

UNIVERSIDAD CATÓLICA SEDES SAPIENTIAE
FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL



TESIS DE INVESTIGACIÓN

**“EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ALELOPÁTICO DE LA PAJILLA
DE ARROZ EN EL CONTROL DE LAS FLORACIONES ALGALES
PRODUCIDAS POR *Microcystis aeruginosa* (Kützing)”**

EJECUTOR:

Bach. PEDRO MOISES MARTINEZ ROBLES

ASESORA:

HEIDI ISABEL SÁNCHEZ TORRES

LIMA – PERÚ

2018

Dedicatoria

Dedicado a Dios y mi familia, quienes me apoyaron e impulsaron a conseguir mis objetivos y metas, enseñándome la importancia que tiene el estudio en el desarrollo y crecimiento de cada persona.

Agradecimientos

Agradezco a mis asesores de tesis, la Bióloga Heidi Isabel Sánchez Torres y el Biólogo Armando Chiclla Salazar, los cuales me orientaron, aconsejaron y asesoraron en todo el proceso de la tesis de investigación.

Agradezco a los docentes de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, los cuales me inculcaron y enseñaron los conocimientos teóricos y prácticos, permitiéndome desarrollar la tesis de investigación.

Agradezco a todos mis familiares y amigos, los cuales me aconsejaron e impulsaron a estudiar la carrera profesional de Ingeniería Ambiental.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
CARÁTULA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE APÉNDICES	xi
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCIÓN	xv
CAPÍTULO I: REVISIÓN DE LITERATURA	1
1. ANTECEDENTES	1
2. BASES TEÓRICAS ESPECIALIZADAS	7
2.1 Floraciones algales	7
2.2 Cianobacteria	8
2.3 <i>Microcystis aeruginosa</i>	9
2.4 Planta de arroz	10
2.4.1 Período Vegetativo	10
2.4.2 Morfología de la planta de arroz	11
2.4.3 Taxonomía de la planta de arroz	11
2.4.4 Fisiología de la planta de arroz	12
2.5 Pajilla de arroz	14
2.6 Eutrofización	15
2.7 Alelopatía	16
2.8 Factores para el crecimiento de las cianobacterias	16
2.8.1. Disponibilidad de luz	17
2.8.2. Salinidad	17
2.8.3. pH	17
2.8.4. Oxígeno	18

2.8.5. Temperatura	18
2.8.6. Disponibilidad de nutrientes	19
2.8.7. Cianotoxinas	22
2.8.8. Tipos de cianotoxinas, modos de acción y efectos	23
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	26
1. Área de Estudio.	26
2. Materiales	27
2.1. Material biológico	27
2.2. Otros materiales	27
3. Descripción del Experimento	27
3.1. Determinación taxonómica de la cianobacteria	27
3.2. Toma de muestra del efluente	28
3.3. Preparación de la pajilla de arroz	29
3.4. Cultivo y obtención de la biomasa	31
3.5. Cinética Química de la <i>Microcystis aeruginosa</i>	33
3.6. Caracterización de la inhibición del crecimiento de <i>M. aeruginosa</i>	35
3.7. Análisis fisicoquímico de las muestras	35
3.7.1 Evaluación de la temperatura en los tratamientos	35
3.7.2 Evaluación del nitrógeno total (NT)	35
3.7.3 Evaluación del fósforo total (PT)	36
3.7.4 Evaluación del potencial de hidrógeno en los tratamientos	36
3.7.5 Cálculo del ratio NT/PT en los tratamientos.	36
3.8. Tratamientos Experimentales	37
3.9. Diseño Estadístico del Experimento	39
4.0. Unidades Experimentales	39
4.1. Análisis estadístico de los Datos	39
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
1. RESULTADOS	40
1.1 Caracterización de la Cianobacteria	40
1.2 Crecimiento de <i>M. aeruginosa</i> en el Medio BG11 Durante el Experimento	41

1.3 Efecto Inhibidor de la Pajilla de Arroz sobre el cultivo de <i>M. aeruginosa</i>	43
1.4 Actividad Alelopática	44
1.5 Variación de la Concentración de Nitrógeno Total y Fósforo Total	46
1.6 Variación de la Concentración de pH, Conductividad y Ratio NT/PT	50
2. DISCUSIÓN	54
CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES	59
REFERENCIAS	60
TERMINOLOGÍA	70
APÉNDICES	72

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. <i>Clasificación taxonómica de la especie <i>Microcystis aeruginosa</i>.</i>	10
Tabla 2. <i>Condiciones experimentales para los ensayos aleopáticos de la pajilla de arroz sobre <i>M. aeruginosa</i>.</i>	29
Tabla 3. <i>Composición del medio de Cultivo BG11.</i>	31
Tabla 4. <i>Solución de micronutrientes</i>	32
Tabla 5. <i>Tratamientos del experimento</i>	38
Tabla 6. <i>Características geométricas y parámetros cinéticos del crecimiento durante La fase exponencial de <i>Microcystis aeruginosa</i> en medio BG11</i>	40
Tabla 7. <i>Valores promedio de la cantidad de colonias de <i>M. aeruginosa</i> en los diferentes tratamientos por las 4 semanas.</i>	44
Tabla 8. <i>Valores promedio de la actividad alelopática de la pajilla de arroz sobre colonias de <i>M. aeruginosa</i> en los diferentes tratamientos por las 4 semanas. Los resultados son los promedios de tres réplicas más la desviación estándar.</i>	45
Tabla 9. <i>Análisis de la varianza de la actividad alelopática según el aumento Entre las semanas y tratamientos.</i>	45
Tabla 10. <i>Registro semanal promedio de las concentraciones de nitrógeno total Con las desviaciones estándares de los tratamientos y el control .</i>	47
Tabla 11. <i>Análisis de la varianza de las concentraciones de nitrógeno total en las semanas y en los tratamientos</i>	48

Tabla 12. <i>Registro semanal promedio de las concentraciones de fósforo total con las desviaciones estándares (\pm DS) de los Tratamientos y el control.</i>	49
Tabla 13. <i>Análisis de la varianza de las concentraciones de fósforo total en las semanas y en los tratamientos.</i>	50
Tabla 14. <i>Valores promedio de pH obtenidos de los distintos tratamientos en las 4 semanas \pm DS.</i>	51
Tabla 15. <i>Valores de los ratios obtenidos NT/PT</i>	52

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Morfología de la cianobacteria (Madigan, M., Martinko, J., Parker, J. 1999).	9
Figura 2. Partes vegetativas de la planta de arroz (Cárdenas y Reinoso, 2011)	13
Figura 3. Corte transversal de un grano de arroz (Juliano, 1994).	14
Figura 4. Metabolismo del carbono en las cianobacterias (Smith,1983)	20
Figura 5. Vías metabólicas para la producción química en cianobacterias (Oliver & Atsumi , 2014).	21
Figura 6. Ubicación de la toma de muestra del efluente en el humedal Albúferas de Medio Mundo, Huacho-Lima	26
Figura 7. Aspecto del Humedal Albúferas de Medio Mundo (Huaura-Lima)	28
Figura 8. Esterilización de la pajilla de arroz en paquetes.	30
Figura 9. Unidades experimentales conteniendo efluentes de <i>Microcystis aeruginosa</i> y pajilla de arroz.	30
Figura 10. Mantenimiento del medio BG11 en ambientes estériles a condiciones Normales.	32
Figura 11. Determinación de la cinética de crecimiento de la cianobacteria con la Cámara de Sedwick Rafter.	34
Figura 12. Cuantificación del fósforo total mediante técnicas espectrofotométricas. Instrumento multiparamétrico Phootoflex WTW.	37

Figura 13. <i>Microcystis aeruginosa</i> aisladas de las aguas del humedal Albúferas de Medio Mundo (Huaura-Lima, Perú) (40X). Se detalla el radio, área y perímetro de la forma colonial.	41
Figura 14. Curva de crecimiento promedio de <i>Microcystis aeruginosa</i> aislada de aguas del humedal de Medio Mundo en medio de cultivo BG11 (25 días de cultivo).	42
Figura 15. Efecto de los tratamientos con pajilla de arroz sobre el cultivo de <i>M. aeruginosa</i> .	43
Figura 16. Gráfico de la actividad alelopática de la pajilla de arroz sobre colonias de <i>M. aeruginosa</i> en los diferentes tratamientos por las 4 semanas.	46
Figura 17. Resultados de los valores de nitrógeno total \pm DS (mg/L) en las 4 semanas evaluadas.	49
Figura 18. Resultado de los valores de fósforo total (mg/L) en las cuatro semanas evaluadas.	52
Figura 19. Resultado de los valores de conductividad (mS/cm) en las cuatro semanas evaluadas.	53
Figura 20. Resultado de los valores del ratio nitrógeno total/ fósforo total (mg/L) en las cuatro semanas evaluadas.	53

ÍNDICE DE APÉNDICES

	Pág.
APÉNDICE 1: REGISTRO DE LA CANTIDAD DE COLONIAS EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS Y SUS RÉPLICAS	72
APÉNDICE 2: PRUEBA DE NORMALIDAD DE VARIANZA Y ESTADISTICO LEVENE A LOS POBLACIONES DE <i>M. AERUGINOSA</i>	73
APÉNDICE 3: ANALISIS DE VARIANZA DE LAS POBLACIONES DE <i>M.</i> <i>AERUGINOSA</i> CON LOS TRATAMIENTOS.	74
APÉNDICE 4: PRUEBA DE TUKEY DE LA VARIACIÓN DE LA ACTIVIDAD ALELOPÁTICA.	74
APÉNDICE 5: PRUEBA DE TUKEY DE LA VARIACIÓN DEL NITRÓGENO TOTAL.	75
APÉNDICE 6: PRUEBA DE TUKEY DE LA VARIACIÓN DEL FÓSFORO TOTAL	76
APÉNDICE 7: ANALISIS DE VARIANZA DEL pH DE LOS TRATAMIENTOS	76
APÉNDICE 8: PRUEBA DE HOMEGENEIDAD DE LA VARIANZA DE CONDUCTIVIDAD, DE LA ACTIVIDAD ALELOPATICA, FÓSFORO TOTAL, NITRÓGENO TOTAL Y PH	77
APÉNDICE 9: ANALISIS DE LA VARIANZA DE CONDUCTIVIDAD	77

APÉNDICE 10: COEFICIENTES DE CORRELACIÓN LINEAL DE PEARSON (R) ENTRE LOS VALORES DE FÓSFORO TOTAL, NITRÓGENO TOTAL, CONDUCTIVIDAD, ACTIVIDAD ALELOPÁTICA, NÚMERO DE COLONIAS Y PH. SIGNIFICANCIA DE $P < 0.01$.	78
APÉNDICE 11: TABLA DE VALORES PROMEDIO DEL NÚMERO DE COLONIAS Y DÍAS TRASCURRIDOS (PROMEDIO \pm DS)	79
APÉNDICE 12: DIAGRAMA DE DISPERSIÓN Y RECTA DE REGRESIÓN ENTRE EL NUMERO DE COLONIAS Y DIAS TRASCURRIDOS ($r = 0.975$)	80

RESUMEN

Se evaluó el potencial alelopático de la pajilla de arroz como controlador de las floraciones algales producidas por la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* procedentes del humedal “Albúferas de Medio Mundo”, Huaura- Lima, las 2 estaciones de muestreo fueron localizadas entre las coordenadas geográficas UTM (1:206201,927; 8794040,787 y 2: 208334,497; 8790923,410).

La investigación se realizó durante un periodo de 60 días, durante los meses de noviembre a diciembre del 2016, en el laboratorio de ciencias de la Universidad Católica Sedes Sapientiae. La evaluación se realizó cada siete días y se aplicaron tres replicas tanto para el control como para los tres tratamientos. Los tratamientos consistieron en la aplicación del cultivo de *M. aeruginosa* en fase exponencial a porciones de 0,1, 1,0 y 10 gramos de pajilla de arroz picada. Se estudió la cinética de crecimiento de la cianobacteria, así como la inhibición de *M. aeruginosa* por la actividad alelopática de la pajilla de arroz. Se evaluó los parámetros físico-químicos como: pH, temperatura, nitrógeno total (NT), fósforo Total (PT) y crecimiento poblacional del alga. La cianobacteria *M. aeruginosa* generó valores del porcentaje de la actividad alelopática de hasta el 100 por ciento en la tercera y cuarta semana con el tratamiento tres. *Microcystis aeruginosa*, en su forma colonial, fue inhibido totalmente con concentraciones desde 1.0 gL^{-1} de la pajilla de arroz (*Oriza sativa*). Se determinó que la Actividad alelopática y la conductividad eléctrica son los parámetros que muestran mejores resultados por expresar mayores significancias y altas correlaciones. Se concluye que la pajilla de arroz es útil para controlar a las poblaciones de la cianobacteria tóxica *Microcystis aeruginosa*.

Palabras clave: *Microcystis aeruginosa*, alelopatía, humedal albuferas de Medio Mundo, *Oriza sativa*.

ABSTRACT

This research evaluates the allelopathic potential of the rice straw as a control of the algal blooms produced by the *Microcystis aeruginosa* cyanobacteria from the wetlands Albuferas de Medio Mundo, Huaura-Lima. The 2 sampling stations were located between the geographical coordinates UTM (1:206201,927; 8794040,787 y 2: 208334,497; 8790923,410).

The research was carried out during a period of 60 days, during the months of november and december of 2016, in the science laboratory of the University Católica Sedes Sapientiae. The evaluation was performed every seven days and three replicates were applied for both the control and the three treatments. The treatments consisted in the application of culture of *M. aeruginosa* in exponential phase to portions of 0.1, 1.0 and 10 g of chopped rice straw. The kinetics of cyanobacteria growth, as well as the inhibition of *M. aeruginosa* by the allelopathic activity of the rice straw were studied. Physical-chemical parameters such as pH, temperature, total nitrogen (NT), total phosphorus (PT) and algae population growth were evaluated. The cyanobacteria *M. aeruginosa* generated values of the percentage of allelopathic activity of up to 100 percent in the third and fourth week with treatment three. *Microcystis aeruginosa*, in its colonial form, was totally inhibited with concentrations from 1.0 gL⁻¹ of the rice straw (*Oriza sativa*). It was determined that allelopathic activity and electrical conductivity are the parameters that show better results because they express higher significance and high correlations. It is concluded that rice straw is useful to control the populations of the toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*.

Key words: *Microcystis aeruginosa*, allelopathy, wetland albuferas de Medio Mundo,

Oriza sativa.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se ha registrado que las floraciones masivas de cianobacterias son con frecuencia tóxicas en aguas dulces, salobres y marinas (Sivonen, 1996). Las actividades antrópicas son los principales causantes de la eutrofización de los cuerpos de agua y se considera como una de las principales y más importantes causas del incremento de estas floraciones algales (Hudnell y Dortch, 2008).

La floración de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* es comúnmente observada en lagos altamente eutróficos. Una de las cianotoxinas más tóxicas y preocupantes producida por esta cianobacteria es la microcistina. Esta hepatoxina ha sido la causa de numerosos envenenamientos de animales domésticos y de vida silvestre en todo el mundo, y también sugiere un peligro a la salud de los humanos a través del uso del agua para beber y la recreación (Adams et al., 1988). Estudios muestran que, en Europa, Asia y América, más de 40 por ciento de lagos y lagunas son eutróficos y por lo tanto sujetos a proliferaciones de cianobacterias (Bartram, 1999).

En grandes lagos oligotróficos de las regiones tropicales y zonas subtropicales del continente americano aparecieron recientemente varias floraciones especialmente la de la especie *Microcystis aeruginosa* (Montoya, 2014). En el Perú las floraciones de cianobacterias es un fenómeno recurrente reportándose en diversos tipos de aguas como lagos, lagunas recreativas, ríos y humedales costeros (Mendoza, 2016).

Hay muchos tipos de agentes químicos o compuestos sintéticos, incluyendo cobre, cloro, aluminio, calcio y el permanganato de potasio que se utiliza actualmente para controlar fitoplancton en lagos, embalses y estanques como alguicidas, sin embargo, tales químicos como el sulfato de cobre muestran efectos tóxicos en peces, ello también puede inducir la contaminación secundaria, mediante la liberación de fitotoxinas que generan riesgos potenciales para la salud (Montoya, 2014).

Las sustancias que se liberan a partir de la paja de arroz han sido empleadas como una nueva alternativa útil en el tratamiento de la proliferación de algas nocivas (Welch et al. 1990). Los primeros intentos de prevenir la formación de floraciones algales fue dispersar

la paja en el cuerpo de agua; sin embargo, el uso de paja de arroz requiere una gestión considerable a corto y largo plazo (Ridge & Pillinger, 1996).

Mientras que la inhibición de la actividad de algas por paja de arroz puede mostrarse fácilmente, la naturaleza de la actividad alelopática de la paja de arroz contra las algas aún es desconocida (Ridge & Pillinger, 1996). Se ha sugerido que los inhibidores algales que se producen del proceso oxidativo de la lignina, además de los compuestos fenólicos presentes en la planta inhibirían a las poblaciones de *Microcystis aeruginosa* (Ridge & Pillinger, 1996).

Por lo tanto, el uso de la paja de arroz puede ser una alternativa para controlar esta floración algal y minimizar los costos económicos y el uso sostenible de materiales a partir de residuos agrícolas.

El objetivo general de la presente investigación es evaluar el potencial alelopático de la pajilla de arroz como controlador de las floraciones algales producidas por la *Microcystis aeruginosa* (Kützing).

Objetivos Específicos:

- Cultivar y obtener biomasa de *Microcystis aeruginos* (Kützing).
- Identificar y cuantificar la actividad alelopática de la pajilla de arroz frente a las poblaciones de *Microcystis aeruginosa* (Kützing).
- Determinar los parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua y grado de correlación que existe entre ellas y la actividad alelopática de *Microcystis aeruginosa*

CAPÍTULO I: REVISIÓN DE LA LITERATURA

1. ANTECEDENTES

Pizzolon (1996), realizó un estudio sobre la contaminación de la laguna Willimanco (Argentina), donde se menciona la aparición de cepas tóxicas durante floraciones de cianobacterias y sus efectos sobre la salud humana, animales domésticos, el ganado y sobre los ecosistemas acuáticos en general. En esta investigación se identificó a las siguientes especies: *Microcystis*, *Anabaena*, y *Aphanizomenon*, las cuales han registrado incidentes de envenenamiento en distintas partes del mundo. Además, se mencionan factores ambientales que favorecen la producción de las floraciones, como la temperatura y el pH esencialmente y se presta atención en los procesos de eutrofización y la aparición de cepas tóxicas en la laguna. Se concluyó que es importante la identificación de los ambientes de riesgo y la coordinación de esfuerzos a distintos niveles, para detectar situaciones de peligro, advertir a la población y emprender técnicas que reduzcan la eutrofización.

Barrett et al. (1996) trataron un reservorio de suministro potable de 25 mil m² con una larga historia de floraciones de diatomeas en primavera y floraciones de cianobacterias en verano usando paja de cebada. Las especies estuvieron representadas por la diatomea *Asterionella* sp. y la cianobacteria *Anabaena* sp. En marzo del 1993 se introdujo siete toneladas de la pajilla en el embalse en tres sitios. La pajilla estaba contenida en redes de arrastre marino y apoyado por flotadores, esto reflejó una dosis aproximada de 38g de pajilla por m³. Se tomaron y analizaron muestras de agua para establecer el tipo de alga presente y la concentración de clorofila-a. Los resultados mostraron que el número de algas comenzó a caer en comparación con años anteriores. Las cianobacterias no desarrollaron y su número de células se mantuvo baja a lo largo de 1993 y 1994. Su Análisis químico del agua mostró que las concentraciones globales de geosmina y de otras moléculas orgánicas permanecieron dentro de límites aceptables durante el experimento. Ellos

propusieron que la paja de la cebada tiene ventajas potenciales a utilizarse en fuentes de aguas potables.

El efecto de la toxina microcistina liberada por *Microcystis aeruginosa* en Sudamérica fue evaluado inicialmente por De León y Yunes (2000). Ellos comunicaron el registro de esta toxina extraídas de las floraciones algales captadas del Rio de la Plata, Uruguay. La investigación se realizó tomando muestras del Rio de la Plata en el verano de 1999. El cuerpo de agua presentó valores promedio de pH de 8,3 y valores de transparencia de 15 y 30 cm en las dos estaciones evaluadas, temperaturas variables de 21 a 29 °C y valores de la proporción nitrógeno y fósforo (N: P) de 7:1. Durante el tiempo de monitoreo la cianobacteria *M. aeruginosa* fue la dominante entre los otros organismos hallados. A las muestras se le extrajo la clorofila como variable para ser comparada con las toxinas encontradas, sus valores encontrados fueron variables hasta 110 ug/L y las densidades de las cianobacterias hasta 6000 org/mL. Se evaluaron los niveles de microcistina siendo positivo en todas las muestras analizadas con valores de 101,7 a 1074,3 ug/g de toxina. Con los resultados los autores concluyen que las floraciones algales presentes en el Rio de la Plata constituye un riesgo potencial sanitario y estético para el ecosistema estudiado.

Ball et al. (2000), evaluaron el efecto del extracto de paja de cebada en la inhibición del crecimiento de algas en estanques de agua. El experimento consistió en coleccionar 20 litros de agua del lago Colchester, UK. Se aislaron e identificaron dos algas *Scenedesmus* y *Microcystis* sp. Se prepararon extractos de la paja de cebada a concentraciones de uno por ciento w/v, obteniendo como resultado valores de clorofila por debajo del nivel original ($40 \mu\text{g L}^{-1}$). Los autores también experimentaron con la paja de trigo, obteniendo resultados negativos, pues la biomasa de algas aumentó, alcanzando una clorofila final de $1,160 \mu\text{g L}^{-1}$. A nivel de laboratorio se analizó la paja de cebada utilizada, demostrando que el contenido de

su lignina había aumentado significativamente de 10 por ciento a 33 por ciento. De tal manera se demuestra que el extracto de cebada descompuesto es capaz de inhibir el crecimiento de microorganismos tóxicos en cuerpos de agua.

Park et al. (2006), realizaron un estudio que tuvo por objetivo inhibir el crecimiento y floración de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* usando un extracto de paja de arroz. La importancia del estudio radicó en la identificación de la paja de arroz como material eficaz para la inhibición del crecimiento de *M. aeruginosa*, como tratamiento biológico que permitiría controlar el florecimiento de algas de *M. aeruginosa* en aguas eutróficas. Para ello se utilizó el método del número de células de la cepa de algas *M. aeruginosa* UTEX 2388, lo cual disminuyó significativamente después del tratamiento con diferentes concentraciones (0,01; 0,1; 1 y 10 mg L⁻¹). El extracto de la paja de arroz se utilizó hasta un período de cultivo de ocho días. Se probaron siete sustancias aleloquímicos extraídos de la paja de arroz, siendo el ácido salicílico en una concentración de 0,1 mg L⁻¹ el que mostró la mayor actividad alelopática (26 por ciento) en el día ocho. Un efecto sinérgico en la inhibición del crecimiento de las algas se encontró al agregar dos o tres compuestos fenólicos de la paja de arroz. El crecimiento de *M. aeruginosa* fue inhibida por el extracto de paja de arroz con concentraciones que van de 0,01 a 10 mg L⁻¹. Esta actividad se debió a los efectos sinérgicos de diversos compuestos fenólicos en la paja de arroz.

Rajabi (2010), realizó un estudio experimental para determinar si la descomposición de la paja de cebada y la paja de arroz podrían ser utilizadas en el control del crecimiento de cianobacterias en cuerpos de agua. De la paja de cebada y arroz extrajo esencias que luego se liofilizaron y guardaron a -20°C. Estos extractos fueron aplicados a una gran variedad de cultivos algales en crecimiento exponencial que tuvieron como soporte al medio BG-11. Todos los frascos conteniendo la esencia liofilizada y la cianobacteria se sometieron a cámaras de crecimiento a 20°

C y fotoperiodos de 12 horas luz: 12 horas oscuridad en un periodo de 14 días con agitaciones de dos veces al día. También se analizó los parámetros físicoquímicos de pH, oxígeno disuelto y temperatura del agua. Se tomó como indicador del efecto alelopático el crecimiento de la biomasa de las cianobacterias. Los resultados muestran un crecimiento considerable de la biomasa en el tratamiento control y un decrecimiento de la biomasa con los extractos de pajilla de arroz y pajilla de cebada en las especies *M. aeruginosa*, *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Synura* y *Dinobryon sertularia*; mientras la especie *Scenedesmus sbsipicatus* no presenta diferencias significativas entre los tratamientos. El presente estudio demuestra que los extractos de cebada y paja de arroz suprimen el crecimiento de la gran mayoría de organismos estudiados en especial el crecimiento de *M. aeruginosa*.

Cobo (2014), realizó una revisión de literatura referente a los métodos de control de las proliferaciones masivas o floraciones de organismos fitoplanctónicos y entre ellos de las cianobacterias, las que representan un importante problema económico y ecológico en la gestión del agua y de los ecosistemas acuáticos. Explica que en todas las metodologías de control de las floraciones se desarrollan técnicas que están relacionadas con los factores que regulan la producción primaria; así, se busca la disminución de la entrada de nutrientes (fósforo y nitrógeno principalmente) a través del control de ingreso en las cuencas y directamente sobre los cuerpos de agua. Se menciona que los métodos de control de nutrientes pueden llevar cierta toxicidad o un elevado riesgo de acumulación en el sedimento de concentraciones de estos compuestos peligrosos pudiendo ser liberado en periodos posteriores. Los métodos mecánicos que incluyen el filtrado de los cuerpos de agua, las restricciones de luz a las cianobacterias, la agitación mecánica masiva y la ultrasonicación son metodologías que representan, para el autor, un costo elevado frente a los escasos resultados obtenidos, ya que reducen el problema durante periodos cortos. Además, son métodos poco precisos, pues afectan a la totalidad de fitoplancton. También se detalla los métodos biológicos que implican la utilización tanto de organismos como de materiales y sustancias naturales derivadas de ellos. Se consideró una gran

variedad de organismos acuáticos basándose en fenómenos de depredación, parasitismo o la liberación de metabolitos que suprimen el crecimiento de estas cianobacterias.

Montoya (2014), realizó una investigación de la situación actual del lago Titicaca, ubicado en la ciudad de Puno a 3 800 m.s.n.m, Perú. El objetivo fue identificar a las especies cianobacterianas que tienen presencia en las floraciones de la bahía, a causa de la influencia de los incrementos continuos de establecimientos humanos en las orillas y las actividades turísticas. Para ello se procedió a muestrear la bahía del lago con la ayuda de una red de plancton de 10 μ m, y se analizó parámetros iniciales como temperatura del agua que registro el valor de 10 a 20°C, el pH oscilo de 8 a 9, oxígeno disuelto, etc. Se identificaron especies de cianobacterias como: *Microcystis aeruginosa*, *Limnoraphis robusta*, *Nodularia inca*. *Schoenoplectus californicus*. Las cuales representan un peligro potencial por su intenso desarrollo en ambientes eutrofizados como el lago Titicaca.

Kieffer et al. (2015), desarrollaron ensayos en laboratorio para el control de floraciones algales mediante ultrasonido, para lo cual se extrajeron muestras de fitoplancton del lago Pedro Francisco Candiotti en Santa Fe, Argentina. Se detectaron floraciones de cianobacterias a los cuales se trató con ultrasonido para lo cual se usó un equipo sensor de ultra sonido, sumergido en el líquido a 2,0 cm. Los ensayos (tanto para analizar el decaimiento de las algas, como la degradación de clorofila) se hicieron por triplicado, sobre un volumen de 230 mL. Para las algas se extrajeron muestras de 5 mL a los 0, 5, 10, 20, 30, 45 y 60 minutos de tratamiento, fijándolas con lugol acético y efectuando los recuentos con microscopio invertido. Para clorofila a también se tomaron muestras de 5,0 ml a los mismos tiempos, realizando las determinaciones mediante extracto acetónico con espectrofotómetro. Se obtuvieron como resultado una reducción notoria en los primeros 5 minutos en las distintas familias de algas y al cabo de 60 minutos la reducción fue del 98 por

ciento para *Microcystis aeruginosa* y del 99 por ciento para *Dolichospermum spiroides*, mientras que las Bacillariophyceae persistieron durante toda la experiencia, posiblemente debido a la protección brindada por sus frústulos silíceos.

La presencia actual en el Perú de la cianobacteria *Microcystis* fue estudiada por Mendoza (2016). El autor realizó una investigación en la laguna Huacachina, el cual está ubicado a 4 km al sur oeste de la ciudad de Ica, Perú. El objetivo fue identificar especies de cianobacterias formadoras de floraciones algales. Para ello se colocaron 2 muestras de fitoplancton superficial en la laguna. Veinte litros de agua fueron filtrados con una red de plancton (20µm), y fijados con formalina al 2,0 por ciento. Las muestras fueron analizadas con un microscopio Nikon Eclipse E2000. Se procuró la observación de diferentes estadios coloniales para estudiar la variabilidad fenotípica de las especies. Los resultados reflejaron la identificación de dos especies pertenecientes a la familia *Microcystaceae*, los cuales dominaron en el fitoplancton de la laguna Huacachina: *Sphaerocavum brasiliense* y *Microcystis wesenbergii*, con esto se amplía el registro de estas especies sin descartar a *M. wesenbergii* como potencial productor de toxinas en la laguna Huacachina.

2. BASES TEÓRICAS

2.1 Floraciones algales

Las cianobacterias y las algas eucariotas del fitoplancton pueden crecer aceleradamente bajo determinadas condiciones ambientales aumentando su biomasa en valores significativos con respecto a la concentración original. Este fenómeno se llama floración (en inglés: *bloom*) (Smayda, 1997). Los factores que desencadenan las floraciones de las cianobacterias planctónicas son diversos y actúan en forma combinada. Cada floración está formada por una o pocas especies. El fenómeno puede generarse en períodos que van desde pocas horas a varios días y desaparecer en un plazo similar. Sin embargo, algunas floraciones de cianobacterias pueden permanecer por períodos más largos como todo el verano, durante todo el año o incluso en forma permanente. Las floraciones de cianobacterias planctónicas ocurren en los cuerpos de aguas continentales de todo el planeta (Chorus & Bartram, 1999). Pueden ser evidentes a simple vista por la coloración generalmente verde y la turbidez que le confieren al agua, o por la presencia de acumulaciones o franjas densas. Si bien la frecuencia e intensidad de las floraciones han aumentado en el mundo a consecuencia de las actividades humanas y el cambio climático, el fenómeno no es nuevo. Existen registros de floraciones en lagos de Europa central (ej.: lago Zürich) desde hace varios siglos. Las floraciones de *Planktothrix rubescens* (el “alga sangrienta”) dan un color rojizo al agua lo que originó el mito del lugar que refería a la sangre de los soldados caídos en el lago en la batalla de Burgundy en el siglo XV (Walsby et al., 2005).

El principal motivo de preocupación por las floraciones de cianobacterias, es que estos organismos pueden producir toxinas. La alta biomasa concentrada en las floraciones sumada a la presencia de las cianotoxinas puede representar un problema para los otros organismos del medio acuático y para el ser humano.

Las Floraciones algales nocivas (FAN) o mareas rojas, son fenómenos biológicos que ocurren de manera natural, principalmente en ecosistemas marinos y son producidos por varias especies de microalgas entre las que destacan, por la diversidad de especies involucradas, los dinoflagelados (Cortés, 1998).

2.2 Cianobacterias

Las cianobacterias son los organismos fotosintetizadores aeróbicos más antiguos del planeta. Se originaron en el período Precámbrico, hacen aproximadamente 2 700 millones de años y dominaron la biota del planeta por más de 1 500 millones de años. Las cianobacterias fueron los organismos responsables de crear la atmósfera oxidante que hoy conocemos mediante la fotosíntesis con liberación de oxígeno, utilizando el pigmento clorofila a. A partir de las cianobacterias con clorofila a (y en algunos grupos también con clorofila b), se originaron los cloroplastos de las algas eucariotas fotosintetizadoras. Pertenecen al dominio Bacteria (eubacterias) y comparten algunas características estructurales con las bacterias heterótrofas que se observan en la Figura 1, y otras funcionales con las algas, organismos eucariotas también fotosintetizadores. (Bonilla, 2009).

Las Cianobacterias que más encontramos en la naturaleza son de tipo unicelular y presentan forma de esfera, pero el conjunto de este grupo es morfológicamente muy heterogéneo. Pueden vivir aisladas o formando colonias filamentosas o globulares tanto en aguas dulces como saladas, pueden sobrevivir en condiciones extremas de temperatura y salinidad. Son unos microorganismos muy interesantes en muchos aspectos, pues sus células tan solo miden unos micrómetros de diámetro. (Zalba, 2013).

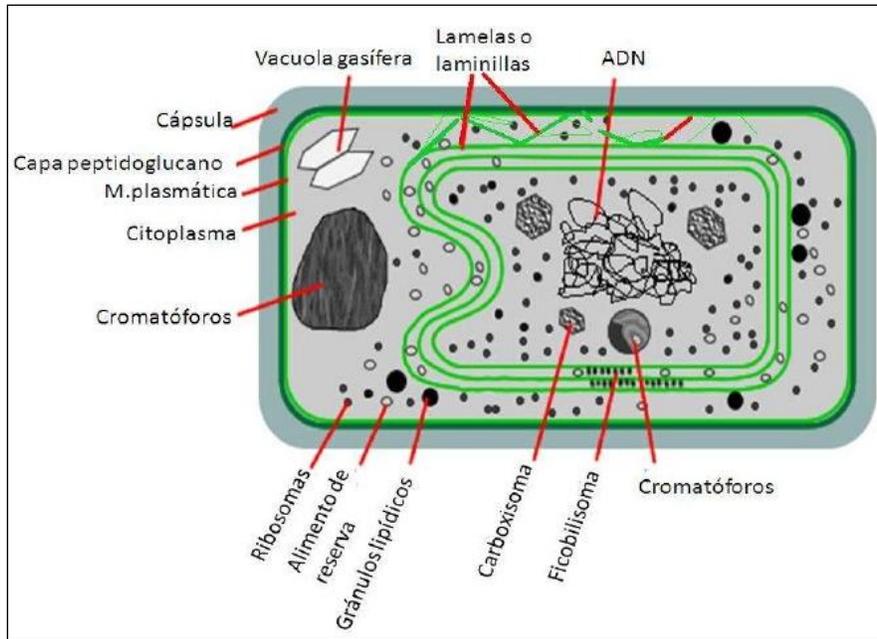


Figura 1. Morfología de la cianobacteria (Madigan, M., Martinko, J., Parker, J. 1999).

2.3. *Microcystis aeruginosa*

Es una cianobacteria que fue descubierta por el científico Kützing en 1846. Este microorganismo tiene la capacidad de producir toxinas naturales (llamadas microcistinas), que son muy potentes. Las toxinas microcistina son producidas y contenidas en el interior de células de *Microcystis aeruginosa* y son relacionadas con el agua, cuando las células mueren y se desintegran, las toxinas son liberadas, algunas células al ser muy pequeñas pueden ser ingeridas con el agua. Los niveles de toxina en los cuerpos de agua tienden a ser altos en sitios cercanos a la orilla y a la superficie donde es más probable el contacto con animales y humanos (Martínez, 2006).

Tabla 1

Clasificación Taxonómica de la Microcystis aeruginosa

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

Fuente: Algae Base, 2016.

2.4. La planta de arroz

Su nombre científico es *Oriza sativa* L. el fruto del arroz es una cariósipide en que la semilla se encuentra adherida a la pared del ovario maduro, y está formada por la cáscara, que a su vez está compuesta por glumas, glumelas, raquis y arista (Durán, 1999).

2.4.1. Periodo vegetativo

El ciclo de vida de las variedades de arroz, en el trópico, varía entre 100 y 200 días; sin embargo, las variedades que se cultivan comercialmente fluctúan entre 100 y 150 días. El periodo vegetativo puede ser alterado por factores como la temperatura y la humedad. Por lo general dura de 55 a 60 días en las variedades de período intermedio, y comprende desde

la germinación de la semilla, emergencia, macollamiento (ahijamiento), hasta la diferenciación del primordio floral. Esta fase es la que diferencia unas variedades de otras, según sea la precocidad o tardanza de la misma en alcanzar su respectivo ciclo de cultivo. En la fase vegetativa es cuando se determina en gran parte, el número de espigas por planta o por unidad de superficie, debido principalmente al macollamiento de las plantas, lo cual es uno de los 3 componentes de rendimiento de una plantación de arroz (Durán, 1999).

2.4.2. Morfología de la planta de arroz

En la planta de arroz, las raíces son de forma delgadas, fibrosas y fasciculadas. El tallo es erguido, cilíndrico, con nudos, de 60-120 cm de altura. Las hojas que son alternas envainan el tallo, con limbo lineal, agudo, largo y plano. En el punto de la unión de la vaina con el limbo, se encuentra una lígula membranosa, bífida y erguida. Las flores son de color verde-blانquecino, dispuestas en espiguillas, 6 cuyo conjunto constituye una panícula grande, terminal y colgante a medida que se llena el grano. Cada espiguilla es uniflora, conformada por 6 estambres y un pistilo y está provista de una lema y una palea. El fruto es una carióspside (SAG – DICTA, 2003, citado por Márquez, 2013).

2.4.3. Taxonomía de la planta de arroz

El arroz es una planta monocotiledónea que pertenece a la familia de las Gramíneas, a la sub-familia de las Panicoideas y a la tribu Oryzae. El nombre científico es *Oryza sativa*. Evolutivamente se acepta que la forma perenne del *Oryza perennis* y para otros, el *Oryza rufipogon*, es el antecesor común, tanto del arroz cultivado como del arroz rojo. Aunque el arroz rojo, no se originó directamente del arroz cultivado, es

frecuente el uso de *O. Sativa* f. Spontanea como el nombre científico del arroz rojo. El número de cromosomas de la especie *O. sativa*, es $2n=24$ y $n=12$. Recientes estudios han develado el genoma del arroz, que dentro de las gramíneas cultivadas es uno de los menos complicados, y que podría estar constituido por unos 50 mil de genes y que las bases de estos genes suman unos 430 millones de pares de bases de ADN (SAG – DICTA, 2003, citado por Márquez, 2013).

2.4.4. Fisiología

En las plantas que producen semilla, se distinguen tres fases de desarrollo, las cuales tienen períodos de crecimiento definidas en cuanto a la diferenciación de la planta y los días de duración de estas tres fases (las partes vegetativas se observan en la Figura 2 . En el caso del arroz, estas fases son las siguientes:

a.- La fase reproductiva

Incluye el período desde la formación del primordio floral, embuchamiento (14 días antes de la emergencia de la panícula), hasta la emergencia de la 7 panícula (floración). Esta fase dura entre 35 y 40 días. Existe muy poca variación en la duración de la fase reproductiva. En esta fase se determina el número de granos por panícula, que es también otro de los 3 componentes de rendimiento en la producción de un cultivo de arroz

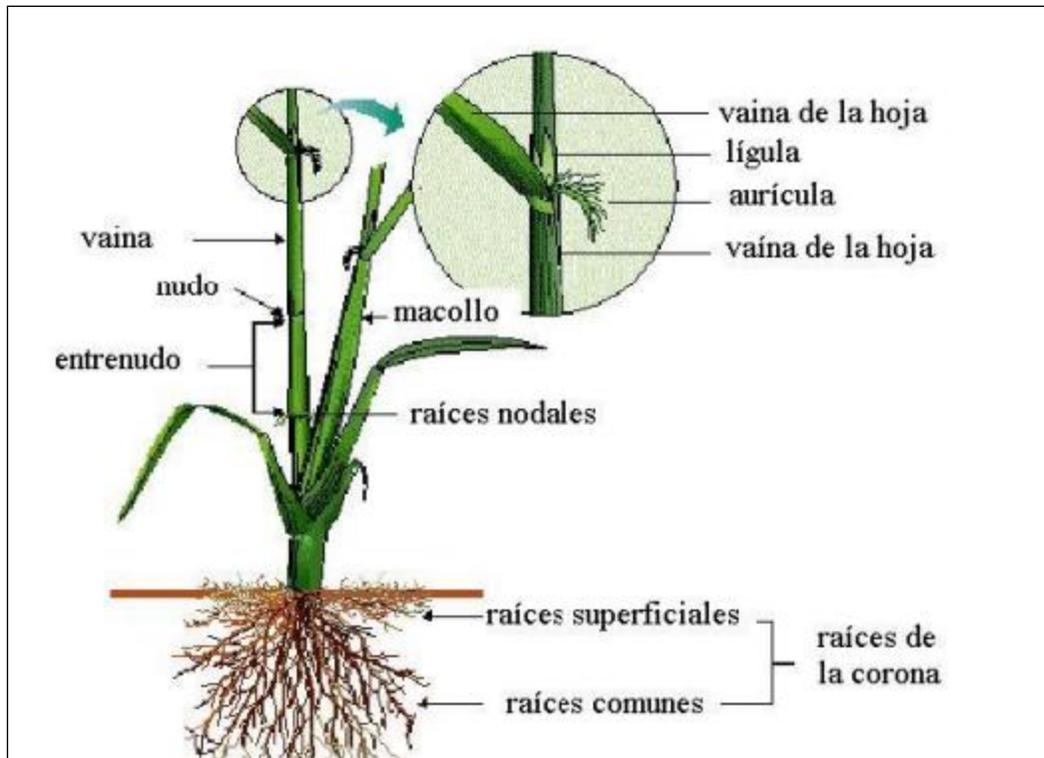


Figura 2: Partes vegetativas de la planta de arroz (Cárdenas y Reinoso, 2011)

b.-La fase de madurez

Este periodo comprende desde la emergencia de la panícula (floración), el llenado y desarrollo de los granos (estado lechoso y pastoso) hasta la cosecha (madurez del grano) y dura de 30 a 40 días. Esta fase también varía muy poco de una variedad a otra. Y se considera que en esta fase se determina el peso del grano a la madurez, por lo que es el tercero de los 3 componentes de rendimiento en una plantación de arroz. En general el ciclo vegetativo y reproductivo de las variedades de arroz que se cultivan actualmente varía de 120 a 140 días desde la germinación hasta a la cosecha del grano, aunque actualmente se encuentran variedades de arroz con 105 días a la cosecha con rendimientos aceptables. Cuando las temperaturas son bajas durante la fase vegetativa, el período de desarrollo del cultivo

puede alargarse por unos días más hasta 5 meses (150 días) (SAG – DICTA, 2003, citado por Márquez, 2013).

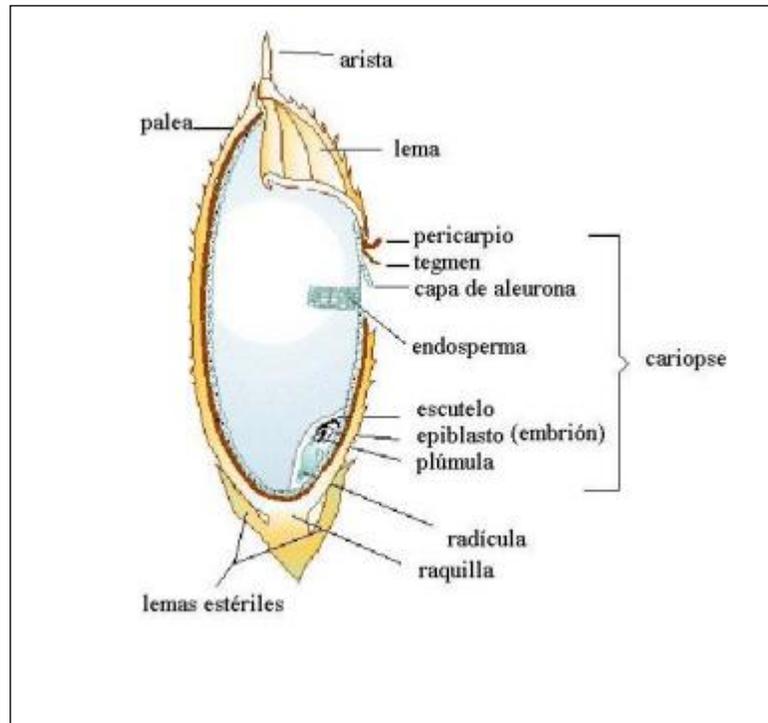


Figura 3. Corte transversal de un grano de arroz (Juliano, 1994).

2.5. Pajilla de arroz

El arroz es uno de los cereales más importantes del mundo, especialmente en Asia. Gran parte del mismo es cultivado por pequeños agricultores que utilizan la paja como alimento para los animales de trabajo o para las lecheras. Los métodos de cosecha son muy variables. A menudo, en los sistemas en pequeña escala, tanto las espigas como toda la planta son cortadas con hoz; por lo general el cultivo es cortado cuando está aún inundado a causa de las lluvias o de la falta de control del riego. El grano se trilla batiéndolo contra una superficie dura o usando pequeñas trilladoras manuales. La producción mecanizada de arroz es común en áreas donde pueden ser usadas las cosechadoras automotrices.

La paja del arroz, a diferencia de lo que ocurre en otros cereales, presenta la particularidad de que su tallo es más digerible que las hojas. Por esta razón, para alimentar el ganado es más conveniente cortar las plantas contra la superficie del suelo. En el caso de la cosecha manual, el cultivo es cortado cuando la paja está aun relativamente verde lo cual producirá una paja de mayor calidad que las plantas maduras. Cuando se cosechan solamente las espigas, la paja debería ser cortada tan pronto como sea posible después de la cosecha de las espigas y secada para conservar su calidad forrajera.

El secado de la paja del arroz es a menudo un problema en las áreas de altas precipitaciones las cuales, al usarse cultivos anuales, la cosecha de por lo menos uno de ellos se produce en condiciones muy húmedas. (La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2003).

2.6. Eutrofización

La eutrofización produce un exceso de algas y macrofitas en cuerpos de agua, este proceso puede llevar a la total degradación de ríos, estuarios, estanques, etc.; ocasionando problemas en el suministro de agua potable por alteración de sus propiedades organolépticas (olor, sabor), corrosión del equipo hidroeléctrico y distintos trastornos en los procesos de tratamiento de agua por disminución del contenido de oxígeno, acumulación de amoníaco en la columna de agua y disolución de ciertos metales (Fe, Mn) en sedimentos bajo condiciones anóxicas. Los efectos de la eutrofización son: la contaminación de playas con macroalgas, daño de componentes de un ecosistema, daño en el hábitat, daño significativo en la vida salvaje y acuática; incluyendo la muerte de peces, deterioro de la calidad del agua, florecimientos de cianobacterias en ríos y estanques (los cuales pueden ser tóxicos o no-tóxicos), la pérdida de recursos biológicos (Martínez, 2006).

2.7. Alelopatía

“Cualquier proceso que implica metabolitos secundarios producidos por especies exóticas que influyen en el crecimiento y desarrollo de las especies nativas (excluyendo animales), comprendiendo efectos positivos y negativos”. El proceso alelopático, desde la perspectiva de la competencia entre especies, constituye un elemento pasivo, ni más ni menos importante que otros elementos de interferencia. Si bien, la hipótesis emitida por Rabotnov (1974) indica que la alelopatía es, probablemente, menos significativa en comunidades vegetales que hayan coevolucionado que en el caso de especies nativas y alóctonas que evolucionaron en áreas biogeográficas diferentes (Reigosa et al., 1999; Reigosa et al., 2002). Los aleloquímicos de la especie exótica tienen múltiples funciones dentro del entramado biótico en el área de distribución original (alelopática, defensa frente a herbívoros, agentes transportadores de metales o agentes de simbiosis entre microorganismos del suelo y la planta). Además, en la nueva área, la función alelopática de la potencial invasora se vería incrementada al escapar de sus enemigos naturales y perder, los aleloquímicos, parte de sus funciones originales (Sinkkonen, 2006).

2.8. Factores para el crecimiento de cianobacterias

Los factores influyentes en el crecimiento de las cianobacterias son comunes, sin embargo, cada especie y subespecie de cianobacterias presenta sus características propias respecto a las condiciones óptimas de crecimiento, así como unas productividades máximas alcanzadas en diferentes configuraciones de sistemas de cultivo. La productividad de las cianobacterias está determinada, principalmente, por el pH del medio, la salinidad, la disponibilidad y concentración de nutrientes, la intensidad y el tipo de luz, la densidad celular del cultivo, la temperatura y la contaminación o la depredación por otros organismos. (Brenan, 2010).

2.8.1. Disponibilidad de Luz

La disponibilidad de luz es el principal factor limitante de los cultivos fotoautótrofos de las cianobacterias. Los nutrientes inorgánicos e incluso el CO₂ pueden ser incorporados al medio de cultivo en exceso, de forma que nunca sean limitantes al crecimiento. Por el contrario, la luz debe ser continuamente suministrada al cultivo, ya que la energía radiante no se puede acumular (Brenan, 2010). La intensidad luminosa registrada para los cultivos óptimos de las cianobacterias están en el orden de las 7500 lx (Burguesa, Javier y Hernández, 2007).

2.8.2. Salinidad

La salinidad del medio de cultivo tiene una gran influencia en el crecimiento de las microalgas, así como en la productividad de lípidos para biodiesel u otras sustancias de valor (Brenan, 2010).

Se han realizado diversos estudios sobre cómo afecta la salinidad al crecimiento y a la producción de cianotoxinas de esta especie comparando entre su crecimiento en agua dulce y agua de mar y se obtuvo que las tasas de crecimiento fueron significativamente inferiores a alta salinidad que a baja salinidad. Lo que indica que una salinidad extrema no favorece el desarrollo de blooms y en consecuencia tampoco el contenido de cianotoxinas (Blackburn et al., 1996).

2.8.3. pH

El pH del medio influye tanto en la proporción de las especies del equilibrio químico del CO₂, y por tanto, en la alcalinidad del medio, como en la forma química en que se encuentran algunos nutrientes y micronutrientes necesarios (Brenan, 2010).

Como en los otros parámetros, cada especie necesita un rango determinado de pH que permita un crecimiento óptimo, siendo pH 8 el

más indicado para especies dulceacuícolas (Park et al., 2011a). Por encima o debajo de éste, presentan un descenso en la productividad, que no solo afecta el crecimiento algal, sino también la capacidad de remover el nitrógeno en sistemas de tratamientos de aguas (Park et al., 2011a). El pH puede controlarse con un sistema automatizado de inyección de CO₂, o incluso, con adicción de ácido o base permitiendo, además, suministrar CO₂ necesario para cultivos de alta productividad (Berenguel et al., 2004).

2.8.4. Oxígeno

El nivel de oxígeno disuelto es un parámetro que debe ser controlado en el cultivo de microalgas, ya que altas concentraciones de oxígeno disuelto pueden inhibir la fijación de carbono por parte del enzima RUBISCO. Esta inhibición se ve favorecida por un déficit de CO₂ y por la alta radiación y temperatura. (Brenan, 2010).

La intensa fotosíntesis realizada durante el día en sistemas de cultivo puede aumentar los niveles de oxígeno disuelto a saturación > 200%. Se cree que una elevada saturación podría afectar la productividad de algas. En 2001 Molina et al. (citados por Park et al., 2001a), determinó que a una saturación del 200% existe una reducción del 17% en la productividad, mientras que a 300% se reduce en un 25%. Todavía se requiere más investigación para demostrar el efecto de altos niveles de oxígeno (Park et al., 2011a)

2.8.5. Temperatura

El rango de temperatura a la que generalmente se produce la tasa máxima de crecimiento se encuentra entre 25 y 30 °C, según resultados experimentales con cultivos de cianobacterias (Reynolds 2006). Entre el 0 °C y el valor óptimo para cada organismo, se produce un incremento de la tasa de crecimiento en función de la temperatura. Por encima del rango de

temperatura óptima ocurre una disminución abrupta de la tasa de crecimiento. Generalmente se considera que las cianobacterias prefieren temperaturas más altas que las algas eucariotas (Dokulil & Teubner, 2000). Sin embargo, los rangos óptimos de temperatura de las cianobacterias no termofílicas serían similares a los rangos de las algas eucariotas, por lo que no habría diferencias en cuanto a la preferencia de la temperatura.

Por otro lado, las cianobacterias son dominantes en numerosos ecosistemas acuáticos polares, tanto en los bentos formando gruesas matas, como en el fitoplancton, debido a su tolerancia a un amplio rango de temperatura (Vincent, 2000).

La alta temperatura, además, no sería la causa *per se* de una floración, sino que las altas temperaturas estarían asociadas con otros fenómenos como la estratificación térmica y cambios en la profundidad de la zona de mezcla, lo que puede favorecer el desarrollo de cianobacterias con vesículas de gas (Oliver & Ganf, 2000; Paerl & Huisman, 2009).

2.8.6. Disponibilidad de nutrientes.

El citoplasma celular de las algas eucariotas y las cianobacterias, requiere de aproximadamente 20 elementos químicos para la formación de la nueva biomasa, algunos de ellos muy necesarios (H, C, O y N) y otros en cantidades pequeñas (P, S, K, Na, Ca, Mg y Cl). Un conjunto de nutrientes que intervienen en el metabolismo (como por ejemplo la estructura de enzimas) son requeridos en concentraciones traza (Si, Fe, Mn, Mo, Cu, Co, Zn, etc.). Los elementos limitantes del crecimiento del fitoplancton pueden ser N, P, Fe, (Si, en el caso de las diatomeas)(Carvajal, G. 2011).

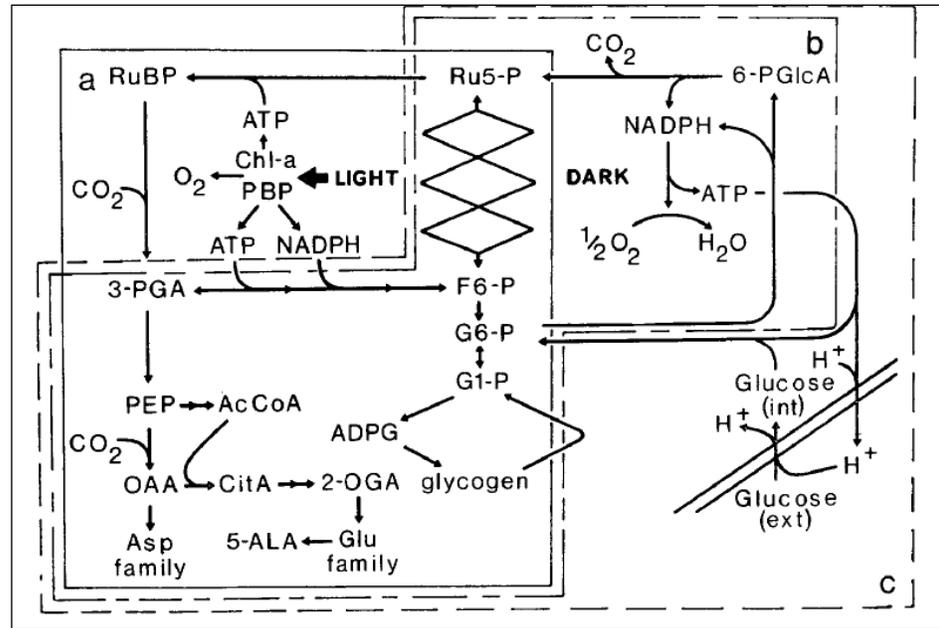


Figura 4. Metabolismo del carbono de las cianobacterias (Smith, 1983)

Los distintos factores ambientales intervienen continuamente en el desarrollo de un ecosistema, tanto sea en las poblaciones, el número de individuos como también a nivel celular, en donde ocurre una dependencia cualitativa y/o cuantitativa de la ultraestructura de las cianobacterias.

El metabolismo de las microalgas dispone de nutrientes, a que se observen inclusiones intracelulares de gránulos de polifosfato (depósitos intercelulares de fósforo), gránulos de glicógeno, glóbulos de lípidos, carboxisomas y gránulos de cianofícinas. El carbono no es el factor limitante para el fitoplancton debido a los aportes de CO_2 atmosféricos y del sedimento aportado por la mayoría de las microalgas que poseen sistemas de transporte activo. Sin embargo, las altas tasas fotosintéticas pueden disminuir la concentración de CO_2 disuelto con lo que el pH aumenta debido a que disminuye el ácido carbónico disuelto. Este aumento de pH genera bicarbonato (HCO_3^-) constituya la forma más abundante de carbono inorgánico. En estos casos puede ocurrir la

limitación del crecimiento de las cianobacterias que solo puedan asimilar CO_2 y no otra forma de carbono. Sin embargo, muchas de las cianobacterias y algunas algas eucariotas contienen la enzima anhidrasa carbónica y pueden recurrir al HCO_3^- como fuente alternativa de carbono inorgánico (Graham y col. 2009).

Los factores que contribuyen a un incremento del pH pueden estar dados por las características naturales del sistema (aguas duras) o por los efectos del crecimiento de la comunidad fitoplanctónica. En este sentido, la incorporación de CO_2 disuelto en el agua mediante la fotosíntesis por fijación en los carboxisomas y a través de la enzima RuBisCo, determina un cambio en la concentración de iones debido a la disminución del carbono disponible (Hyentrand y col.1989).

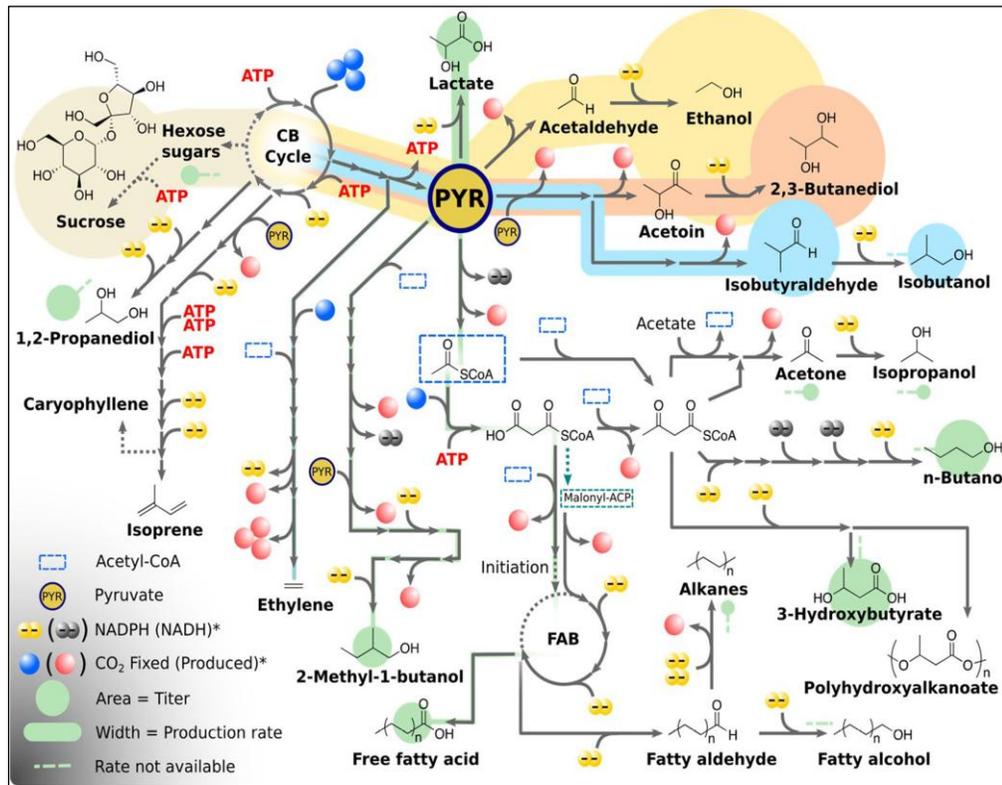


Figura 5. Vías metabólicas para la producción química en cianobacterias (Oliver & Atsumi, 2014).

2.8.7. Cianotoxinas

Las cianobacterias producen una gran variedad de metabolitos secundarios, algunos de los cuales son tóxicos para animales y el hombre conocidos con el nombre genérico de cianotoxinas (Leflaive & Ten-Hage 2007). Estos compuestos pueden afectar la biota acuática y terrestre incluyendo a los seres humanos (Sivonen & Jones 1999). Se dispone de numerosos registros de toxicidad y mortandad de animales como consecuencia de estas toxinas como el ganado vacuno (Thomas et al., 1998). Algunos investigadores han aportado evidencias de que las cianotoxinas están relacionadas con la protección contra los depredadores para evitar la competencia de algas del fitoplancton o plantas (Jang et al., 2007). Alternativamente, otros autores proponen que las mismas son metabolitos secundarios sin función específica conocida (Babica et al., 2006). Por otra las cianobacterias también producen otras moléculas cuyo rol es inhibir alguna función de potenciales competidores (Briand et al., 2004).

Varias cianotoxinas están presentes en el interior de la célula, siendo liberadas al medio en situaciones de lisis o ruptura celular, lo que ocurre en el proceso de senescencia natural o por acción de factores ambientales (Chorus y Bartram 1999). Por ejemplo, las floraciones de cianobacterias pueden tener una duración de pocos días y sobre el final de la floración, cuando las células comienzan a morir, se pueden registrar los máximos de cianotoxinas disueltas en el agua. Por este motivo, los métodos de remoción de cianobacterias que impliquen lisis celular pueden ser contraproducentes ya que favorecen la liberación de las toxinas al medio acuático.

Una vez liberadas al ambiente, las cianotoxinas tienen una persistencia variable (pocos días a meses) antes de ser biodegradadas o destruidas mediante fotólisis o biodegradación por bacterias. La destrucción

fotoquímica de las microcistinas se acelera por la presencia de pigmentos celulares hidrosolubles (ficobiliproteínas) y de ácidos húmicos, pudiendo alcanzar, en condiciones de alta radiación solar, una destrucción de hasta el 40 por ciento en un día (Chorus & Bartram 1999).

2.8.8. Tipos de cianotoxinas, modos de acción y efectos

Para evaluar el riesgo específico de las toxinas de cianobacterias es necesario comprender sus propiedades químicas y físicas, su ocurrencia en las aguas y los factores que regulan su producción y su desaparición en el ambiente. En términos de estructura química, las cianotoxinas se dividen en: péptidos cíclicos, alcaloides y lipopolisacáridos. Los mecanismos de toxicidad son muy diversos y desde efectos hepatotóxicos, neurotóxicos y dermatotóxicos hasta la inhibición general de la síntesis proteica (Sivonen y Jones 1999).

Las cianobacterias también producen lipopolisacáridos (LPS), que son componentes de la membrana celular formados por carbohidratos (normalmente hexosas) y lípidos (ácidos grasos). Los LPS son endotoxinas pirogénicas también llamadas dermatoxinas capaces de producir irritaciones en la piel, efectos gatrointestinales y alergias (Giannuzzi et al., 2009). Sin embargo, aunque los LPS son ampliamente citados en la literatura como responsables de estos efectos, se reconoce la necesidad de más estudios de investigación para establecer su toxicidad y efectos biológicos (Stewart et al., 2006).

Recientemente, se ha sindicado al aminoácido no proteico β -metil amino alanina (BMAA), producido por gran variedad de cianobacterias, como una nueva cianotoxina neurotóxica (Cox et al., 2005) que podría ser agente causal de algunos trastornos degenerativos en seres humanos incluyendo el síndrome complejo de esclerosis lateral

amiotrópica demencia parkinsoniana, muy común en poblaciones de Guam (isla del Pacífico occidental). Tanto en floraciones de cianobacterias de agua dulce como salobre, las cianotoxinas más frecuentes son las microcistinas y las nodularinas.

Las microcistinas (MCs) son una familia de más de 80 heptapéptidos cíclicos, que por su modo de acción provocan el colapso de la organización tisular hepática, necrosis y hemorragia intrahepática (van Apeldoorn et al. 2007). También se ha descrito que la ingestión crónica de pequeñas dosis puede tener efecto promotor de tumores a largo plazo (Svircev et al., 2009). Recientemente se ha que el riñón es otro tejido blanco que puede ser atacado por las microcistinas (Dias et al., 2009). En el caso de la microcistina LR (MCLR), se ha determinado que concentraciones micromolares (10 μ M) dañan claramente los procesos celulares básicos en células HaCaT (queratinocitos humanos) y, por tanto, esta microcistina es queratinotóxica. Estas toxinas son relativamente estables y resistentes a la hidrólisis y oxidación por lo que pueden perdurar por largos períodos en el cuerpo de agua.

La cylindrospermopsina es un alcaloide inhibidor de la síntesis proteica que genera severas lesiones necróticas en diversos órganos de mamíferos pudiendo generar efectos genotóxicos severos (Cox et al., 2005). Esta toxina es muy común en el género *Aphanizomenon* y en *Cylindrospermopsis raciborskii*, de reciente aparición en nuestro país (Vidal & Kruk 2008), aunque no se ha registrado esta toxina en las cepas americanas (Haande et al., 2008). Es estable en el ambiente y pueden ser tolerantes a la biodegradación por bacterias.

Las saxitoxinas son alcaloides de alta toxicidad, que presentan igual estructura química y mecanismo de acción que las provenientes de los dinoflagelados marinos que forman las mareas rojas (Chorus & Bartram

1999). Son compuestos estables que pueden perdurar en el ambiente de dos a tres meses (Cybis et al., 2006). Las cepas americanas de *Cylindrospermopsis raciborskii* son productoras de saxitoxinas (Castro et al., 2004).

Otras cianotoxinas de la familia de los alcaloides, no tan bien caracterizadas, son las aplisiatoxinas y la lyngbyatoxina-a (encontradas en: *Lyngbya*, *Schizothrix* y *Oscillatoria*) potentes promotores de tumores, activadores de la proteína quinasa C, producidas por cianobacterias bentónicas marinas, en particular *Lyngbya majuscula* (Osborne et al., 2001).

Los seres humanos se exponen a las cianotoxinas por diversas vías. La más relevante es la vía oral, ya sea por ingestión de agua de consumo, alimentos, suplementos dietéticos o por ingestión durante actividades recreativas. Otras vías de exposición pueden ser el contacto directo de partes del cuerpo (ejemplo: en baños de recreación) o por inhalación de agua con toxinas o células de cianobacterias.

Debido a su carácter hidrofílico, en general, las cianotoxinas no penetran a través de la piel, pero pueden producir irritación de piel y mucosas (Chorus & Bartram 1999). Probablemente muchos casos de enfermedades causadas por las cianotoxinas no son bien documentadas, ya que los pacientes o los médicos no asocian los síntomas con estas sustancias. Algunos de los síntomas más comunes, que pueden deberse a la exposición a una o varias toxinas son muy inespecíficos e incluyen: vómitos, diarreas, irritaciones en la piel y mucosas, dolor abdominal y cefaleas (Chorus & Bartram 1999)

CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS

1. ÁREA DE ESTUDIO

Las muestras obtenidas para los ensayos del presente estudio fueron colectadas en 2 puntos en el humedal “Albúferas de Medio Mundo”, Huaura, Perú y localizadas entre las coordenadas geográficas UTM, 1: 206201,927; 8794040,787 y 2: 208334,497; 8790923,410; a 6.0 msnm tal como se muestra en la Figura 6.

Se eligió dichos puntos de muestreo por ser zonas de esparcimiento y recreo turístico.

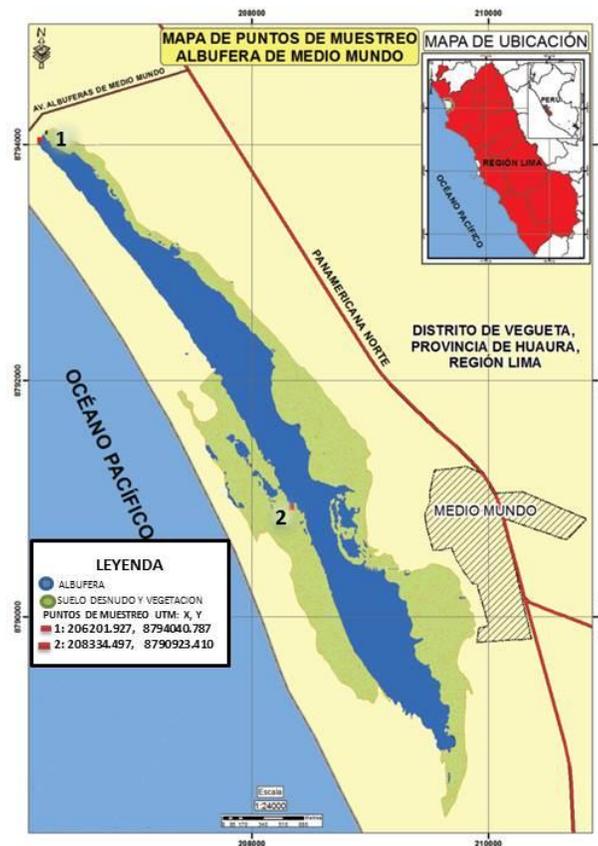


Figura 6. Ubicación de la toma de muestra del efluente en el humedal Albúferas de Medio Mundo, Huaura-Lima.

2. MATERIALES

2.1 Material Biológico

- La población estuvo constituida por especímenes coloniales de *Microcystis aeruginosa*.
- Pajilla de arroz (*Oryza sativa*) procedente de la empresa Forli S.A.C.

2.2 Otros Materiales

- Materiales de vidrio: Pipeta de 10 ml, frascos de Erlenmeyer de 500mL, probetas de 100 ml, vasos Beacker 100 ml.
- Materiales de plástico: Vasijas 1L, Frascos de boca ancha 300 mL, bolsas, pipetas Pasteur.
- Equipos: cámara de Sedgwick Rafte, fotómetro Photo-Flex WTW, autoclave, Microscópio binocular con cámara Motic, El pH metro Hanna modelo HI 8424. Balanza analítica, estufa.
- Otros: Kit para determinar nitrógeno Total WTW, Kit para determinar plomo WTW, Kit para determinar fósforo WTW, lámparas para iluminación, sales inorgánicas.

3. DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO

3.1 Determinación Taxonómica de la Cianobacteria

Se realizó la determinación taxonómica de la cianobacteria por microscopia mediante el uso de claves taxonómicas actualizadas y la consulta a la especialista en fitoplancton del Museo de Historia Natural, Dra. Haydeé Montoya Terreros. La microfotografía del alga se realizó con un microscopio compuesto marca ZEISS modelo Primo Star equipado con una cámara digital Motic 2000 de la Universidad Católica Sedes Sapientiae (UCSS).

3.2 Toma de Muestras del Efluente Conteniendo *Microcystis aeruginosa*

Las muestras de agua conteniendo *Microcystis aeruginosa*, para su posterior aislamiento, fueron tomadas del humedal de Medio Mundo de la ciudad de Huaura, el 12 de noviembre del 2016, teniendo cuenta las características que presentaron el entorno al cuerpo de agua superficial. Posteriormente se acondicionaron los frascos a utilizar en el traslado de muestras del humedal, los cuales no contenían preservantes. Luego de la toma de muestras de agua se procedió al etiquetar los frascos y pasar las muestras a una caja térmica (cooler) a 4°C para su posterior análisis en laboratorio.



Figura 7. Aspecto del humedal “Albúferas de Medio Mundo” Huaura-Lima.

Tabla 2.

Condiciones experimentales para los ensayos alelopáticos de la pajilla de arroz sobre M. aeruginosa.

Características del experimento	Descripción
Duración del ensayo	Ocho semanas
Temperatura	25.0 +/- 0.5 °C
Suministro de Luz	Dos lámparas fluorescentes de 18 W c/u.
Fotoperiodo	14 Luz:10 sin luz
Aireación	no
Volumen	5 litros
pH inicial	8.5
Repeticiones	3

Fuente. Elaboración propia.

3.3 Preparación de la Pajilla de Arroz

Se procedió a cortar la pajilla de arroz de un tamaño aproximado de 2 cm y a continuación se esterilizó en autoclave a 121 °C, 15 lb de presión y por 15 minutos, tal como se observa en la Figura 8. Posteriormente se colocó 15 g de pajilla esterilizada en cada unidad experimental (ver Figura 9).



Figura 8. Esterilización de la pajilla de arroz en paquetes

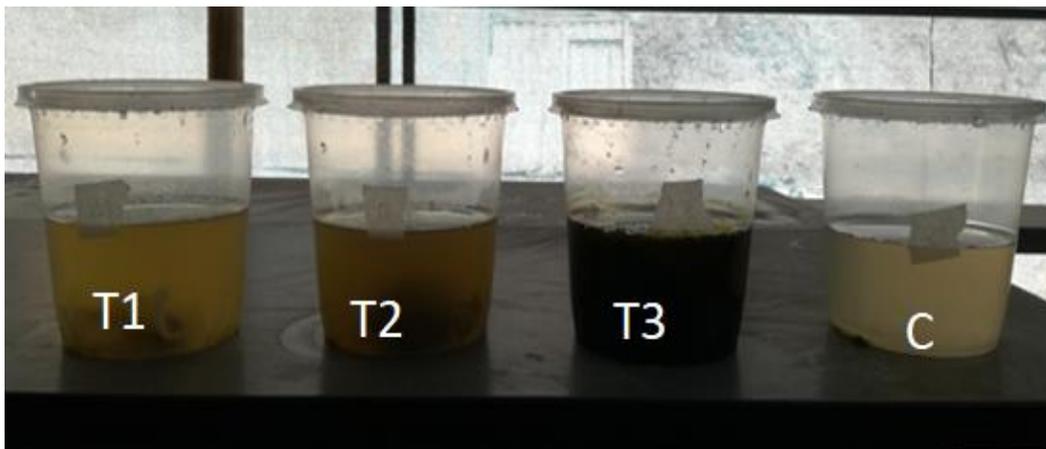


Figura 9. Unidades experimentales conteniendo efluentes de *M. aeruginosa* y pajilla de arroz.

3.4 Aislamiento, cultivo y obtención de biomasa de *Microcystis aeruginosa*

Para realizar el aislamiento y cultivo de *M. aeruginosa* se utilizó el medio BG11, cuya composición se detalla en la Tabla 3 y 4 (Rippka et al. 1979). Este medio de cultivo fue esterilizado en autoclave a 15 lb/in² (1.1. kg/cm²) /120°C durante 15min, a excepción del K₂HPO₄ y citrato férrico-amoniaco, los cuales se añadieron estériles una vez que el medio este a temperatura ambiente. Los cultivos fueron mantenidos a 25 °C y en ambientes estériles, tal como se aprecia en la Figura 10.

Para la obtención de la biomasa se procedió a cultivar en tubos de ensayo conteniendo medio de cultivo BG11, en las condiciones anteriormente mencionadas. Posteriormente se escaló en matraces de 250 mL, llegando a un volumen de 1L, a condiciones de 8,5 de pH, 1100 Lux de iluminación y a 25°C de temperatura constante.

Tabla 3

Composición del medio de cultivo BG11.

COMPUESTO	CONCENTRACION
NaNO ₃	1500 mg/L
K ₂ HPO ₄ 3H ₂ O	40 mg/L
MgSO ₄ 7H ₂ O	75 mg/L
CaCl ₂ 2H ₂ O	36 mg/L
Ácido cítrico	6 mg/L
Citrato férrico-amoniaco	6 mg/L
Na ₂ -EDTA	1,0 mg/L
Na ₂ CO ₃ (H ₂ O)	20 mg/L
Solución de Micronutrientes	1,0 mL

Fuente: Rippka et al. 1979

Tabla 4

Solución de micronutrientes

COMPUESTO	g.L ⁻¹
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ 4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,22
NaMoO ₄ 2H ₂ O	0,39
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,08
CO(NO ₃) ₂ 6 H ₂ O	0,049

Fuente: Rippka et al. 1979



Figura 10. Mantenimiento del medio BG 11 en ambientes estériles a condiciones normales.

3.5 Cinética Química de la *Microcystis aeruginosa*

El crecimiento poblacional de *Microcystis aeruginosa* se estimó mediante la medición de colonias cada 24 horas y durante 30 días y se determinó la cinética de crecimiento de las cianobacterias, para lo cual se colocó 1,0 ml de cultivo en la cámara de Sedgwick Rafter y se realizó el conteo respectivo (ver Figura 11). Con los datos obtenidos se elaboró una curva de crecimiento y se determinó los parámetros cinéticos: tasa máxima de crecimiento durante la fase exponencial, tiempo de duplicación y capacidad de carga (Sánchez, 2014).

- Tasa de crecimiento continuo: Para la estimación de la tasa de crecimiento se asumió que la dinámica del cultivo se rigió por la ecuación:

$$\ln N_t = a + bt \quad (1)$$

Que es equivalente a la siguiente expresión:

$$N_t = N_0 e^{\mu t} \quad (2)$$

Dónde:

N_t : Población final

N_0 : Población inicial

e : Constante neperiano

μ : Tasa de crecimiento exponencial

t : Tiempo

- Tiempo de duplicidad (T):

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

Donde r : tasa de crecimiento exponencial

- Capacidad de Carga (K):

$$Nt = \frac{K}{1 - \left(1 - \frac{K}{N0}\right) e^{-\mu t}}$$

Dónde:

Nt : es la población en el tiempo t

μ_{max} : tasa máxima de crecimiento

K : la capacidad de carga del cultivo.

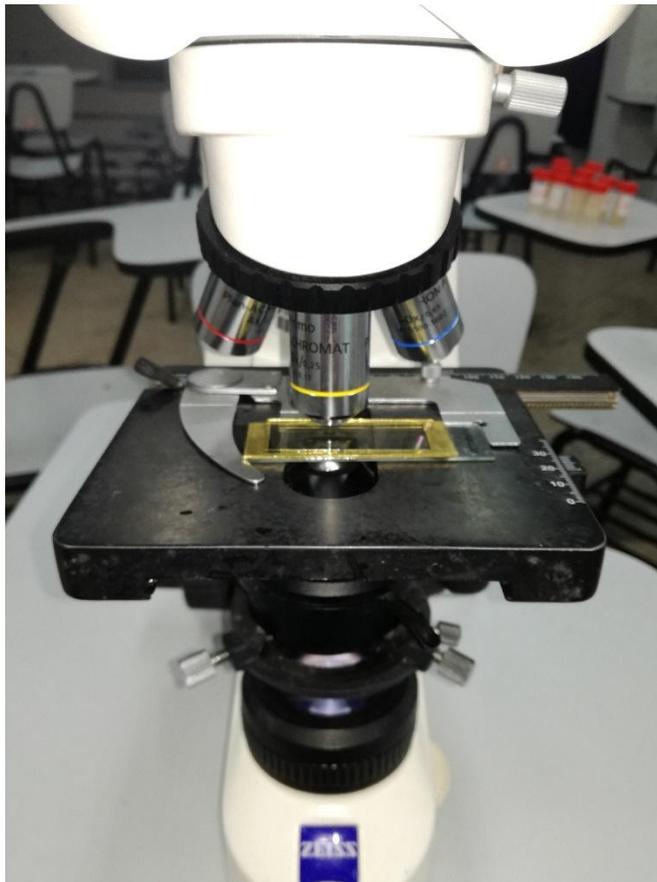


Figura 11. Determinación de la cinética de crecimiento de las cianobacterias con la cámara de Sedgwick Rafter.

3.6 Caracterización de la Inhibición del Crecimiento de *M. aeruginosa*

Las evaluaciones de la inhibición se realizaron a una temperatura de ambiente con un fotoperiodo de 14 horas luz y 10 horas de oscuridad. Para determinar los cambios en las densidades algales se realizó conteos cada 7 días usando la cámara de Sedgewick-rafter.

La actividad alelopática fue calculada usando la fórmula modificada de Suzuki et al. (1998).

$$\text{Actividad alelopática}(\%) = \frac{\text{control} - \text{tratamiento}}{\text{control}} \times 100$$

3.7 Análisis Físicoquímico de las Muestras

Las muestras fueron sometidas a las siguientes evaluaciones físicoquímicas:

3.7.1 Evaluación de la Temperatura en los tratamientos

Con la ayuda de un termómetro de mercurio se realizó las mediciones de la temperatura de las muestras. Esta medición se realizó de forma directa en cada recipiente para evitar posibles variaciones entre cada una de las tomas.

3.7.2 Evaluación del nitrógeno total

Para la evaluación del nitrógeno total se tomaron 10 ml de muestra en un vial vidriado al cual se le adiciono los reactivos para nitrógeno N1K WTW®, paso siguiente se realizó la digestión de la muestra en una estufa a 120 °C por una hora. Se realizó las lecturas, con un equipo Espectrofotométrico Photoflex WTW®, una vez enfriado la muestra y trasvasado a una cubeta de reacción WTW®.

3.7.3 Evaluación del fósforo total

Este parámetro fue evaluado tomando 5 mL de muestra en una cubeta de reacción al cual se le adiciono los reactivos para fosforo total PO1 y PO2 WTW® respectivamente. Se dejó reposar 5 minutos y se realizó la lectura, con un equipo Espectrofotométrico Photoflex WTW (ver Figura 12).

3.7.4 Evaluación del potencial de iones hidrogeno (pH) en los tratamientos

Se realizó la evaluación directa del valor del pH en el control como en todos los tratamientos, para lo cual se extrajo una alícuota de 4 ml de la muestra. Se realizó el respectivo lavado del electrodo del instrumento con agua desionizada entre cada medición.

3.7.5 Cálculo del ratio NT/PT en los tratamientos

Para la relación NT/PT se usaron los datos obtenidos de las evaluaciones previas de los parámetros nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT), esto de acuerdo con Pick y Lean (1987), quien expresa que la relación NT/PT puede reflejar la deficiencia de sales nutritivas en las algas filamentosas.



Figura 12: Cuantificación del fósforo total mediante técnicas espectrofotométricas. Instrumento multiparamétrico Photoflex WTW.

3.8 Tratamientos experimentales

Los tratamientos empleados en la presente investigación se observan en la Tabla 5.

Tabla 5

Tratamientos del experimento.

Tratamiento (T)	Dosis
T1	0,1 g de pajilla de arroz en 1 L de cultivo de <i>M. aeruginosa</i> .
T2	1,0 g de pajilla de arroz en 1 L de cultivo de <i>M. aeruginosa</i> .
T3	10 g de pajilla de arroz en 1 L de cultivo de <i>M. aeruginosa</i> .
T CONTROL	1,0 L de cultivo de <i>M. aeruginosa</i> . sin pajilla de arroz

Fuente: Elaboración propia.

Los tratamientos fueron aplicados durante 28 días con las mismas condiciones, la evaluación se realizó cada 7 días y se aplicaron tres réplicas tanto para el control como para los tres tratamientos.

Para el tratamiento control se consideró 1 L de cultivo de *M. aeruginosa* sin pajilla de arroz, mientras que el tratamiento 1(T1) se consideró 0,1 g de pajilla de arroz en 1 L de cultivo de *M. aeruginosa*.

Para el tratamiento 2 (T2) se consideró 1,0 g de pajilla de arroz en 1 L de cultivo de *M. aeruginosa*. Mientras el tratamiento 3(T3) mostró 10 g de pajilla de arroz en 1 L de agua *M. aeruginosa*. Todas las unidades experimentales estuvieron sin la incidencia de la luz solar directa.

3.9 Diseño estadístico del experimento

Se usó un diseño completo al azar (DCA) con tres tratamientos que correspondieron a: 0,1 gL⁻¹, 1,0 gL⁻¹, 10 gL⁻¹ de pajilla de arroz sometidas a poblaciones de *Microcystis aeruginosa* obtenida de un afloramiento del humedal de Medio Mundo y cultivadas en laboratorio con 3 réplicas por tratamiento. Además, contó un control con el mismo número de réplicas.

4.0 Unidades experimentales

Las unidades experimentales en la investigación fueron frascos plasticos de boca ancha de 1,1 L de capacidad cuyo contenido fueron las mezclas descritas en la Tabla 4, referidas a cada tratamiento. Siendo un total de 16 unidades experimentales en la investigación.

4.1. Análisis estadístico de los datos

Los datos obtenidos se pasaron al programa Microsoft Excel, para realizar las tablas y gráficos, para poder observar la dinámica de los parámetros analizados en el experimento.

Los datos vaciados en el programa se exportaron al paquete estadístico SPSS v. 21 para el cálculo de la media y desviación estándar (DE). Los datos fueron analizados a través de análisis de varianza de una vía, para evaluar la diferencia entre los tratamientos ($p \leq 0,05$) y los parámetros (pH, conductividad, actividad alelopática, nitrógeno total y fosforo total).

El índice de correlación de Pearson se empleó para determinar la relación entre el número de colonias de *M. aeruginosa* con los parámetros (fósforo total, nitrógeno total, conductividad, pH y la actividad alelopática).

CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. RESULTADOS

1.1 Caracterización de la Cianobacteria

Las cianobacterias obtenidas de las aguas del humedal Albuferas de Medio Mundo se identificaron como *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing 1846, las cuales presentaron formas coloniales, con células redondeadas, distribuidas de forma irregular en un mucilago común (ver Figura 13). La tabla 6 detalla la forma, dimensiones y volumen de la colonia.

Tabla 6

Características geométricas y parámetros cinéticos de crecimiento durante la fase exponencial de Microcystis aeruginosa en el medio BG11

	Forma	Esférica a subesférica
Características Geométricas	Diámetro (μm)	$122 \pm 12,44$
	Volumen (μm^3)	$259,57 \pm 25,55$
Parámetros cinéticos de Crecimiento	r (días ⁻¹)	0,12
	K (colonias/días)	499,9
	T_2 (días)	5,75

Fuente: Elaboración propia.

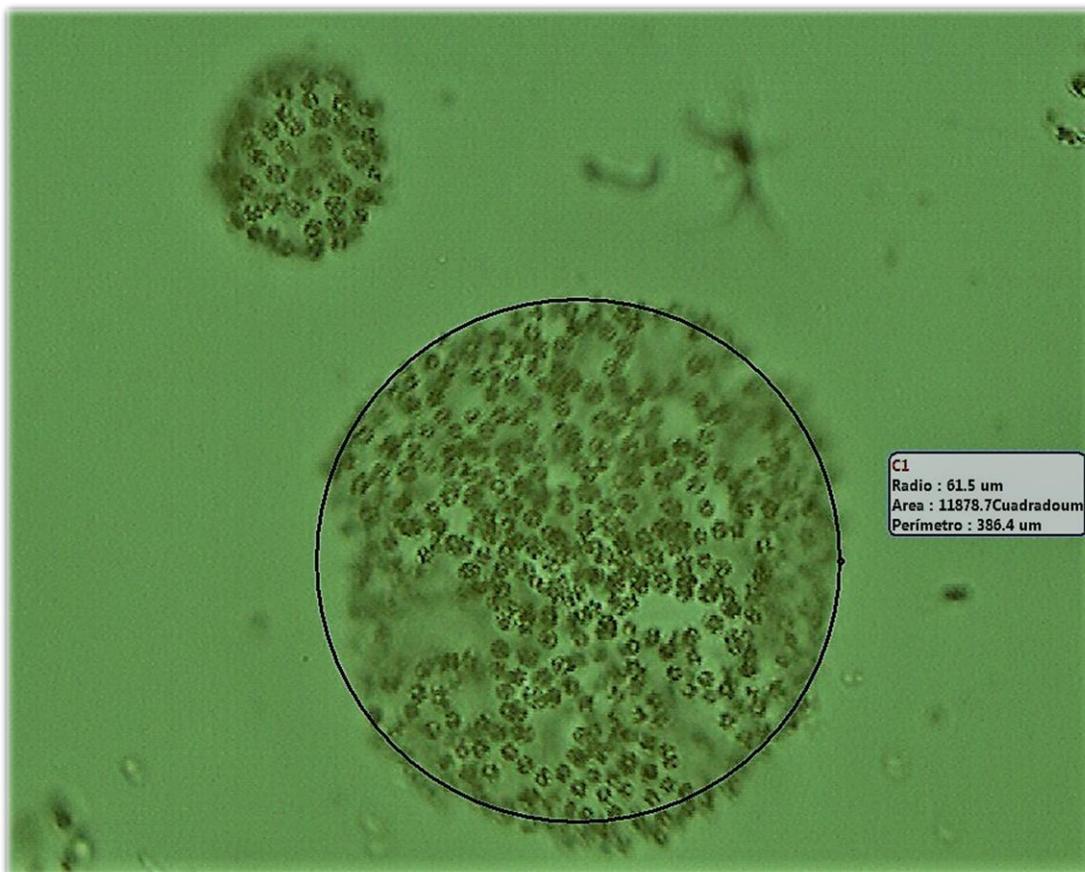


Figura 13. *Microcystis aeruginosa* aisladas de las aguas del humedal Albúferas de Medio Mundo (Huaura-Lima, Perú) (40X). Se detalla el radio, área y perímetro de la forma colonial

1.2 Crecimiento de *Microcystis aeruginosa* en el Medio BG11 Durante el Experimento.

Se llevó a cabo la cinética de crecimiento de la cepa de *Microcystis aeruginosa* aislada del humedal Albúferas de Medio Mundo y se determinó los parámetros cinéticos de crecimiento como son: tasa de crecimiento (r), tiempo de duplicación (T_2) y la capacidad de carga (K) (ver Tabla 6).

El recuento de las colonias se llevó a cabo hasta el día 25 mostrando un aumento del número de colonias/mL en el tiempo, seguida por una segunda

etapa en la que se evidencia que la tasa de crecimiento se hace constante (Apéndice 11). En el Apéndice 12 se muestra un diagrama de dispersión en donde se observa una buena correlación lineal ($R= 0,975$) que indica una producción constante y permanente durante la fase logarítmica del cultivo

Se evidenció la fase exponencial con una duración de 15 días siendo el inicio a partir del día 5. En la zona de desarrollo exponencial el valor de k correspondió a 499,9 colonias/día. Así mismo, el tiempo de duplicación es de 5,75 días, periodo en el cual el número de células se duplica (ver Figura 14).

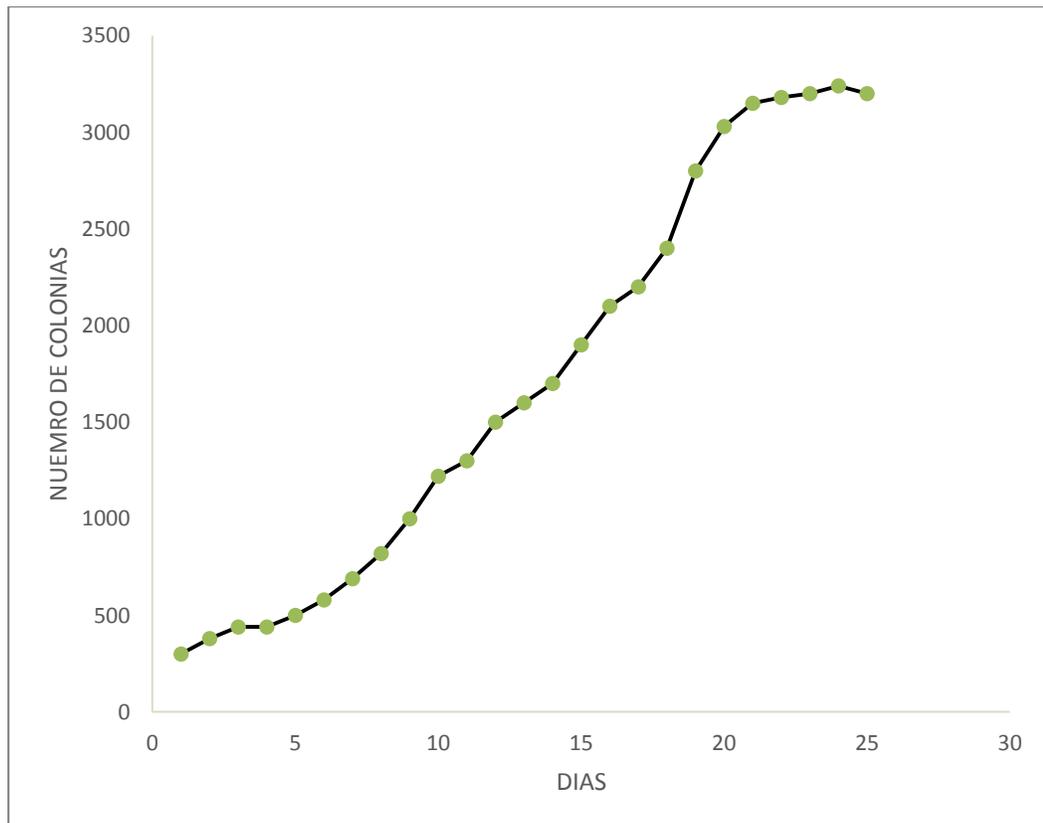


Figura 14. Curva de crecimiento promedio de *Microcystis aeruginosa* aislada de aguas del humedal Albúferas de Medio Mundo en medio BG11 (25 días de cultivo).

1.3 Efecto Inhibidor de la Pajilla de Arroz sobre el Cultivo de *Microcystis aeruginosa*

El grado de inhibición del crecimiento de *M. aeruginosa*, expresado en número de colonias evaluadas vivas (las colonias muertas son aquellas que sedimentaron por ausencia de una estructura de flotación llamada aerotopo), fue dependiendo de la cantidad de paja usada en los tratamientos. El efecto inhibitorio de la pajilla de arroz sobre las poblaciones de *M. aeruginosa*, se observaron en todos los tratamientos, con excepción del tratamiento control ($p < 0,000$) (ver Apéndice 1), esto se aprecia en la Figura 15, donde se observa un decaimiento de la curva de crecimiento poblacional de *M. aeruginosa*. Para los tres tratamientos de la pajilla de arroz el número de colonias de *M. aeruginosa* se redujo significativamente durante el periodo de evaluación de 28 días ($p < 0,001$) (ver Apéndice 3). La inhibición del crecimiento de *M. aeruginosa* con el tratamiento 3, que contenía 10 gramos de pajilla por litro, fue mayor que con los otros tratamientos.

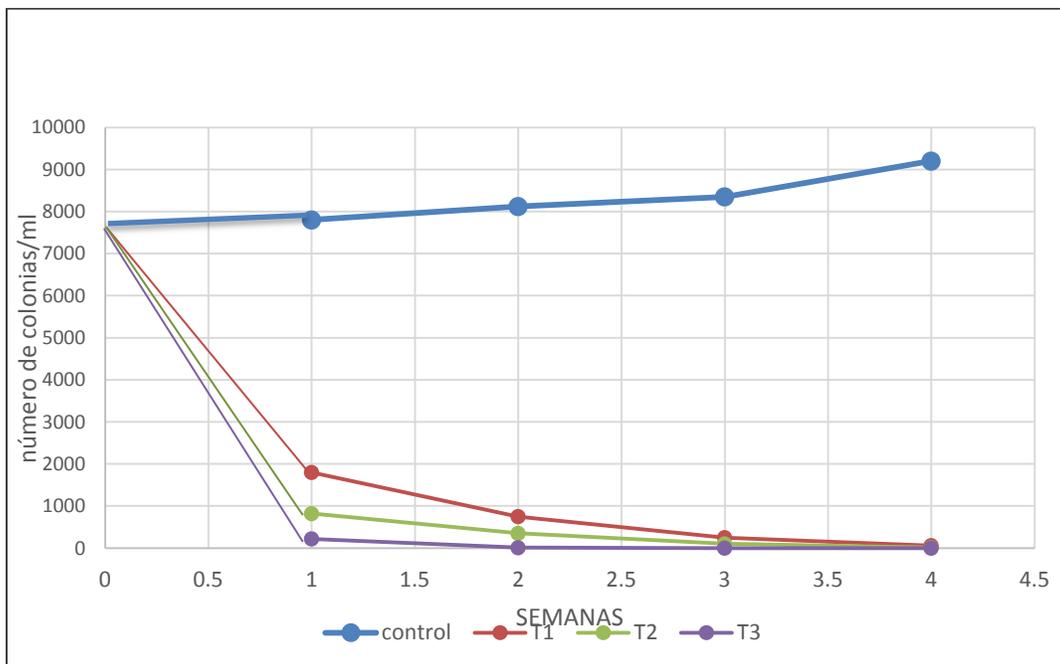


Figura 15. Efecto de los tratamientos con pajilla de arroz sobre el cultivo de *M. aeruginosa*

Se observaron reducciones de más del 50 por ciento en el número de colonias de *M. aeruginosa* desde la primera semana con todos los tratamientos, siendo el tratamiento 3 el que registró una mayor reducción de colonias con respecto a las otras. Este tratamiento no registra presencia de colonias para las semanas 3 y 4.

El tratamiento control mostró un aumento del 17,9 por ciento de colonias en la cuarta semana ($9200 \pm 44,5$) (ver Tabla 7).

Tabla 7:

Valores promedio de la cantidad de colonias de M. aeruginosa (colonias.mL⁻¹) en los diferentes tratamientos por las 4 semanas. Los resultados son los promedios de tres réplicas y la desviación estándar.

Tratamientos	semana 1	semana 2	semana 3	semana 4
control	7800 ± 76.37	8120 ± 57.7	8350 ± 52.9	9200 ± 44.5
T1	1800 ± 340.7	750 ± 30.55	250 ± 20	60 ± 23.09
T2	820 ± 168.22	350 ± 26.45	100 ± 20	10 ± 5.29
T3	220 ± 17.32	10 ± 2.88	0	0

Fuente: Elaboración propia.

1.4 Actividad alelopática

Esta investigación registra una alta actividad alelopática en todos los tratamientos siendo la más baja en la primera semana del tratamiento (75,6 por ciento) (ver Figura 16) y la más alta para el tratamiento 3 (100 por ciento) en la tercera y cuarta semana respectivamente (ver Tabla 8).

Los resultados del ANOVA de una vía muestran que la actividad alelopática de la pajilla de arroz presentó una influencia significativa en las semanas que duraron los tratamientos ($p=0,000$), véase la Tabla 9. La prueba de Tukey mostró que las primeras

semanas presentaron diferencias significativas a la actividad alelopática ($p < 0,001$). Las semanas 3 y 4 no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) (ver Apéndice 4); dado que en estas semanas alcanzaron el máximo valor de actividad alelopática.

Tabla 8:

Valores promedio de la actividad alelopática de la pajilla de arroz sobre colonias de M. aeruginosa en los diferentes tratamientos por las 4 semanas. Los resultados son los promedios de tres réplicas más la desviación estándar.

Tratamientos	semana 1	semana 2	semana 3	semana 4
T1	75.6 ± 3.72	90.08 ± 0.39	97.2 ± 0.26	99.35 ± 0.33
T2	90.85 ± 1.65	95.5 ± 0.64	99.73 ± 0.29	99.94 ± 0.06
T3	97.64 ± 0.51	99.92 ± 0.05	100 ± 0	100 ± 0

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 9

Análisis de la varianza de la actividad alelopática según el aumento entre las semanas y tratamientos

ANOVA					
Actividad alelopática					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1687,329 ^a	11	153,394	101,630	,000
Intersección	328131,345	1	328131,345	217400,609	,000
TRATAMIENTOS	476,185	2	238,092	157,746	,000
SEMANAS	772,591	3	257,530	170,625	,000
Error	36,224	24	1,509		
Total	329854,897	36			
Total corregida	1723,553	35			

Fuente: Elaboración propia.

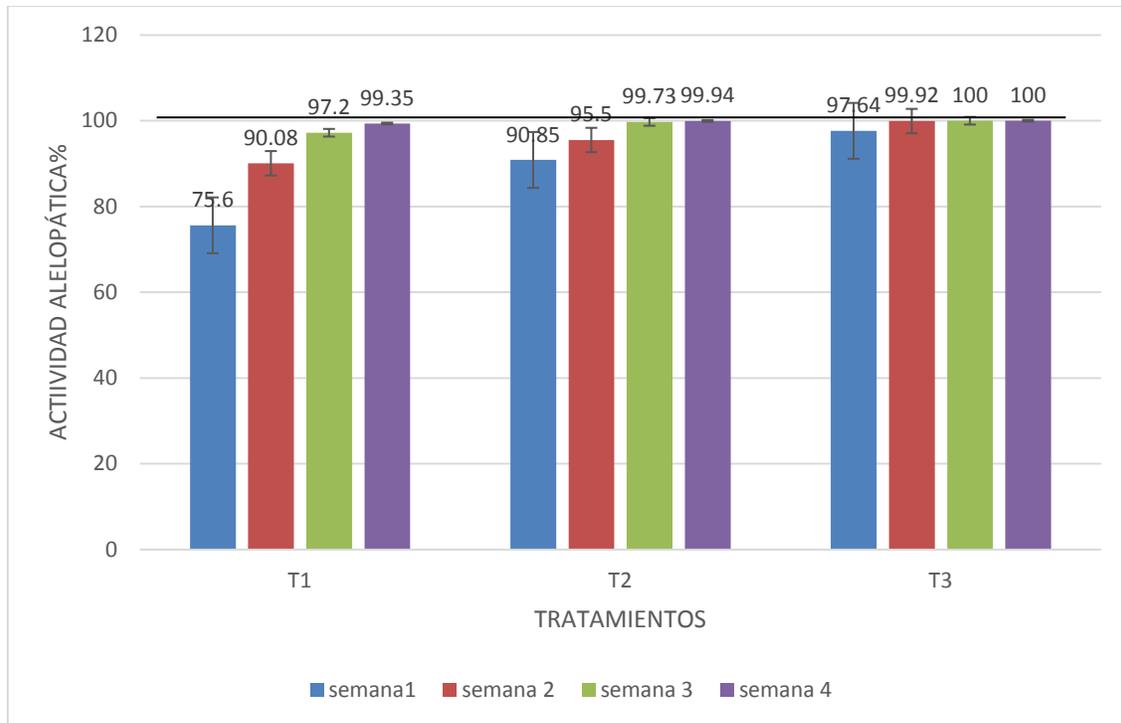


Figura 16: Gráfico de la actividad alelopática de la pajilla de arroz sobre colonias de *M. aeruginosa* en los diferentes tratamientos por las 4 semanas.

1.5 Variación de la Concentración de Nitrógeno total y Fósforo total

La concentración inicial de nitrógeno total y fósforo total en todos los tratamientos fue de 2,47 y 0,2 mg/L, respectivamente. En la Tabla 10 se observó que la cantidad de nitrógeno total en los tratamientos alcanzó un valor mínimo de $0,081 \pm 0,017$ mg/L en la semana 4 (tratamiento 1) y un valor máximo de $6,09 \pm 0,99$ mg/L en la semana 4 (tratamiento 3) (ver Figura 17).

Para la concentración de nitrógeno total, el análisis de la varianza mostró diferencias significativas ($p=0,000$) (ver tabla 11). La prueba de Tukey mostró que todas las semanas presentaron diferencias significativas a la variación de nitrógeno total presente en el efluente ($p < 0,01$) (ver Apéndice 5).

Tabla 10

Registro semanal promedio de las concentraciones de nitrógeno total con las desviaciones estándares ($\pm DS$) de los Tratamientos y el control.

	semana 1	semana 2	semana 3	semana 4
Tratamiento 1	1,1	0,9	0,4	0,08
	1,4	0,7	0,5	0,1
	0,9	1,1	0,66	0,065
	1,13\pm0,25	0,9\pm0,2	0,52\pm0,131	0,081\pm0,017
Tratamiento 2	3,92	3,53	3,2	3,1
	4,01	3,3	3,6	3,01
	3,81	3,61	3,01	3,23
	3,91\pm0,105	3,48\pm0,160	3,27\pm0,31	3,1\pm0,11
Tratamiento 3	4,85	4,73	2,04	6,11
	5,1	4,5	1,98	6,91
	4,7	4,9	2,5	5,12
	4,88\pm0,20	4,71\pm0,2	2,17\pm0,28	6,09\pm0,99
Control	0,84	0,9	0,92	0,94
	0,8	0,88	0,9	0,91
	0,88	0,91	0,94	0,96
	0,84\pm0,04	0,89\pm0,015	0,92\pm0,02	0,94\pm0,02

Fuente: *Elaboración propia*

Respecto al fósforo total se observa en la Tabla 12 que la concentración del control alcanzó un mínimo de $0,133\pm 0,02$ mg/L y un valor máximo de $0,193\pm 0,035$ mg/L en la semana 4. Se observó para todos los tratamientos un registro de los valores de fósforo mínimo de $0,21\pm 0,076$ mg/L, correspondiente al tratamiento 1 en la semana 1; y un valor máximo de $8,53\pm 0,40$ mg/L para el tercer tratamiento en la semana 4 tal como se puede apreciar en la Tabla 12.

Tabla 11

Análisis de la varianza de las concentraciones de nitrógeno total en las semanas y en los tratamientos

ANOVA					
Nitrógeno total					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	92,626 ^a	11	8,421	232,464	,000
Intersección	213,428	1	213,428	5892,064	,000
Semanas	21,302	3	7,101	196,025	,000
Tratamientos	57,135	2	28,568	788,660	,000
semanas * tratamientos	14,189	6	2,365	65,285	,000
Error	,869	24	,036		
Total	306,923	36			
Total corregido	93,495	35			

Para la concentración de fósforo total, el análisis de la varianza mostró diferencias significativas entre el tiempo de exposición y los tratamientos ($p=0,000$) (ver tabla 13). La prueba de Tukey mostró que todas las semanas presentaron diferencias significativas a la variación de fósforo total presente en el efluente ($p < 0,01$) (ver Apéndice 5).

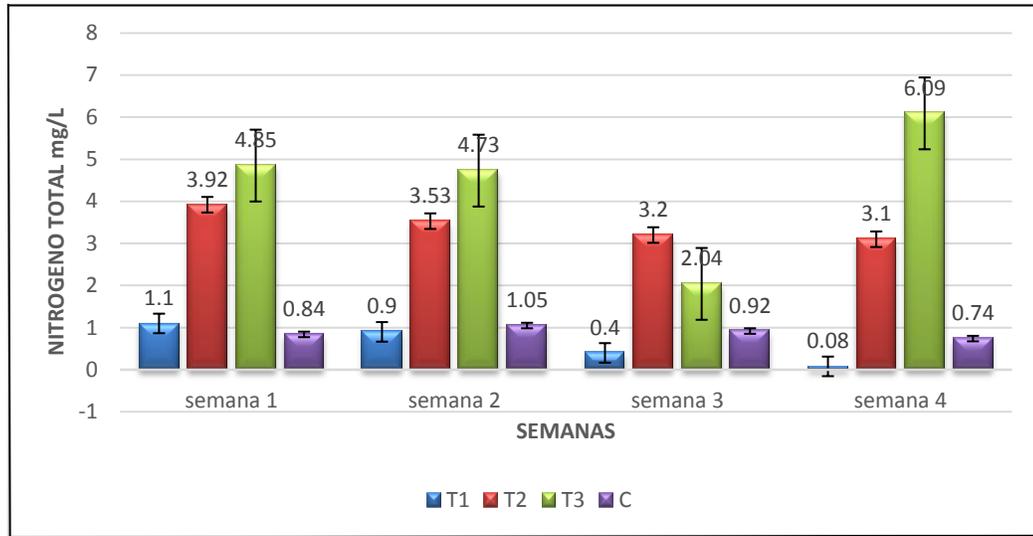


Figura 17. Resultados de los valores de nitrógeno total \pm DS (mg/L) en las 4 semanas evaluadas.

Tabla 12

Registro semanal promedio de las concentraciones de fósforo total con las desviaciones estándares (\pm DS) de los Tratamientos y el control.

	semana 1	semana 2	semana 3	semana 4
Tratamiento 1	0,2	0,23	0,34	0,37
	0,3	0,24	0,41	0,4
	0,15	0,24	0,29	0,33
	0,21\pm0,076	0,23\pm0,005	0,34\pm0,131	0,37\pm0,04
Tratamiento 2	0,2	0,4	0,63	0,7
	0,4	0,5	0,59	0,8
	0,13	0,23	0,7	0,66
	0,24\pm0,14	0,37\pm0,13	0,64\pm0,055	0,72\pm0,07
Tratamiento 3	5,8	6,5	7,7	8,6
	5,1	6,2	8,3	8,9
	6,1	6,7	7,1	8,1
	5,66\pm0,51	6,46\pm0,25	7,7\pm0,6	8,53\pm0,40
Control	0,19	0,13	0,13	0,19
	0,23	0,11	0,15	0,23
	0,18	0,16	0,12	0,16
	0,19\pm0,02	0,13\pm0,025	0,133\pm0,02	0,193\pm0,035

Fuente: Elaboración propia

Tabla 13

Análisis de la varianza de las concentraciones de fósforo total en las semanas y en los tratamientos

Variable dependiente: fosfato total					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	374,297 ^a	11	34,027	450,044	,000
Intersección	248,273	1	248,273	3283,666	,000
Semanas	7,392	3	2,464	32,591	,000
tratamientos	359,189	2	179,595	2375,330	,000
semanas * tratamientos	7,716	6	1,286	17,008	,000
Error	1,815	24	,076		
Total	624,385	36			
Total corregido	376,112	35			

a. R al cuadrado =0,995 (R al cuadrado ajustada =0,993)

Fuente: Elaboración propia.

1.6 Variación del pH, Conductividad y Ratio NT/PT

El pH fluctuó entre $6,75 \pm 1.6$ (semana 1) a $7,79 \pm 3.5$ (semana 4) (ver Tabla 14).. Los valores de conductividad fluctuaron desde 1.46 ± 0.1 (semana 1) a 5.88 ± 0.5 mS/cm (semana 3) ($p < 0.05$) (ver Figura 19).

Los valores de los ratios de NT/PT mostraron un valor inicial de 6.66 y fluctuó con un ratio mínimo de 0,21 para el primer tratamiento en la cuarta semana, mientras que para el tratamiento 2 se obtuvo un ratio de 13 en la primera semana de evaluación (ver Figura 20 y Tabla 15).

El análisis de la varianza sometido a los parámetro pH y conductividad, mostró diferencias significativas en todo el experimento ($p < 0,05$) (ver Apéndice 7 y 9).

Tabla 14

Valores promedios de pH obtenidos de los distintos tratamientos en las 4 semanas. \pm D.S. (T1=tratamiento 1, T2=tratamiento 2, T3=tratamiento 3).

	S1	S2	S3	S4
T1	7.095 \pm 0.11	7 \pm 0.09	7.28 \pm 0.11	7.79 \pm 0.11
T2	7.11 \pm 0.2	7.05 \pm 0.11	7.2 \pm 0.10	7.37 \pm 0.098
T3	6.75 \pm 0.12	7.03 \pm 0.21	6.95 \pm 0.089	6.77 \pm 0.11

Fuente: Elaboración propia.

El índice de correlación de Pearson usado para determinar la relación entre el pH, fósforo total, nitrógeno total, conductividad y el porcentaje de la actividad Alelopática mostró correlaciones positivas entre fosforo total y nitrógeno total ($r=0,758$; $P=0,01$), con el fósforo total y la conductividad presento una correlación positiva media ($r=0,539$; $P=0,01$) y una correlación negativa media con fósforo total y el pH ($r= -0,587$; $P< 0,001$). Las relaciones entre el nitrógeno total y el pH presentaron una correlación negativa considerada ($r= -0,648$; $P<0,01$), la conductividad y el porcentaje de actividad Alelopática registró una correlación positiva muy fuerte ($r= 0,819$; $P<0,01$) (ver Apéndice 10).

Las correlaciones realizada entre la cantidad de colonias y los diferentes parámetros (pH, conductividad, nitrógeno total, fósforo total y el porcentaje de la actividad alelopática) mostraron una correlación negativa con altas significancias excepto las correlaciones con nitrógeno total y pH ($-0,174$ y $-0,60$ respectivamente).

Tabla 15

Valores de los ratios obtenidos NT/PT

	SEMANA 0	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4
CONTROL	6.66	4.42	8.076	7.076	3.89
T1	6.6	5	3.91	1.176	0.21
T2	6.6	13	8.82	5	4.42
T3	6.6	0.83	0.72	0.26	0.7

Fuente: Elaboración propia.

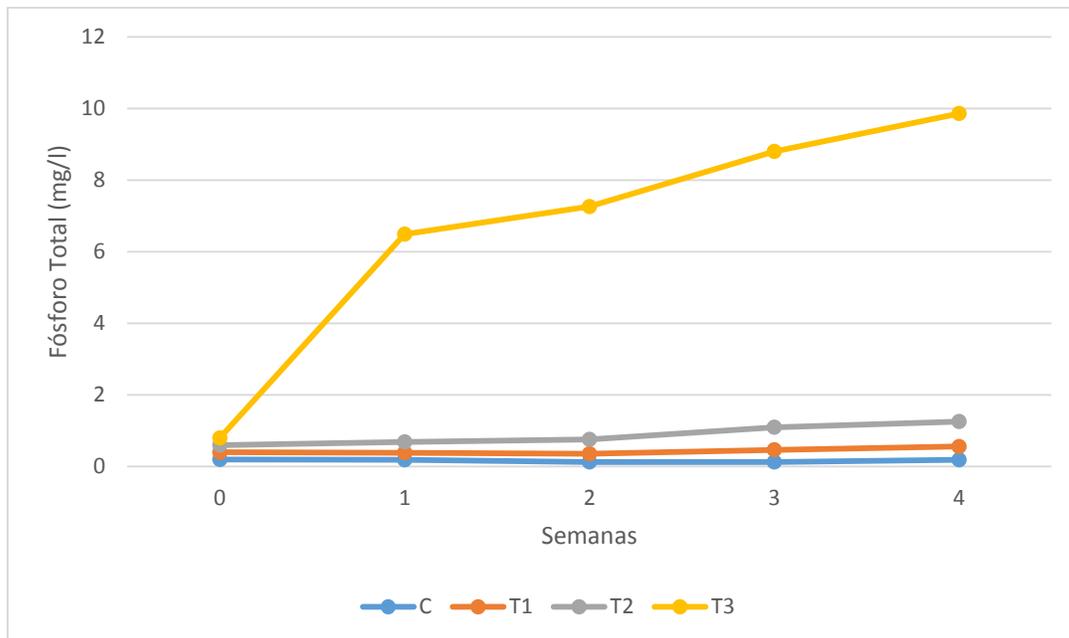


Figura 18. Resultado de los valores de fósforo total (mg/L) en las cuatro semanas evaluadas

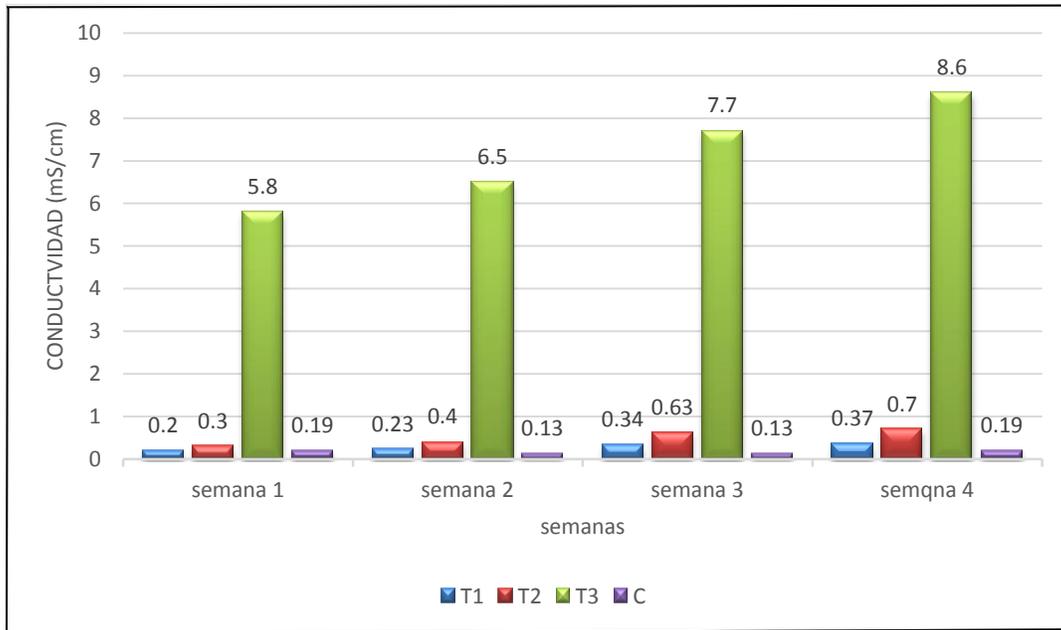


Figura 19. Resultado de los valores de conductividad (mS/cm) en las cuatro semanas evaluadas.

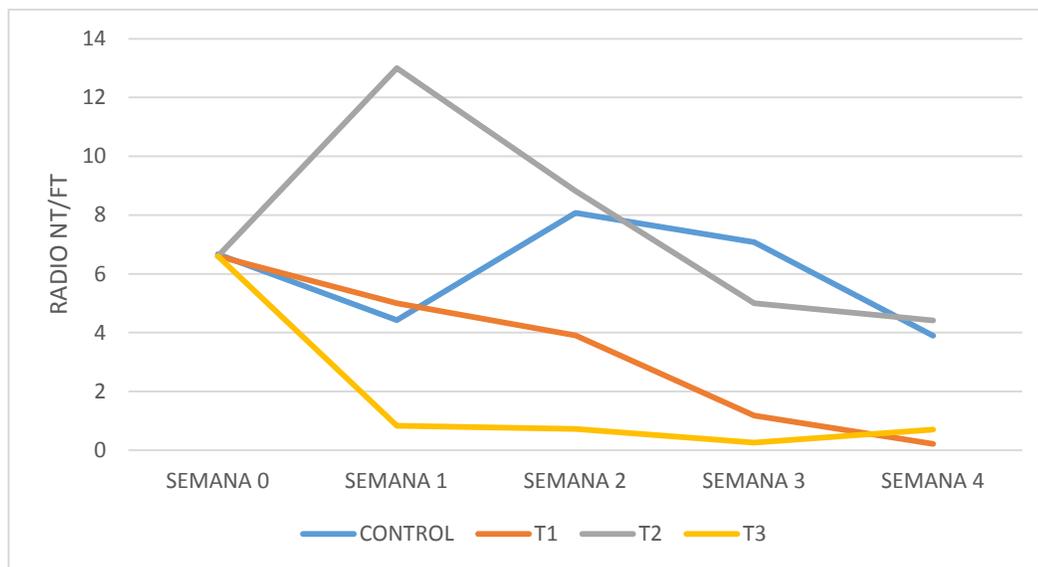


Figura 20. Resultado de los valores del ratio nitrógeno total/ fósforo total (mg/L) en las cuatro semanas evaluadas.

2. DISCUSIÓN

La morfología de la cepa aislada del efluente de la Albufera de Medio Mundo en este estudio es similar a la reportada por la literatura científica con rangos que oscilan de 55 a 650 μm del diámetro de la colonia (Reynolds et al., 1981). La cianobacteria *M. aeruginosa* presentó variaciones de la densidad y forma, esto debido a cambios del estadio del ciclo de vida (Vidal, 2002) y aerótopos o vesículas de gas, rasgo característico de este género.

En cuanto a los medios de cultivo empleados para el crecimiento poblacional de *M. aeruginosa*, en este experimento, fue muy similar al reportado por Carvajal (2011) en medio selectivo Z8 e igual crecimiento en medio BG11 (Sedan et al., 2013). Este resultado indica que esta cianobacteria es capaz de responder satisfactoriamente en distintos medios demostrando su versatilidad fisiológica (Patterson et al., 1994).

En el presente estudio se observó una reducción total (100 por ciento) de las poblaciones de *M. aeruginosa* en laboratorio (ver Apéndice 1 y 3) sometidas a la actividad alelopática de la pajilla de arroz; comparando a un estudio realizado por Park et al. (2006), demostraron la actividad alelopática del extracto de la cascarilla de arroz sobre el crecimiento de *M. aeruginosa*, en donde sólo se alcanzó un valor de actividad alelopática del 26 por ciento para el día 8 de experimentación, en condiciones de laboratorio.

La presente investigación no tuvo como objetivo el análisis y registro de los metabolitos secretados por la pajilla de arroz, dichas sustancias generan la muerte celular de *M. aeruginosa*, sin embargo la mortandad registrada de las colonias de *M. aeruginosa* en esta investigación, nos permite sostener que los compuestos alelopáticos en la pajilla de arroz parecen limitar la germinación, el crecimiento, fotosíntesis, respiración y metabolismo de otras plantas incluyendo algas potencialmente dañinas tal como lo refiere Park et al., 2006a. La liberación de compuestos fenólicos como el ácido ferúlico y el ácido p-cumárico por descomposición de las paredes celulares de la paja y otros

compuestos aromáticos de la descomposición incompleta de la lignina también puede contribuir al efecto alelopático como lo cita Newman y Barret (1993). Por lo descrito anteriormente, se evidencia que bajo ciertas condiciones de experimentación los metabolitos presentes en la paja de arroz tienen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las cianobacterias, en especial *M. aeruginosa*, por lo que probablemente, en el presente experimento, estos compuestos contribuyeron a la inhibición del crecimiento de las poblaciones de la cianobacteria *M. aeruginosa*.

En esta investigación los valores en el pH en los tratamientos variaron en el tiempo; inicialmente se determinó valores dentro del rango de la acidez, para posteriormente, determinar valores de pH alcalinos en la cuarta semana de experimentación. Así mismo, en las últimas semanas, el tratamiento 2 y el tratamiento 3 presentaron valores de pH de 7,1 y 7,0 respectivamente (ver Tabla 14). Lo anterior puede explicarse por el tipo de metabolismo fotosintético que tiene la cianobacteria. El medio de cultivo se alcaliniza por el consumo de la fuente de carbono generando bases como el NaOH a lo largo de su crecimiento tal como lo describe Rodríguez et al. (2006). La medición del pH puede convertirse en una evaluación cuantitativa de la cantidad de biomasa en el medio: una disminución de cianobacterias como la registrada en esta investigación las últimas semanas generarían una disminución de grupos hidroxilos en el medio por consiguiente disminuiría así el pH (Rodríguez y Triana, 2006)

En este estudio, el fósforo total presentó un gran incremento para el tratamiento 3 al finalizar la cuarta semana con una alta significancia ($F= 404,2$; $p<0,001$) (ver Apéndice 5) y correlación negativa media con el crecimiento colonial de las cianobacterias ($r= -0,435$; $P<0,01$) (ver Apéndice 6). Esto fue comparado con las evaluaciones del fósforo para el crecimiento y producción de biomasa de *Microcystis* realizado por Almeyda et al. (2006), en donde la variación de fósforo generó la paralización del crecimiento y el aumento de la biomasa y una disminución de la toxina microcistina. Wicks y Thiel (1990) encontraron una correlación negativa muy alta entre el fósforo y las concentraciones de *Microcystis aeruginosa* en cultivos discontinuos. En contraste, existen autores que expresan un crecimiento de *M. aeruginosa* cuando se incrementan

las concentraciones de fósforo, así como lo refiere Kotak et al. (2000). Esto sirve para enfatizar el papel crítico del fósforo en la velocidad de crecimiento de la cianobacteria. En la presente investigación este efecto del incremento de fósforo se debió a la liberación de estos elementos al medio acuático, por parte de la descomposición de la biomasa de las poblaciones de cianobacterias que fueron afectas por la acción alelopática de la pajilla de arroz.

Los estudios de laboratorio indican que los aumentos de las cargas de nitrógeno aumentan el crecimiento y la toxicidad de esta especie de cianobacteria, ya sea en ensayos o en cultivos (Sivonen, 1990). Xu et al. (2010) sugieren que el nitrógeno es el principal nutriente limitante para *M. aeruginosa*, presentando al nitrógeno como una variable de limitación secundaria. La presente investigación muestra una tendencia al descenso de nitrógeno total en todos los tratamientos, siendo el valor máximo encontrado de 4,85 mg/L y el valor mínimo registrado fue de 0,08 mg/L. Estos valores son inferiores a los observados por Graham et al. (2009), quien reporta como concentración limitante a 8 mg/L. Según Graham et al. (2009) valores superiores a este límite producen un decrecimiento poblacional y una disminución de la producción de la toxina microcistina. Los datos de esta investigación muestran correlaciones negativas débiles con el número de colonias de *M. aeruginosa* (-0,174; $P < 0,001$), corroborando el papel del nitrógeno en la presencia de las floraciones de *M. aeruginosa* en laboratorio,

Modelos más recientes han incorporado la relación del ratio NT:PT como una fórmula predictiva en la evaluación de la sanidad de los cuerpos de agua (Smith, 1982) y un apoyo en la interpretación de las variaciones de los nutrientes en laboratorio (Pick y Lean, 1987). Se ha informado de valores óptimos en el radio NT/PT (en la proporción o razón) para el crecimiento de las cianobacterias a nivel de laboratorio: Rhee y Gotham (1980) reportaron valores de 4 para *Microcystis* sp, Kappers (1984) y Ahigren(1985) encontraron valores de 8,5 y 18 respectivamente para *M. aeruginosa* . En esta investigación el valor máximo del ratio NT:PT encontrado para el tratamiento control fue de 8,07 en la segunda semana (Tabla 15) y en los otros tratamientos el valor

máximo del ratio NT:PT fue de 13 para el tratamiento 2 en la segunda semana. Esto demuestra que los ratios anteriormente presentados de NT/PT son influyentes para justificar el crecimiento o inhibición de *M. aeruginosa*.

Finalmente, los resultados muestran un aumento de la conductividad eléctrica con diferencias altamente significativas ($p < 0,001$) con respecto al tratamiento control y una mayor correlación positiva con el porcentaje de la actividad alelopática ($r = 0,819$; $P < 0,01$), lo que podría indicar la liberación de electrolitos de *M. aeruginosa* por el daño a la pared celular de manera irreversible. Esto sería ocasionado por la adición de compuestos fenólicos presentes en la pajilla de arroz, generando la desintegración de las células de *M. aeruginosa*. Estos hallazgos coinciden a los exhibidos por Zhang et al. (2008), donde la p - Hidroxibenzoico inhibió el crecimiento de *M. aeruginosa* destruyendo la estructura de la pared celular. A su vez, Einhellig (1995), propuso que existen alteraciones asociadas a la membrana como parte de la acción común de ácidos fenólicos. El sugirió que después de su entrada a través de la membrana, los ácidos fenólicos pueden causar despolarización de la membrana celular y generar un cambio en el flujo y retención de iones. Esta actividad podría estar relacionada con los resultados que se han obtenido en la presente investigación, evidenciándose en la disminución de la población de esta cianobacteria al realizar el conteo de colonias de *M. aeruginosa*, el incremento de la conductividad eléctrica por electrolitos liberados cuando se da lisis celular, por lo tanto esto generó el aumento de la actividad alelopática.

CONCLUSIONES

1. La cepa colonial no axénica aislada del humedal Albúferas de Medio Mundo, corresponde a la especie *Microcystis aeruginosa*. Las cuales pudieron adaptarse bien a condiciones de laboratorio previas a la experimentación, y a su vez respondió satisfactoriamente al medio BG11 demostrando su versatilidad metabólica.
2. El uso de la pajilla de arroz (*Oriza sativa*) empleada en esta investigación fue eficiente para el control de las poblaciones de la cianobacteria tóxica *Microcystis aeruginosa*. Los componentes presentes en la pajilla de arroz han sido los agentes principales de la inhibición de la población de esta cianobacteria, considerándose a la pajilla de arroz como un importante recurso a usar en el control de floraciones de cianobacterias.
3. La Actividad alelopática constatada en esta investigación, con resultados del 100% en el tratamiento T3, conformado por 10 g de pajilla de arroz en un litro de cultivo de *M. aeruginosa* fue seleccionado como el tratamiento más eficiente sobre los otros tratamientos, porque logró los valores más altos del porcentaje de actividad alelopática y un menor registro de las poblaciones de *M. aeruginosa* al término de la investigación.
4. Los resultados muestran una tendencia al descenso de nitrógeno total en todos los tratamientos, mientras que el fósforo total presentó un gran incremento significativo ($p < 0,001$) para el tratamiento 3, debido a la liberación de estos compuestos al medio acuático, por parte de la descomposición de la biomasa de las poblaciones de cianobacterias que fueron afectas por la acción alelopática de la pajilla de arroz.

RECOMENDACIONES

1. Se sugiere más investigaciones adicionales para caracterizar la actividad alguicida de estos compuestos a mayor escala, simulando las condiciones naturales.
2. Se deben realizar más investigaciones para determinar la concentración del parámetro oxígeno disuelto, necesario para sostener la descomposición de la paja de arroz en los meses de verano donde se evidencia más la presencia de estas floraciones algales.
3. Se deben realizar valoraciones de concentraciones totales de las toxinas de las cianobacterias usando pruebas sencillas como el Test de ELISA.

REFERENCIAS

- Adams, W. H., Stone, J. P., Sylvester, B., Stoner, R. D., Slatkin, D. N., Tempel, N. R., and Siegelman, H. W. (1988). Pathophysiology of cyanoginosin-LR: in vivo and in vitro studies. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 96, 248-257
- Ahlgren, G. 1985: Growth of *Microcystis wesenbergii* in batch and chemostat cultures. *Verhandlungen der internationalen Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie* 22 : 2813-2820.
- AlgaeBase* 2016. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 07 June 2016.
- Almeida V, K Cog, S Tsai, D Moon, (2006). Colorimetric test for the monitoring of microcystins in cyanobacterial culture and environmental samples from Southeast-Brazil. *Braz J Microbiol*, 37: 192–198
- Babica P., Blaha L., Marsalek B.(2006) Exploring the natural role of microcystins ± review of effects on photoautotrophic organisms. *Journal of Phycology* 42(1): 9-20.
- Ball A.S., M. Williams, D. Vincent and J. Robinson. (2001). Algal growth control by a barley straw extract. *Bioresource Technology* 77:177-181
- Barrett, P.R.F., J.C. Curnow, and J.W. Littlejohn. 1996. The control of diatom and Cyanobacteria blooms in reservoirs using barley straw. *Hydrobiologia* 340:307-311.
- Berenguel M, Rodríguez F., Ación F., & JL García. (2004). Model predictive control of pH in tubular photobioreactors. *Journal of Process Control* 14: 377-387.

- Blackburn S., Malcolm A., Christopher J., Stuart J. Newman, and Gary J. (1996). Effect of salinity on growth and toxin production in cultures of the bloom-forming cyanobacterium *Nodularia spumigena* from Australian waters. *Phycologia*. vol.35(6), 511-522.
- Bonilla, S. (Ed). (2009). Cianobacterias planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de gestión. Uruguay: Programa Hidrológico Internacional
- Brennan, L., Owende, P., (2010). Biofuels from microalgae – a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14, 557–577.
- Briand, J.F., Leboulanger C., Humbert J. F., Bernard C. and Dufour F. (2004). *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance, or global warming? *Journal of Phycology* 40: 231-238
- Brownlee E.F., S.G. Sellner and K.G. Sellner. (2003). Effects of barley straw (*Hordeum vulgare*) on freshwater and brackish phytoplankton and cyanobacteria. *Journal of Applied Phycology*. 15:525-531.
- Burgessa G, Javier G. Fernández-Velasco, (2007). Materials, operational energy inputs, and net energy ratio for photobiological hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32, 1225–1234.
- Cardenas, D. and Touma, M. (2011). *Estudio comparativo de dos métodos de fertilización del cultivo de arroz: usando briquetas de urea con diferentes concentraciones de zeolita y el sistema tradicional en las zonas Febres Cordero provincia de los ríos.* tesis de pregrado, Escuela Superior politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador.

- Carvajal Cruz, G. E. (2011). *Ocurrencia de floraciones de cyanobacterias tóxicas en cuerpos de agua dulce, Argentina* (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Exactas).
- Castro, D., Vera D., Lagos L., Garcia C. and Vasquez M. (2004). The effect of temperature on growth and production of paralytic shellfish poisoning toxins by the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* C10. *Toxicon* 44: 925-932.
- Chorus, I. and Bartram J. (1999). *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. London, Chapman and Hall.
Disponible en:
http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxiccyanbact/en/:416
- Cobo, F. (2015). Métodos de control de las floraciones de cianobacterias en aguas continentales. *Limnetica*, 34(1), 247-268.
- Cortés AR (1998) Las mareas rojas, AGT Editor, México.
- Cox, P. A., Banack B., Murch S. J, Rasmussen U., Tien G., Bidigare R. R., Metcalf J. S., Morrison L. F., Codd G. A. and Bergman B. (2005). Diverse taxa of cyanobacteria produce beta-N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid. *Proceedings of the National Academy Society* 102: 5074- 5078
- Cybis, L. F., Bendati M. M., Marodin Maizonave C. R, Werner V. R. and Domingues C. D. (2006). Manual para estudo de cianobacterias planctonicas em mananciais de abastecimento publico: Caso da represa Lomba do Sabao e lago Guaiba, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Porto Alegre, PROSAB: 144pp.
- Dawson, R.M.1988. The toxicology of microcystins. *Toxicon*, 36(7), 953- 962
- De Leon, L., & Yunes, J. S. (2001). First report of a microcystin-containing bloom of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in the La Plata River, South America. *Environmental Toxicology*, 16(1), 110-112.

- Dias, E., Andrade M. , Alverca E., Pereira E., Batore M. C., Jordan P. and Silva M. J. (2009). Comparative study of the cytotoxic effect of microcystin-LR and purified extracts from *Microcystis aeruginosa* on a kidney cell line. *Toxicon* 53: 487-495
- Dokulil M. T., Teubner K. (2000). Cyanobacterial dominance in lakes, *Hydrobiologia*, vol. 438. pg. 1-12
- Durán, F. 1999. Cultivos rentables de clima cálido. Granja integral. Grupo latino editores. Colombia. pg. 146 – 147
- Einhellig FA (1995) Mechanism of action of allelochemicals in allelopathy. In: In Inderjit K, Dakshini MM, Einhellig FA (eds). Allelopathy: organisms, processes, and applications. American Chemical Society, Washington DC, pp 96–116
- Everall N.C. & D.R. Lees. (1996). The use of barley straw to control general and blue-green algal growth in a Derbyshire reservoir. *Water Research* 30:269-376
- FAO (2003). Conservación del Heno y la Paja, capítulo IX Residuos secos de los cultivos, Paja de arroz. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/007/x7660s/x7660s0d.html>.
- Giannuzzi, L. (2009). Cianobacterias y cianotoxinas: identificación, toxicología monitoreo y evaluación de riesgo. Corrientes, Moglia Impresiones: 238pp
- Graham L.E., Graham J.M., Wilcox L.W. (2009) .Algae. San Francisco, Benjamin
- Cummings Hudnell, K.H., Dortch, Q., (2008). A synopsis of research needs identified at the interagency, international symposium on cyanobacterial harmful algal blooms (ISOC-HAB). In: Hudnell, K.H. (Ed.), Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 619, vol. XXIV. pp. 16–43

- Haande, S., Rohrlack, T., Ballot, A., Røberg, K., Skulberg, R., Beck, M. and Wiedner, C. (2008) Genetic characterisation of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) isolates from Africa and Europe. *Harmful Algae* 7, 692-701.
- Hyenstrand P, Blomqvist P, Petterson A. (1998). Factors determining cyanobacterial success in aquatic systems: a literature review, *Archiv für Hydrobiologie Special Issues Advances in Limnology*. 51: 41 -62.
- Jang, M.H., Jung J. M. and Takamura N. (2007). Changes in microcystin production in cyanobacteria exposed to zooplankton at different population densities and infochemical concentrations. *Limnology and Oceanography* 52: 1454 - 1466.
- Juliano, B. (1994). El Arroz en la nutrición humana. Instituto Internacional de Investigación en Arroz (IRRI). Colección FAO: Alimentación y Nutrición.176p.
- Kieffer et al. (2015). Ensayos en laboratorio para el control de floraciones algales mediante ultrasonido. *Revista Ciencia, Docencia y Tecnología*, Santa Fe, Argentina.
- Kotak, B.G., Lam, A.K.-Y., Prepas, E.E., Hrudey, S.E. (2000). Role of chemical and physical variables in regulating microcystin-LR concentration in phytoplankton of eutrophic lakes. *Can J Fish Aquat Sci* 57:1584-1593.
- Leflaive, J. and Ten-Hage L. (2007). Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwaters: a comparison of allelopathic compounds and toxins. *Freshwater Biology* 52: 199-214.
- Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J. (2003). *Biología de los microorganismos*. España: Prentice Hall, 8 Ed.
- Martínez (2006). Mecanismos fisicoquímicos de la degradación de la toxina microcistina-LR. Recuperado. <http://www.ptolomeo.unam.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/132.248.52.100/978/MARTINEZSALGADO.pdf?sequence=1>.

- Mendoza-Carbajal, 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.
- MINAGRI; ANA. (2011). Protocolo Nacional de la Calidad en Cuerpos Naturales de Agua Superficial. Lima.
- Montoya H. (2014). Especies cianobacteriales, formadoras potenciales de floraciones en el lago Titicaca (Perú). Recuperado de <http://journal.upao.edu.pe/Arnaldoa/article/viewFile/169/164>.
- Newman, J. R. and Barrett, P. R. F. (1993). Control of *Microcystis aeruginosa* by decomposing barley straw, *J. Aquat. Plant Manage.* 31: 203-206.
- Oliver J.W. and Atsumi S. 2014. Metabolic design for cyanobacterial chemical synthesis. *Photosynth. Res.* 120:249–261. 10.1007/s11120-014-9997-4.
- Park, M.H., Han, M.S., Ahn, C.Y., Kim, H.S., Yoon, B.D., Oh, H.M., (2006^a). Growth inhibition of bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* by rice straw extract. *Lett. Appl. Microbiol.* 43, 307–312.
- Park J., Craggs R. & Shilton A. (2011^a). Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology*.102: 35-4
- Patterson, G., Bolis, C. (1994). Regulation of scytonemin accumulation in cultures of *Scytonema ocellatum*. II. Nutrient requirements. *Appl Microbiol Biotechnol* 43:692-700.
- Pick, F.R., and Lean, D.R.S. (1987). The role of macronutrients (C, N, P) in controlling cyanobacterial dominance in temperate lakes. *N Z J Mar Freshwat Res* 21: 425–434. 14.
- Pizzolon L. (1996). Importancia de las cianofíceas como factor potencial de toxicidad en las aguas continentales. *Interciencia* 21, 239–45

- Oliver, R. L., & Ganf, G. G. (2000) Freshwater blooms. In The ecology of cyanobacteria: Their diversity in time and space. B. A. Whitton, & M. Potts (eds). Dordrecht, Kluwer
- Osborne, N.J.T., Webb P. and Shaw G. R. (2001). The toxins of *Lyngbya majuscula* and their human and ecological health effects. *Environment International* 27: 381-392
- Paerl H. W. and Huisman (2009). Climate Change: a Catalyst for Global Expansion of Harmful Cyanobacterial Blooms. *Eviron. Microb. Rep.* 1, 27–37
- Rajabi Islami, H. (2010). *The comparison of inhibitory effects of barley and rice straws to control of algae and aquatic weeds in fish ponds* (Doctoral dissertation, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran).
- Reigosa, M.J., Pedrol, N., Sánchez-Moreiras, A., González, L. (2002). Stress and allelopathy. En: Reigosa, M.J., Pedrol, N. (Eds.). *Allelopathy from molecules to ecosystems*, pp. 231-256. Science Publishers, Enfield. New Hampshire, USA.
- Reigosa, M.J., Sánchez-Moreiras, A., González, L. (1999). Ecophysiological approaches to allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18(5):577-608.
- Reynolds, C. S. (2006). *Ecology of phytoplankton*. Cambridge: Cambridge University Press
- Reynolds CS, Jaworski GHM, Cmiech HA, Leedale GF (1981) On the annual cycle of the blue-green alga *M. aeruginosa* Kütz Emend. Elenkin. *Phil Trans R Soc Lond B* 293: 419–477
- Rhee, G-Y.; Gotham, T. J. (1980): Optimum N : P ratios and coexistence of planktonic algae. *Journal of phycology* 16: 486-489.
- Ridge y Pillinger (1996). Towards understanding the nature of algal inhibitors from barley straw. Recuperado de http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-5782-7_48#page-1

- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., Herdman, M., & Stanier, R. Y. (1979) Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *J Gen Microbiol* 111: 1-61.
- Rodríguez Cuesta, A. R., Serrano, T., & Catherine, F. (2006). *Evaluación del pH en el cultivo de spirulina spp.(Arthrospira) bajo condiciones de laboratorio* (Bachelor's thesis).
- Rabotnov, T.A., (1974). On the allelopathy in the phytocenoses. *Izo Akademie Nauk SSR Series Biology* 6:811-820
- Sánchez T. H. (2014). Cultivo de *Spirulina platensis* (Gomont) Geitler en Fast Biol T20 para la obtención de biomasa como fuente alternativa de proteína / Heidi Isabel Sánchez Torres. Lima.
- Sivonen, K. (1990) Effect of light, temperature, nitrate, orthophosphate and bacteria on growth of and hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhii* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 2658–2666.
- Sivonen (1996). Cyanobacterial toxins and toxin production. *Revista Phycologia*: November 1996, Vol. 35, No. 6S, pp. 12-24.
- Sivonen K and Jones, G.J. (1999). Cyanobacterial toxins. En: Chorus I, Bartram J, editores. *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. London: St Edmundsbury Press; p. 41-112
- Sedan, D., Echenique, R. O., Giannuzzi, L., Andrinolo, D., Rosso, L., Caixach, & Salerno, G. (2013). Caracterización filogenética y toxicológica de una cepa de *Microcystis aeruginosa* productora de Microcystinas aislada del ambiente. In *VII Congreso de Medio Ambiente*. alud Pública. 18(2): 73-81
- Sinkkonen, A. (2006). Ecological relationships and allelopathy En: Reigosa, M.J., Pedrol, N., González, L. (Eds.). *Allelopathy: A physiological process with ecological implications*, pp. 373-393. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.

- Smayda, T. J. (1997). Harmful algal blooms: Their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnology and Oceanography* 42:1137–1153.
- Smith (1982). The nitrogen and phosphorus dependence of algal biomass in lakes: an empirical and theoretical analysis. *Limnol. Oceanogr.* 27: 1101-1112
- Smith A.J. (1982) Modes of cyanobacterial carbon metabolism. In: Carr NG, Whitton BA (eds) *The biology of cyanobacteria*. Blackwell, Oxford, pp 47–85, 688 pp
- Stewart, I., Seawright A.A. and Shaw G. R.(2008). Cyanobacterial poisoning in livestock, wild mammals and birds--an overview. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 619: 613-637.
- Svircev, Z., Krstic, S. Miladinov-Mikov, M. Baltic V. and Vidovic M. (2009). Freshwater cyanobacterial blooms and primary liver cancer epidemiological studies in Serbia. *Journal of Environmental Science and Health - Part C: Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews* 27:36-55.
- Suzuki, Y., Takabayashi, T., Kawaguchi, T. & Matsunga, K. (1998). Isolation of an allelopathic substance from the crustose coralline algae, *Lithophyllum* spp. and its effect on the brown alga, *Laminaria religiosa* Miyabe (Phaeophyta). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 225: 69-77.
- Thomas, A. D., Saker, H. L., Norton H. J. Olsen, R. D. (1998). Cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* as a probable cause of death in cattle in northern Queensland. *Australian Veterinary Journal* 76: 592-594
- Vidal, L. (2012). Variación temporal de la morfología de *Microcystis aeruginosa* Kutzing (Cyanophyceae) en el embalse de Salto Grande Uruguay-Argentina. Tesis de Grado. Profundización en limnología. Sección de Limnología Montevideo. Facultad de Ciencias-Universidad de la República. 39 pp.

- Vidal, L. and Kruk C. (2008). *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) extends its distribution to Latitude 34°53'S: taxonomical and ecological features in Uruguayan eutrophic lakes. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 3: 142-151
- Vincent WF (2000) Cyanobacterial dominance in the polar regions. In: Whitton BA, Potts M (eds) *The ecology of cyanobacteria*. Kluwer, Dordrecht, pp 321–340
- Walsby, A. F. Schanz y M. Schmid (2005). The Burgundy-blood phenomenon a model of buoyancy change explains autumnal waterblooms by *Planktothrix rubescens* in lake zurich. *New Phytologist* 169: 109-12
- Welch, I. M., P. R. F. Barrett, M. T. Gibson and I. Ridge. (1990). Barley straw as an inhibitor of algal growth I: studies in the Chesterfield Canal. *J. Appl. Phycol.* 2:231-239
- Wicks, R.J., Thiel, P.G. (1990). Environmental factors effecting the production of peptide toxins in floating scums of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in a hypertrophic African reservoir. *Environ. Sci. Technol.*, 24, 1413-1418.
- Xu H, Paerl HW, Qin B, Zhu G, Gao G (2010) Nitrogen and phosphorus inputs control phytoplankton growth in eutrophic Lake Taihu, China. *Limnol Oceanogr* 55:420–432
- Zalba, R. (2013), Nuestros recursos son limitados. Consultoría y educación ambiental. Disponible en <http://ceambientalblog.blogspot.mx/2013/11/nuestros-recursos-son-limitados.html>
- Zhang TT, He M, Wu AP, Nie LW (2008) Allelopathic inhibition of *p*-hydroxybenzoic acid on *Microcystis aeruginosa* Kuetz with no toxicological effects on *Cyprinus carpio* Linnaeus. *Acta Scientiae Circumstantiae* 28(9):1887–1893.

TERMINOLOGIA

Los conceptos de los términos indicados a continuación se han tomado del libro “Biología de los Microorganismos” (Madigan et al., 2003):

Biomasa: La biomasa es aquella materia orgánica de origen vegetal o animal, incluyendo los residuos y desechos orgánicos, susceptible de ser aprovechada energéticamente.

Contaminante: Sustancia o agente indeseable presente en el medio ambiente, generalmente con efectos peligrosos para la salud. Todo cambio significativo en la composición o condiciones normales de un medio, constituye una forma de contaminación.

Correlación: La correlación determina la relación o dependencia que existe entre las dos variables, es decir, determinar si los cambios en una de las variables influyen en los cambios de la otra. En caso de que suceda, diremos que las variables están correlacionadas o que hay correlación entre ellas.

Degradación: Modificaciones desfavorables del estado ecológico y ambiental como resultado de procesos naturales y/o actividades humanas.

Efluente: Término empleado para nombrar a las aguas servidas con desechos sólidos, líquidos o gaseosos que son emitidos por viviendas y/o industrias, generalmente a los cursos de agua; o que se incorporan a estas por el escurrimiento de terrenos causado por las lluvias.

Fitoplancton: Los fitopláctones son bacterias son de origen vegetal que viven flotando en el agua marina. Son capaces de fijar el CO₂ de la atmosfera. De esta manera el carbono pasa a ser de la cadena alimenticia, por lo tanto también pasa a ser una fuente de energía. Otro organismo que fue y es responsable de entregarnos oxígeno, es la cianobacteria. Estas bacterias contienen clorofila y pigmentos fotosintéticos que son utilizados para captar la energía de la luz solar y sintetizar azúcares.

Floración algal: Proliferación rápida y excesiva de algas, generalmente por la presencia de elevados niveles de nutrientes y otras condiciones favorables. La floración de algas puede provocar la desoxigenación del agua cuando mueren las algas, ocasionando la muerte de la flora y la fauna acuáticas.

Microalga: Son microorganismos unicelulares que tienen la capacidad de realizar la fotosíntesis. Esto es, son capaces de generar biomasa orgánica a partir de CO_2 y luz, usando al agua como dador de electrones, oxidándola a O_2 .

Microorganismo: Es un ser vivo, o un sistema biológico, que solo puede visualizarse con el microscopio. En su mayoría son unicelulares, aunque en algunos casos se trate de organismos cenóticos compuestos por células multinucleadas, o incluso multicelulares.

XI. APÉNDICES

APÉNDICE 1

REGISTRO DE LA CANTIDAD DE COLONIAS EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS Y SUS RÉPLICAS

		T1	T2	T3	control
SEMANA1	RÉPLICA 1	2200	820	220	7800
	RÉPLICA 2	1620	570	190	7820
	RÉPLICA 3	1600	500	190	7780
SEMANA2	RÉPLICA 1	800	350	10	8000
	RÉPLICA 2	780	340	10	8200
	RÉPLICA 3	740	300	5	8000
SEMANA3	RÉPLICA 1	200	100	0	8000
	RÉPLICA 2	240	60	0	8300
	RÉPLICA 3	220	80	0	8600
SEMANA4	RÉPLICA 1	80	10	0	9000
	RÉPLICA 2	40	8	0	9200
	RÉPLICA 3	40	0	0	9500

APÉNDICE 2

PRUEBA DE NORMALIDAD DE VARIANZA Y ESTADISTICO LEVENE A LOS POBLACIONES DE *M. aeruginosa*

		Pruebas de normalidad					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	tratamientos	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Población	semana1	,216	9	,200*	,857	9	,089
	semana2	,200	9	,200*	,846	9	,068
	semana3	,181	9	,200*	,862	9	,101
	semana4	,263	9	,073	,783	9	,053

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

Prueba de homogeneidad de varianzas Las poblaciones de *M. aeruginosa*

población

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
16,365	3	32	,070

APÉNDICE 3

ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS POBLACIONES DE *M. AERUGINOSA* CON LOS TRATAMIENTOS

			Suma de cuadrados	Gl	F	Sig.
Entre grupos	(Combinado)		4012461,861	3	7,906	,000
	Término lineal	Contraste	3583375,606	1	21,183	,000
		Desviación	429086,256	2	1,268	,015
Dentro de grupos			5413253,111	32		
Total			9425714,972	35		

APÉNDICE 4

PRUEBA DE TUKEY DE LA VARIACIÓN DE LA ACTIVIDAD ALELOPÁTICA

(I)SEMANAS	(J)SEMANAS	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.
	SEMANA2	-7,1272*	,57914	,000
SEMANA1	SEMANA3	-10,8317*	,57914	,000
	SEMANA4	-11,7861*	,57914	,000
	SEMANA1	7,1272*	,57914	,000
SEMANA2	SEMANA3	-3,7044*	,57914	,000
	SEMANA4	-4,6589*	,57914	,000
	SEMANA1	10,8317*	,57914	,000
SEMANA3	SEMANA2	3,7044*	,57914	,000
	SEMANA4	-,9544	,57914	,372
	SEMANA1	11,7861*	,57914	,000
SEMANA4	SEMANA2	4,6589*	,57914	,000
	SEMANA3	,9544	,57914	,372

APÉNDICE 5

PRUEBA DE TUKEY DE LA VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO

HSD TUKEY

(I) semanas	(J) semanas	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
semana 1	semana 2	,2800*	,08972	,022
	semana 3	1,3222*	,08972	,000
	semana 4	1,8983*	,08972	,000
semana 2	semana 1	-,2800*	,08972	,022
	semana 3	1,0422*	,08972	,000
	semana 4	1,6183*	,08972	,000
semana 3	semana 1	-1,3222*	,08972	,000
	semana 2	-1,0422*	,08972	,000
	semana 4	,5761*	,08972	,000
semana 4	semana 1	-1,8983*	,08972	,000
	semana 2	-1,6183*	,08972	,000
	semana 3	-,5761*	,08972	,000

APÉNDICE 6

PRUEBA DE TUKEY DE LA VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FÓSFORO TOTAL

(I) semanas	(J) semanas	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
semana 1	semana 2	-,3178	,12962	,094
	semana 3	-,8533*	,12962	,000
	semana 4	-1,1644*	,12962	,000
semana 2	semana 1	,3178	,12962	,094
	semana 3	-,5356*	,12962	,002
	semana 4	-,8467*	,12962	,000
semana 3	semana 1	,8533*	,12962	,000
	semana 2	,5356*	,12962	,002
	semana 4	-,3111	,12962	,104
semana 4	semana 1	1,1644*	,12962	,000
	semana 2	,8467*	,12962	,000
	semana 3	,3111	,12962	,104

APÉNDICE 7

ANÁLISIS DE VARIANZA DEL pH DE LOS TRATAMIENTOS

ANOVA de un factor

PH

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0,03	2	,01	12,217	,000
Intra-grupos	0,04	33	,00		
Total	0,06	35			

APÉNDICE 8

PRUEBA DE HOMEGENEIDAD DE LA VARIANZA DE CONDUCTIVIDAD, DE LA ACTIVIDAD ALELOPATICA, FÓSFORO TOTAL, NITRÓGENO TOTAL Y PH

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
CONDUCTIVIDAD	3,834	2	33	,602
ALELOPATIA	12,249	2	33	,540
FOSFORO	79,319	2	33	,670
NITROGENO	22,254	2	33	,900
PH	,791	2	33	,842

APÉNDICE 9

ANALISIS DE LA VARIANZA DE LA CONDUCTIVIDAD

ANOVA de un factor

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,864	2	,432	3,683	,036
CONDUCTIVI Intra-grupos	3,871	33	,117		
Total	4,735	35			

APÉNDICE 10

COEFICIENTES DE CORRELACIÓN LINEAL DE PEARSON (R) ENTRE LOS VALORES DE FÓSFORO TOTAL, NITRÓGENO TOTAL, CONDUCTIVIDAD, ACTIVIDAD ALELOPÁTICA, NÚMERO DE COLONIAS Y PH. SIGNIFICANCIA DE P < 0.01.

Correlaciones

		FOSFORO	NITROG.	CONDUCT.	ALELOP.	PH	COLO.
FOSFORO	Correlación de Pearson	1	,758**	,539**	,434**	-,587**	-,435
	Sig. (bilateral)		,000	,001	,008	,000	,001
	N	36	36	36	36	36	36
NITROGENO	Correlación de Pearson	,758**	1	,286	,389*	-,648**	-,174
	Sig. (bilateral)	,000		,091	,019	,000	,039
	N	36	36	36	36	36	36
CONDUCTIVIDAD	Correlación de Pearson	,539**	,286	1	,819**	-,017	-,847
	Sig. (bilateral)	,001	,091		,000	,922	,000
	N	36	36	36	36	36	36
ALELOPATIA	Correlación de Pearson	,434**	,389*	,819**	1	,014	-,951
	Sig. (bilateral)	,008	,019	,000		,934	,000
	N	36	36	36	36	36	36
PH	Correlación de Pearson	-,587**	-,648**	-,017	,014	1	-,060
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,922	,934		,728
	N	36	36	36	36	36	36

** . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* . La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

APENDICE 11

TABLA DE VALORES PROMEDIO DEL NÚMERO DE COLONIAS Y DÍAS TRASCURRIDOS (PROMEDIO± DS)

DIAS	NUMERO DE COLONIAS
1	300 ± 11
2	380 ±23
3	440 ±33
4	440 ±11
5	500 ±4
6	580 ±17
7	690 ±21
8	820 ± 13
9	1000 ±31
10	1220 ±24
11	1300 ±12
12	1500 ±16
13	1600 ±18
14	1700 ±19
15	1900 ±8
16	2100 ±10
17	2200 ±9
18	2400 ±11
19	2800 ±15
20	3030 ±18
21	3150 ±21
22	3180 ± 13
23	3200 ±18
24	3240 ±13
25	3200 ±20

Fuente: Elaboración propia

APENDICE 12

DIAGRAMA DE DISPERSIÓN Y RECTA DE REGRESIÓN ENTRE EL NUMERO DE COLONIAS Y DIAS TRASCURRIDOS (r= 0.975)

