN

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta acuática fértil), recibida de **Nataly Cristina POLICARPO MORALES**; egresada de la UNIVERSIDAD CATOLICA SEDES SAPIENTIAE ha sido estudiada y clasificada como: ***Potamogeton striatus*** Ruiz & Pav. Y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de APG IV (2016).

**ORDEN: ALISMATALES**

**FAMILIA: POTAMOGENACEAE**

**GENERO: *Potamogeton***

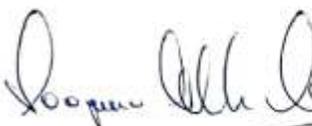
**ESPECIE: *Potamogeton striatus* Ruiz & Pav.**

Nombre vulgar: "potamogeton"

Determinado por: Blgo. Severo Baldeón Malpartida

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 06 de febrero de 2022

  
**Dra. Joaquina Albán Castiella**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS



JAC/ddb

**Apéndice 13**  
**Registro fotográfico**

**Figura 24**

*Toma de muestra de cianobacterias en Humedal Albufera Medio Mundo*



**Figura 25**

*Preparación de medio de cultivo BG-11 (1) y distribución en matraces para crecimiento de *Microcystis aeruginosa* (2)*



**Figura 26**

*Monocultivo de Microcystis aeruginosa obtenido del humedal (1) y crecimiento de Microcystis aeruginosa en matraces para facilitar crecimiento (2)*



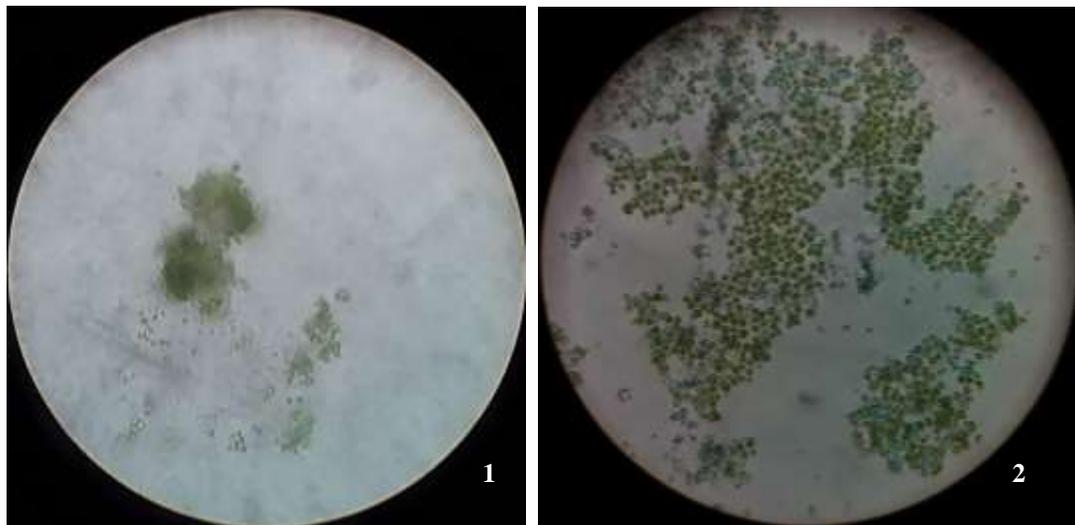
**Figura 27**

*Toma de muestra en placa Petri (1) y cuantificación de colonias en microscopio (2)*



**Figura 28**

*Colonias de Microcystis aeruginosa observadas al microscopio la primera (1) y última semana de conteo (2)*



**Figura 29**

*Acondicionamiento de muestras para obtención de extractos: preparación de Lemna minuta para secado (1) y proceso de secado en horno (2)*



**Figura 30**

*Preparación de cartucho de Lemna minuta para obtención de extractos (1) y pesado de cartucho preparado (2)*



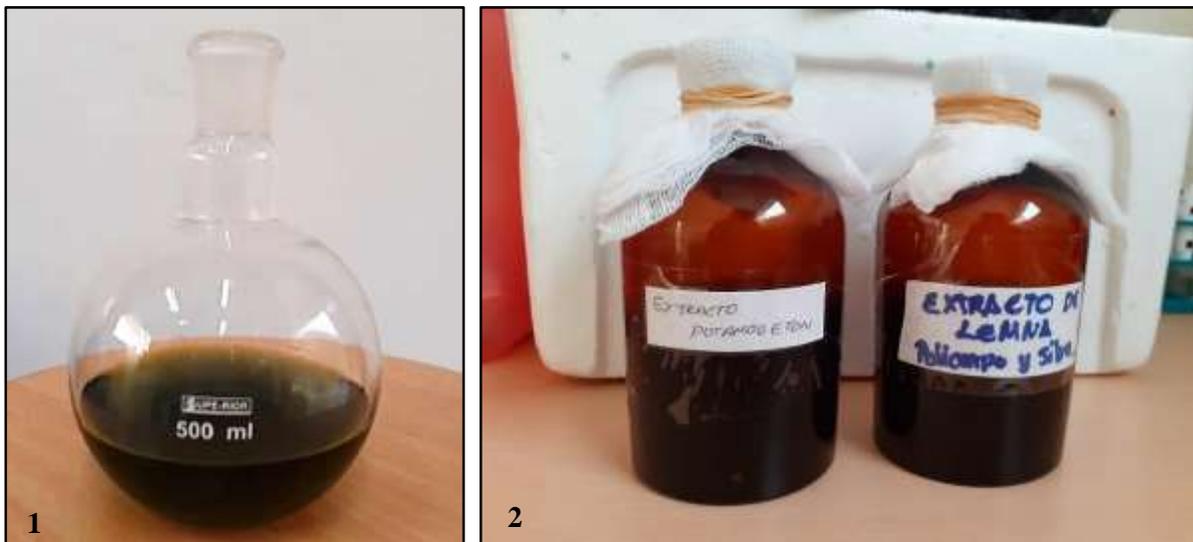
**Figura 31**

*Montaje de equipo Soxhlet para obtención de extractos*



### Figura 32

*Extracto obtenido de Lemna minuta (1) y su almacenamiento en recipientes ámbar hasta su uso (2)*



### Figura 33

*Preparación de diluciones de  $\text{CO}_2\text{Na}_2$  (1) para generación de curva de calibración para cuantificación de fenoles (2)*



### Figura 34

*Toma de datos de parámetros a muestra de agua inicial*



### Figura 35

*Preparación de la muestra principal( 1) y las diferentes disoluciones de Microcystis aeruginosa para tratamientos (2)*



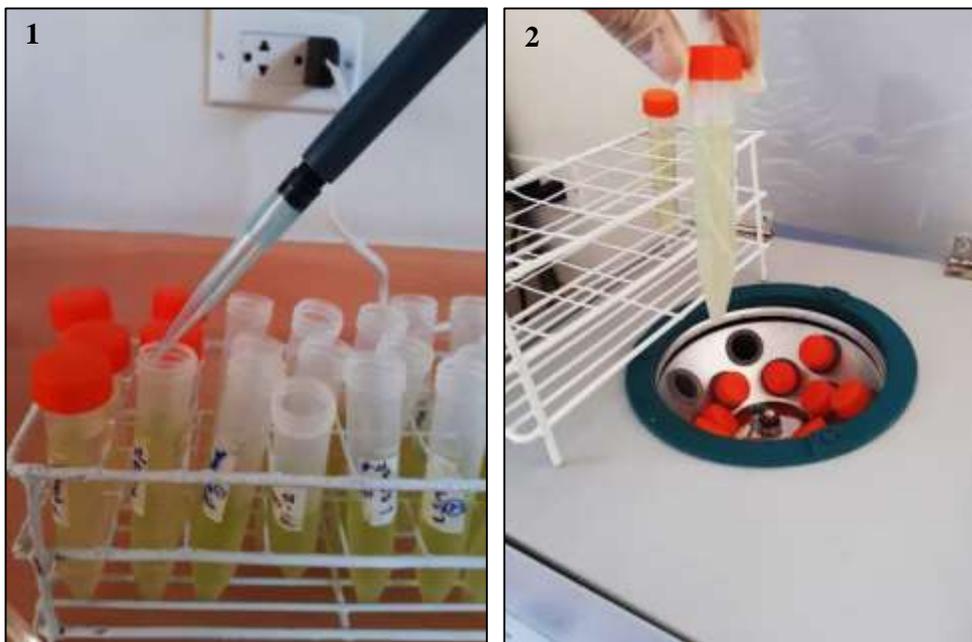
### Figura 36

*Preparación de disoluciones de los extractos obtenidos para su aplicación en los tratamientos según las concentraciones establecidas (1 y 2)*



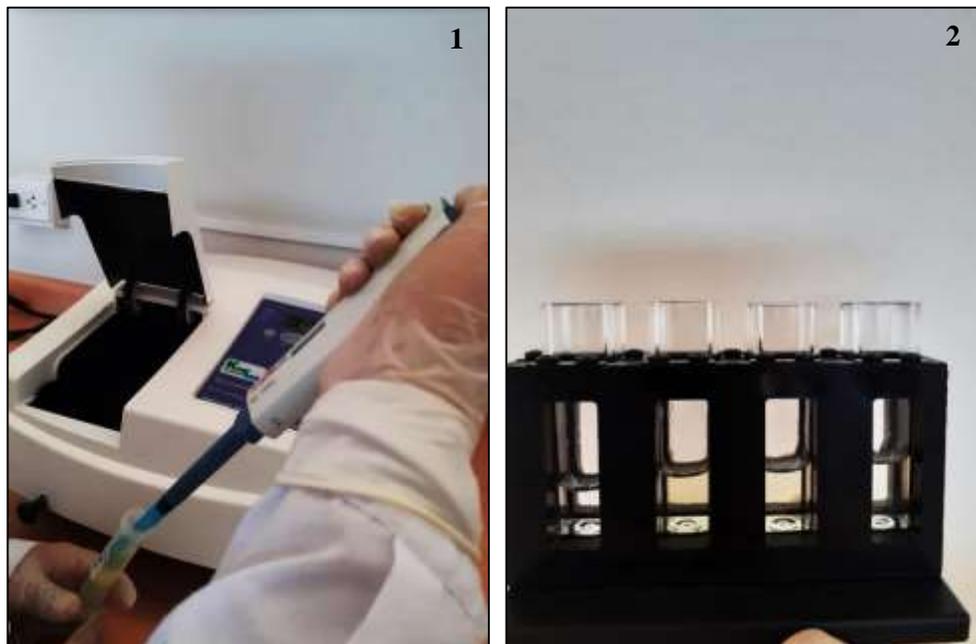
### Figura 37

*Procesamiento de muestras de los tratamientos para determinación de clorofila (1) y etapa de centrifugado para sedimentación de clorofila (2)*



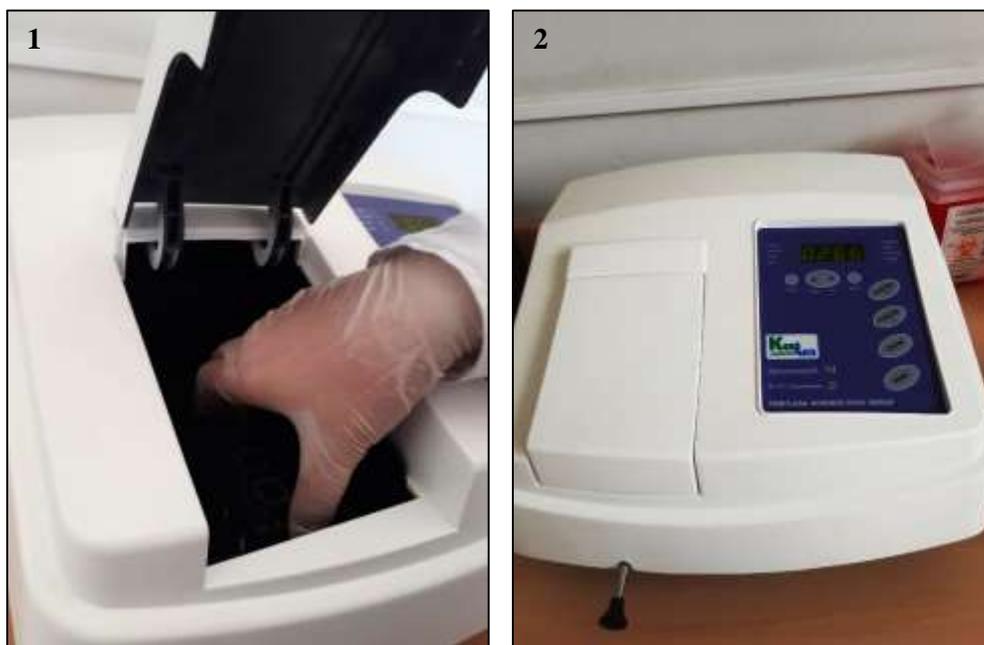
**Figura 38**

*Incorporación de muestras procesadas a viales para cuantificación de clorofila (1). Vista lateral de viales con muestras en el portacubetas del espectrofotómetro para toma de datos (2)*



**Figura 39**

*Colocado de portacubetas en el espectrofotómetro (1) y lectura de dato (2)*



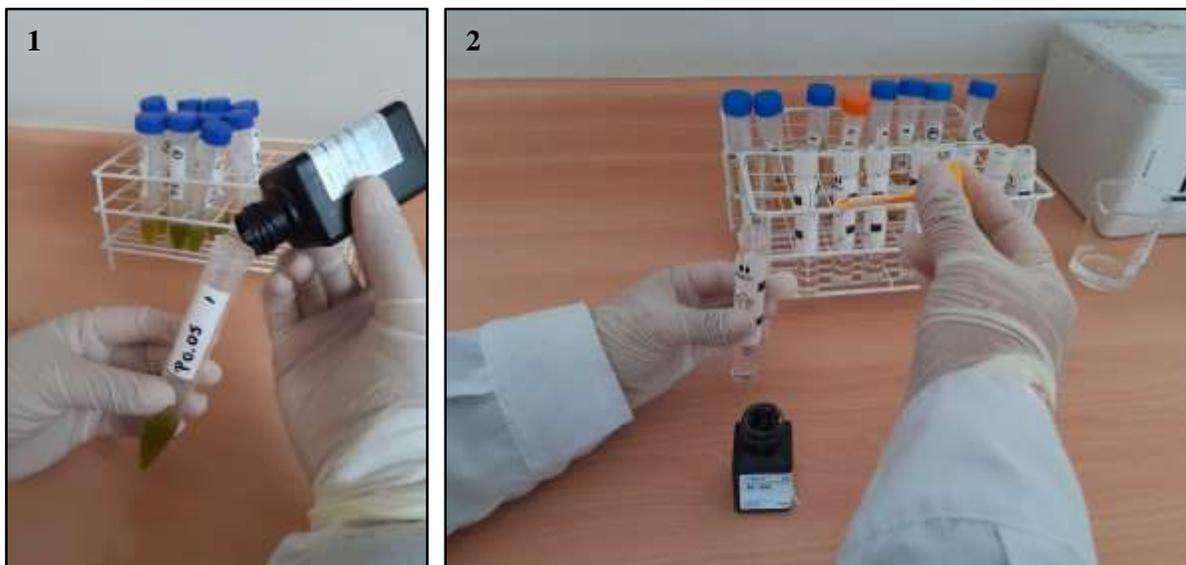
### Figura 40

Uso de equipo Multiparámetro para cuantificación de parámetros fisicoquímicos de cada uno de los tratamientos (1) y toma de datos obtenidos (2)



### Figura 41

Reparación de muestras para lectura en Espectrofotómetro Photoflex WTW® (1) de los parámetro de nitrógeno (2) y fósforo siguiendo por los tratamientos asignados para cada uno



**Figura 42**

*Lectura de muestras procesadas en Espectrofotómetro Photoflex WTW® para toma de datos de nitrógeno y fósforo respectivamente (1 y 2)*

