



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS

CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

**“EVALUACIÓN Y ANÁLISIS DEL SIMBIONTE
HELECHO ACUÁTICO (*Azolla sp. – anabaena azollae*)
Y SU APLICACIÓN COMO BIOFILTRO EN LA
DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES EN LA
PROVINCIA DEL TUNGURAHUA-ECUADOR”**

Trabajo de Investigación (Graduación), Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI) presentado como requisito previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica otorgado por la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Autor: Adriana Pulluquina Reyes

Tutor: Ing. Juan Ramos

Ambato – Ecuador

2013

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de Tutor del Trabajo de Investigación (Graduación) sobre el tema: **“EVALUACIÓN Y ANÁLISIS DEL SIMBIONTE HELECHO ACUÁTICO *Azolla sp. – anabaena azollae* Y SU APLICACIÓN COMO BIOFILTRO EN LA DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES EN LA PROVINCIA DEL TUNGURAHUA-ECUADOR”**, elaborado por Adriana Carolina Pulluquina Reyes, egresada de la Carrera de Ingeniería Bioquímica, de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato, certifico que el trabajo fue realizado por la persona indicada. Considero que dicho informe investigativo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Grado, que el Honorable Consejo Directivo designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Ambato, Junio del 2013

.....
Ing. Juan Ramos
TUTOR

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido del Trabajo de Investigación, Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente: **“Evaluación y análisis del simbiote helecho acuático (*Azolla sp. – anabaena azollae*) y su aplicación como biofiltro en la depuración de aguas residuales en la provincia del Tungurahua-Ecuador”**, corresponde exclusivamente a Adriana Carolina Pulluquina Reyes y como patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, Junio 2013

Adriana Carolina Pulluquina Reyes

CI: 1804375887

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Los miembros del Tribunal de Grado aprueban el presente Trabajo de Graduación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, Junio del 2013

Para constancia firman:

.....
Ing. Gladys Navas Miño

.....
Ing. Alex Valencia

.....
Ing. Dolores Robalino

DEDICATORIA

A mis padres Gladys Reyes y Luis Pulluquina, quien con gran esfuerzo y dedicación me han brindado su apoyo y amor incondicional para llegar a esta instancia de mi vida en la cual me encuentro muy feliz de poderles retribuir en parte, todo lo que ellos han hecho por mí.

A mi hijo Nicolás Acosta quien es mi motor, mi fuerza, la persona que me impulsa día a día para no dejarme caer y seguir adelante juntos brindándole mi mejor ejemplo de trabajo y perseverancia.

A mi compañero de la vida, Jorge Carrasco por todo su amor, apoyo y comprensión en todo momento.

A mis hermanos y sobrinos con quienes he compartido grandes momentos de mi vida.

AGRADECIMIENTO

A Dios y a la Virgen Dolorosa por haberme encaminado siempre por el sendero del bien.

A mi madre por su ayuda y apoyo en todo momento, gracias a tu amor hoy he llegado a ser la persona quien soy.

A mi asesor de tesis el Ing. Juan Ramos por su ayuda y guía para que hoy este proyecto se vea cristalizado, gracias por los conocimientos impartidos y su tenaz paciencia.

A mis maestros de cátedra de la Universidad Técnica de Ambato de la carrera de Ingeniería Bioquímica ya que gracias a ellos pude inmortalizar todos los conocimientos adquiridos durante todos estos años.

A la empresa de alcantarillado y agua potable EMAPA, por brindarme su apertura para poder realizar gran parte de mi tesis en sus instalaciones, en especial a la Dra. Díaz y la Ing. Jacqueline Ávila y ser más que profesionales, mis guías en todo momento de manera desinteresada.

Al Ing. Luis Chungata gerente de la Granja de Píllaro, a los propietarios de los invernaderos de frutilla en Querochaca y al Ing. Marco Castillo Propietario de Pucahuayco Parque Extremo; quienes de igual manera me prestaron su ayuda incondicional apoyándome con las muestras de *Azolla anabaena* y con información que fue de gran aporte para la realización de esta tesis.

A mis calificadores, la Ing. Dolores Robalino y el Ing. Alex Valencia por su valiosa ayuda y tiempo para que este trabajo sea presentado de la mejor manera.

A mis amigos entrañables de toda mi vida universitaria: Silvana Ramírez, Lorena Núñez y Santiago Toapaxi; por su calidez y acogida en todo momento sin importar la hora, el lugar o el día, y con quienes compartimos muchas vivencias que siempre llevare grabadas en las memorias de mi corazón.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PRELIMINARES

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	vii
RESUMEN	xiv

CAPÍTULO I EL PROBLEMA

1.1 Tema de investigación	1
1.2 Planteamiento del problema.....	1
1.2.1 Contextualización.....	2
1.2.2 Análisis crítico	4
1.2.3 Prognosis	5
1.2.4 Formulación del problema.....	6
1.2.5 Preguntas directrices:.....	7
1.2.6 Delimitación del objeto de investigación.....	7
1.3 Justificación.....	8
1.4 Objetivos:	9
1.4.1 Objetivo general:	9
1.4.2 Objetivos específicos:	9

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes investigativos.....	10
2.2 Fundamentación filosófica.....	11
2.3 Fundamentación legal.....	13
2.4 Categorías fundamentales	18
2.4.1 Azolla	18
2.4.2 Anabaena.....	18

2.4.3	Generalidades del simbiote.....	18
2.4.4	Fijación biológica del nitrógeno.....	19
2.4.6	Bases bioquímicas de la simbiosis.....	21
2.4.7	Aguas residuales.....	22
2.4.8	Impurezas en el agua.....	23
2.4.9	Bases acerca del tratamiento de aguas residuales.....	23
2.4.10	Tecnologías convencionales.....	24
2.5	Gráficos de inclusión.....	26
2.5	Hipótesis.....	27
2.6	Señalamiento de variables.....	27

CAPÍTULO III METODOLOGÍA

3.1	Enfoque.....	28
3.2	Modalidad básica de la investigación.....	28
3.2.1	De Campo.....	28
3.2.2	Experimental.....	29
3.2.3	Bibliográfica.....	29
3.3	Nivel o tipo de investigación.....	29
3.3.1	Exploratorio.....	29
3.3.2	Descriptivo.....	29
3.4	Población y muestra.....	30
3.4.1	Primera parte “evaluación y análisis de las muestras”.....	30
3.4.2	Segunda parte “validación de las muestras con mejor actividad depuradora”.....	30
3.4.3.	Diseño experimental.....	31
3.5	Operacionalización de variables.....	34
3.6	Recolección de información, procesamiento, análisis e interpretación.....	36
3.6.1	Evaluación y análisis de las muestras de <i>Azolla Anabaena</i>	36
3.7	Procesamiento y análisis.....	40
3.7.1	Selección de las muestras de <i>Azolla Anabaena</i> más efectivas.....	40

CAPÍTULO IV ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1	Análisis de los resultados.....	41
-----	---------------------------------	----

4.1.1	Evaluación general de <i>Azolla anabena</i>	41
4.1.2	Observación microscópica de <i>Azolla Anabaena</i>	41
4.1.3	Análisis del crecimiento de <i>Azolla anabaena</i>	42
4.2	Interpretación de datos.....	42
4.2.1	Análisis del crecimiento de <i>Azolla anabaena</i>	42
4.2.2	Evaluación de muestras de agua y determinación del mejor tratamiento	42
4.3	Verificación de hipótesis.....	48
5.1	Conclusiones	49
5.2	Recomendaciones.....	51

CAPÍTULO V PROPUESTA

6.1	Datos Informativos	53
6.3	Justificación.....	55
6.4	Objetivos	56
6.4.1	Objetivo General	56
6.4.2	Objetivos Específicos.....	56
6.5	Análisis de factibilidad de implementación	56
6.6	Fundamentación	57
6.6.1	Aguas residuales.....	57
6.6.2	Tecnología de depuración de vertidos	58
6.6.3	<i>Azolla anabeana</i> como alternativa	58
6.7	Metodología	60
6.8	Administración.....	61
BIBLIOGRAFÍA:		64
ANEXOS		67

ANEXOS

ANEXO A: TABLAS DE METODOLGÍA

Parámetros analizados con sus respectivas unidades

ANEXO B: TABLAS DE RESULTADOS

Valores de alturas de crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas

Valores iniciales de DBO

Valores finales de DBO

ANEXO C: GRÁFICOS

Grafico de barras del crecimiento de *Azolla anabaena*

Grafico del Análisis de Varianza procesado en el programa INFOSTAT

ANEXO D: ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

ANEXO F: FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS EN ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

ANEXO A

TABLAS DE METODOLOGÍA

Tabla A-1. Parámetros analizados con sus respectivas unidades

ANEXO B

TABLAS DE RESULTADOS

Tabla B-1. Profundidad y capacidad de las piscinas.

- Tabla B-2.** Valores de alturas de crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas 1 (25L para cada caso). Experimento preliminar
- Tabla B-3.** Valores de alturas de crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas 2 (50L para cada caso). Experimento preliminar.
- Tabla B-4.** Valores de alturas de crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas 3 (75L para cada caso). Experimento preliminar.
- Tabla B-5.** Valores iniciales de DBO
- Tabla B-6.** Valores finales de DBO
- Tabla B-7.** Tabla de resultados medidos inicialmente antes de colocar *Azolla anabaena*.
- Tabla B-8.** Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 1. Muestras de Granja de Píllaro.
- Tabla B-9.** Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 2. Muestras de Granja de Píllaro.
- Tabla B-10.** Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 3. Muestras de Granja de Píllaro.
- Tabla B-11.** Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 1. Muestras de Parque Extremo Pucahuayco.
- Tabla B-12.** Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 2. Muestras de Parque Extremo Pucahuayco.
- Tabla B-13.** Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 3. Muestras de Parque Extremo Pucahuayco.
- Tabla B-14.** Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 1. Muestras de Querochaca.
- Tabla B-15.** Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 2. Muestras de Querochaca.
- Tabla B-16.** Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 3. Muestras de Querochaca.

ANEXO D

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Tabla D-1. Análisis de la Varianza para DBO

Tabla D-2. Análisis de varianza. Parte II.

Tabla D-3. Coeficiente de Regresión para DBO

Tabla D-4. Resultados de la Estimación para DBO

Tabla D-5. Matriz de Correlación para efectos estimados

Tabla D-6. Ruta ascendente para DBO

Tabla D-7. Respuesta optimizada

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ANEXO C

GRÁFICOS

PARTE I. Gráficos de barras del crecimiento *Azolla anabaena*

Gráfico C-1. Crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas 1 (25L para cada caso). Experimento preliminar

Gráfico C-2. Crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas 2 (50L para cada caso). Experimento preliminar

Gráfico C-3. Crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas 3 (75L para cada caso). Experimento preliminar

PARTE II. Gráficos del Diseño Experimental

Gráfico C-4. Gráfico de Pareto estandarizado para DBO.

Gráfico C-5. Gráfico de efectos principales para DBO.

Gráfico C-6. Gráfico de la interacción para DBO.

Gráfico C-7. Gráfico de superficie de la Respuesta estimada.

ANEXO F

FOTOGRAFÍAS

Lugares de toma de muestras

Fotografía F-1. Granja de Píllaro

Fotografía F-2. Pucahuayco Parque Extremo

Fotografía F-3. Querochaca

Observaciones Micro y Macroscópicas

Fotografía F-4. Azolla anabaena vista macroscópica.

Fotografía F-5. Azolla anabaena vista microscópica – heterocistos.

Procedimiento

Fotografía F-7. Colocación de muestra.

Fotografía F-8. Piscinas con las muestras en crecimiento.

Fotografía F-9. Toma de muestras desde el canal de la acequia.

Fotografía F-10. Toma de muestras de agua en estudio de las piscinas.

Fotografía F-11. Medición del pH de las muestras.

Fotografía F-12. Medición de conductividad de las muestras.

Fotografía F-13. Medición de la turbidez de las muestras.

Fotografía F-14. Preparación de muestras para la medición de DQO.

Fotografía F-15. Colocación de muestras en el equipo de DQO.

Fotografía F-16. Preparación de muestras para la medición de DBO.

Fotografía F-17. Preparación de muestras para la medición de DBO.

Fotografía F-18. Laboratorio en el cual se realizó los análisis

Fotografía F-19 pH-metro

Fotografía F-20 Turbidímetro

Fotografía F-21 Conductivímetro

Fotografía F-22 Equipo para medir DQO

Fotografía F-23 Reactivos para DQO

Fotografía F-25 Equipo para medir DQO

Fotografía F-24 Espectrofotómetro

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como finalidad dar a conocer uno de los usos del simbiote o simbiosistema conformado por un helecho acuático llamado *Azolla sp.* con una cianobacteria conocida como *anabaena azollae*, los cuales al interactuar conjuntamente llevan a cabo un proceso importante como lo es la Fijación del Nitrógeno.

Así se procedió a trabajar primeramente en un experimento preliminar el cual consistió en tomar un libra y media de muestra de *Azolla anabaena*, colocarla en unas piscinas con sus respectivas réplicas. Cabe destacar que se tomaron en cuenta tres lugares de donde se tomo la muestra: La granja de Píllaro, el Parque Extremo Pucahuayco y finalmente muestras de Querochaca de un invernadero. Todos estos sitios poseían al helecho acuático como un atractivo de sus propiedades sin embargo no se conocía a fondo de sus posibles usos.

De esta manera y una vez puestas las muestras, se fueron midiendo alturas con el fin de comprobar la hipótesis que por años investigadores han descrito y es que mencionan que *Azolla anabaena* se duplica al doble de su población en el transcurso de nada más y nada menos que de cinco días; sin embargo se tomo un estimado de siete días con el propósito de emparejar varios criterios mostrados en bibliografía; comprobamos en efecto que esta hipótesis era cierta y que el simbiote tiene una facilidad de propagación asombroso.

El siguiente paso a seguir fue realizar el cambio de agua potable que era la que inicialmente se uso para hacer crecer a *Azolla anabaena* por agua residual o agua de acequia la misma que presenta un nivel de contaminación considerable y que por esta razón fue testeada con los tratamientos propuestos.

A mas de los lugares de procedencia de la muestra se tomo como factor también la cantidad de agua o profundidad de la piscina considerando tres niveles: 25, 50 y 75 L; siendo el mejor tratamiento arrojado tanto experimentalmente como al procesar los datos en STATGRAPHICS PLUS 4.0, el de la Granja de Píllaro conjuntamente con la menor cantidad de agua; debido a que *Azolla anabena* tiene antecedentes del evento Azolla de que a mayor profundidad o mayor cantidad de agua se dificulta el intercambio de gases con la atmosfera lo cual genera aparte de su degeneración, el impedimento total de su acción depuradora.

Este estudio fue necesario realizar y considero que aun más obligatorio es ahondar más en este tema puesto que generaríamos una nueva alternativa ambiental que nos llevaría a disminuir la contaminación y no solo sería de fácil acceso ya que se lo encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, sino que también sería un punto a favor de la industria en general puesto que esta idea podría implementarse con fines en pro del ambiente y mejorar así las condiciones tan devastadoras en cuanto a contaminación por las cuales atraviesa nuestro planeta hoy en día.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Tema de investigación

“Evaluación y análisis del simbiote helecho acuático (*Azolla sp. – anabaena azollae*) y su aplicación como biofiltro en la depuración de aguas residuales en la Provincia del Tungurahua-Ecuador”.

1.2 Planteamiento del problema

Durante años la falta de investigación respecto a la biotecnología ha dejado a un lado aspectos y temas relevantes que si se los pondría en la mira de los estudios y análisis científicos, se convertirían en aportes incomparables para con la ciencia y también para la sociedad en general, pues esta área de estudio en cuanto a helechos acuáticos no es conocida en nuestro país y menos en la provincia de Tungurahua.

Según reportes investigativos solo se han realizado estudios muy generalizados específicamente acerca de cómo utilizar a esta asociación simbiótica como bioabono en cultivos de arroz más no existen estudios profundos sin saber que esta sería una buena oportunidad para la población en general de explotar en la medida que sea posible lo que su naturaleza les ha puesto en frente y sacarle provecho sea dándole fines como depurador, alimento, etc.

En sí los usos son varios pero el conocer un poco más es el problema real, sin embargo este trabajo investigativo busca proporcionar la información necesaria para que las ventajas que trae consigo este simbiote no sea más un tema desconocido.

1.2.1 Contextualización

Se ha creado una industria agraria entorno a estas microalgas sobre todo en países que gozan de abundante luz solar y climatología adecuada. De entre las explotaciones a gran escala destacan por su abundancia productiva las de *Spirulina* (ahora denominada *Arthrospira*) en zonas desérticas de California e Israel así como en Tailandia, Japón, Taiwán, México, La India, China y Vietnam. En lo que se refiere a América Latina todavía se está en etapa de investigación sobresaliendo la utilización como alimento de animales y en cultivos de arroz. **(MONTAÑO, 2006)**

En Mesoamérica las especies de *Azolla* y su distribución se conocen muy poco debido a problemas de identificación. Esta planta se reproduce con rapidez y tienen la habilidad de doblar su peso en siete días. **(MONTAÑO, 2006)**

En nuestro país la producción de *Azolla-Anabaena* es una actividad nueva y se encuentra en etapa de investigación. Por esta razón no es posible realizar análisis en la oferta, sino más bien de la posibilidad de llevar a cabo la producción de *Azolla-Anabaena*. Se aprecia que el helecho se ajusta a un amplio rango de condiciones climáticas desde climas fríos hasta subtropicales y tropicales. Las *Azollas* presentan un saludable color verde natural y mejor desarrollado cuando el suelo asociado al sitio de muestreo está previsto de nutrientes, materia orgánica y una lamina fina de agua. En sitios de la costa ecuatoriana por ejemplo a pesar de que se encontraron flotando las *Azollas* presentaban una coloración rojiza mientras que en otros lugares no se ha encontrado *Azolla*. **(FRANCO, 2004)**

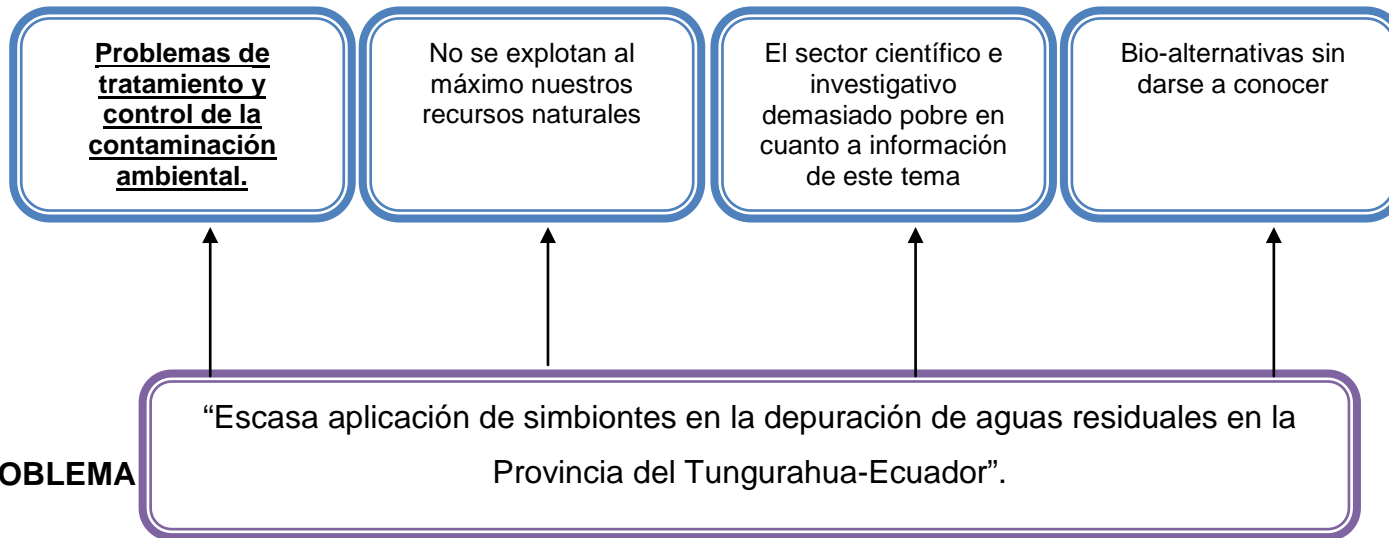
Dada la poca información disponible acerca de *Azolla* en el Ecuador se considera como punto de referencia información proveniente de otros países con una experiencia mayor en cuanto al cultivo de *Azolla* donde se conoce que para su crecimiento las temperaturas óptimas varían entre los 20 a 28°C, aunque una especie tropical puede crecer a temperaturas entre los 30

y 35°C; sin embargo cabe mencionar que *Azolla* no resiste temperaturas inferiores a los 0°C o superiores a los 35°C, necesita aguas estancadas de unos cuantos centímetros de profundidad, como fertilizante principalmente el fósforo y finalmente suelos con un pH entre 6 y 7. **(GARCÍA, 2012)**

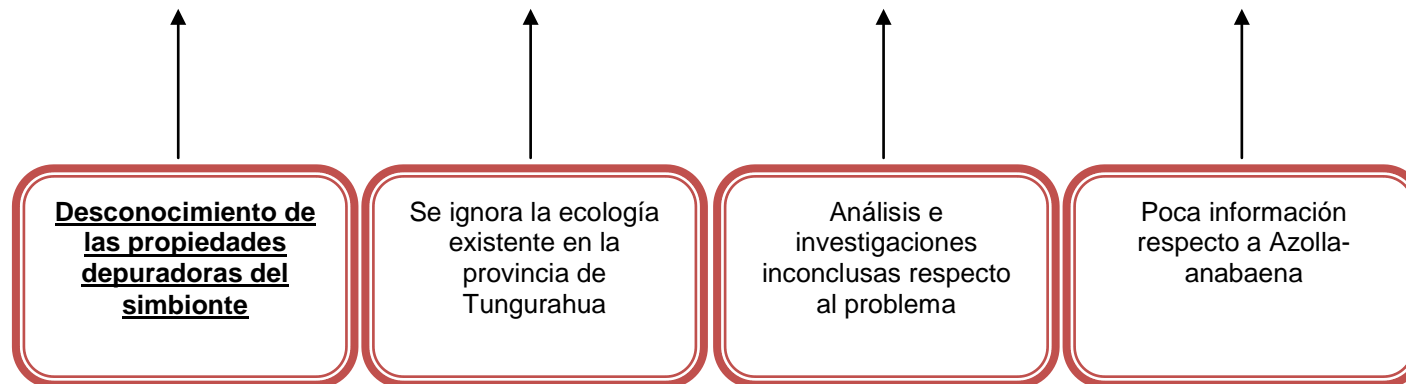
En lo que se refiere a nuestra provincia de Tungurahua los estudios de este simbiote son nulos pues en la bibliografía consultada no se reportan datos algunos relacionados a este tema, por lo que sería interesante desarrollar esta problemática con fines investigativos y sobre todo para proporcionar nuevas alternativas en cuanto a la depuración de aguas contaminadas que es una de las temáticas que más impacto está causando a nivel mundial.

1.2.2 Análisis crítico

EFFECTOS



CAUSAS



Elaborado por: Adriana Pulluquina.2013

Relación Causa - Efecto

Los resultados de la presente investigación permitirán erradicar el desconocimiento de las propiedades depuradoras del simbiote que por años ha desencadenado una serie de problemas de tratamiento y control de la contaminación ambiental. Siendo este grave conflicto para el sector científico, pues aun no existen vestigios de investigaciones similares, pese a la facilidad con la que se puede acceder a este simbiote, pues si hablamos de costos son remotamente bajos y mucho mas su mantenimiento y conservación.

De esta manera se tomaron las muestras a partir de las cuales que se evaluaron sus características principales, así como la fijación de nitrógeno atmosférico; siendo este un punto muy importante para la población entera. Un ejemplo muy claro es su utilidad en el mantenimiento de arrozales en la costa Ecuatoriana, sin embargo esto no limita sus usos ya que estos son múltiples.

1.2.3 Prognosis

Si no se llegase a realizar esta investigación, la biotecnología en la provincia de Tungurahua se quedaría como hasta ahora, interrumpida e imposibilitada de realizar o emprender estudios con los cuales se estaría aportando notablemente a la sociedad no solo al sector científico sino en general ya que microalgas como estas que las encontramos a nuestro alrededor pueden ser cultivadas para análisis referidos a su accionar benéfico como organismo simbiote, lo único que hace falta es incentivar y promover más este campo de estudio para contribuir con el desarrollo y explotación al máximo de nuestros recursos.

Al no impulsar este tipo de proyectos se incrementaría aún más la contaminación ambiental pues como ya se mencionó, el propósito de usar este simbiote para este estudio es justamente disminuir el nivel de contaminación de aguas residuales a fin de evitar las fatales consecuencias que hasta el momento se han observado no solo en nuestra naturaleza sino en la población

en general ya que las víctimas directas son los seres humanos pues ellos son los principales consumidores del agua existente en la tierra sea para uno u otro fin, y si esta agua se encuentra en condiciones deplorables, es decir no aptas para el consumo humano, lógicamente se producirán pérdidas no solo económicas sino también que existirán daños graves a la salud que podría desencadenar muertes, pues las consecuencias del uso de aguas contaminadas pueden llegar a ser terribles por más inofensivas que estas parezcan.

1.2.4 Formulación del problema

El presente trabajo investigativo se enfocó en la “Evaluación y análisis del simbiote helecho acuático (*Azolla sp. – anabaena azollae*) y su aplicación como biofiltro para la depuración de aguas residuales en la provincia del Tungurahua-Ecuador”, con la finalidad de contribuir a resolver esta problemática planteada fue necesario realizar un estudio más profundo referente al simbiote puesto que hasta ahora en nuestra provincia esto se ha mantenido fuera de contexto, pues a esta área de la biotecnología e ingeniería ambiental se la ha dejado completamente de lado lo cual causa un impacto negativo sobre la explotación de nuestros recursos pues en lugar de hacerlo se ha preferido por años el uso de agentes químicos que a diferencia de las propiedades benéficas que brinda *Azolla- Anabaena*, estos generan otro tipo de resultados.

Esta asociación simbiótica necesitaba ser dada a conocer pues es un organismo vivo como cualquier otro que presenta a más de características impresionantes (por el hecho de ser una microalga a la cual se le ha asociado una cianobacteria), propiedades como la fijación de nitrógeno que en otros países es un descubrimiento bastante reconocido. Una de las aplicaciones más prometedoras que las cianobacterias fijadoras de nitrógeno presentan es su empleo como biofertilizantes, por esta razón vale la pena extender su estudio ya que no existen referencias investigativas exactas en lo que a Ecuador respecta.

1.2.5 Preguntas directrices:

- ¿Cuál es la ubicación particular de simbionte en las localidades específicas de la provincia de Tungurahua?
- ¿Cuáles son los aspectos a tomar en cuenta al momento de realizar evaluaciones del simbionte *Azolla – Anabaena*?
- ¿Cómo se da la fijación de nitrógeno por parte del simbionte generando así el efecto depurador?
- ¿De qué manera se podría proponer la implementación de azollarios en la industria para contribuir con la descontaminación ambiental?

1.2.6 Delimitación del objeto de investigación

Área : Biotecnología.

Aspecto : Depuración de aguas residuales.

Temporal : La investigación se realizó en los meses comprendidos entre noviembre 2011 a abril 2013.

Espacial : El presente trabajo de investigación se realizará en la Granja de Píllaro, en el parque extremo Pucahuayco del mismo cantón y en Querochaca.

1.3 Justificación

El estudio del simbiote *Azolla* – *Anabaena* es un tema de gran importancia en nuestro país, en especial en Tungurahua ya que no se han realizado investigaciones similares, por lo cual es necesario emprender una investigación que promueva avances biotecnológicos y aporte con conocimientos a nuestra sociedad.

Como conocemos el género *Azolla* corresponde a diminutos helechos acuáticos, que flotan libremente en la superficie del agua, y que se halla diseminado por todas las regiones tropicales, esta es una planta que posee habilidad de fijar nitrógeno atmosférico gracias a su asociación en simbiosis con una cianobacteria que lo fija, *Anabaena azollae* que vive en las cavidades de las frondas del helecho y es capaz de usar su propia energía fotosintética para fijar el nitrógeno atmosférico y producir amonio, lo cual es aprovechado por la *Azolla* para cubrir sus propios requerimientos de nitrógeno.

La relación simbiótica entre el helecho y la cianobacteria permite que *Azolla* sea relativamente independiente de utilizar nitrógeno de su entorno, y esto ha atraído el interés de muchos científicos. Este hecho hace que *Azolla* tienda a contener niveles relativamente altos de nitrógeno y ser una fuente proteica atractiva para la alimentación animal. La biofertilización es una de las aplicaciones que las cianobacterias presentan en agricultura. *Anabaena azollae* es una cianobacteria endosimbiótica del helecho acuático *Azolla*. Dentro de las aplicaciones más recientes también destacan la degradación de contaminantes orgánicos disueltos en agua.

Es por ello que se considera importante realizar investigaciones más profundas de este simbiote ya que el estudio de sus características morfológicas, fisiológicas además de análisis fitoquímicos permitirán dar a conocer a la sociedad que esta microalga podría ser cultivada y conservada para mantener

cultivos e inclusive para depurar aguas contaminadas y así evitar el uso de agentes químicos que por su naturaleza en muchas ocasiones traen consigo graves consecuencias que hoy en día pueden ser evitadas mediante el uso y aprovechamiento de estos recursos naturales; pues cultivarlos, mantenerlos y propagarlos no implicaría en realidad un alto nivel de gastos por el contrario facilitaría y mejoraría la problemática ambiental que vivimos hoy en día.

1.4 Objetivos:

1.4.1 Objetivo general:

- Realizar una investigación especializada de las propiedades benéficas que posee el simbiote helecho acuático (*Azolla sp. – Anabaena azollae*) en la depuración de aguas residuales a partir de muestras tomadas en la provincia de Tungurahua.

1.4.2 Objetivos específicos:

- Ubicar la ecología particular del simbiote en localidades específicas de la provincia de Tungurahua.
- Evaluar de manera general al simbiote *Azolla – anabaena* a partir de las muestras tomadas.
- Identificar la forma de fijación de nitrógeno del simbiote y como es que genera el efecto depurador de aguas contaminadas.
- Proponer la implementación de azollarios en la industria y su contribución con la descontaminación ambiental.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes investigativos

En distintos países los estudios acerca del helecho acuático *Azolla s.p* - *Anabaena s.p* han sido los referentes a la evaluación de varias cepas nativas de Azolla en suelos, alimentación no convencional de cerdos, como sustituto de la proteína convencional en dietas para pollos de engorde, producción de biomasa en sistemas de serie de plantas acuáticas fertilizadas como residual porcino, etc.; pero en sí lo que respecta a estudios de caracterización en el Ecuador específicamente en la provincia de Tungurahua no han sido reportados hasta la actualidad conforme la bibliografía que se ha revisado para esta investigación. **(FRANCO, 2004)**

Se puede destacar que *Azolla* fue destinado en nuestro país a convertir los arrozales en fábricas de abono, para aprovecharse en todo el sistema agrícola nacional, provocando nuestro salto a la agricultura orgánica, constituyendo un suceso único en el mundo. La alimentación y la agricultura se encuentran ahora en la mira, en medio del alza de los precios del petróleo, el aumento de la población mundial y la emergencia de los países en cuanto a su economía. **(FRANCO, 2004)**

La agricultura descansa en el nitrógeno, elemento que ha sido tradicionalmente provisto por fertilizantes artificiales, que han contaminado los suelos, aguas superficiales y acuíferos al igual que la flora y fauna benéficas del ambiente, restando su potencial productivo a largo plazo. **(FRANCO, 2004)**

La excepcionalmente elevada concentración natural de nitrógeno del *Azolla*, que llega a 7 % en base seca, junto a la estructura de los arrozales, le convierte en el camino obligado que debe tomar la agricultura del país. En este

sentido resulta estratégico para el país activar un proyecto para diseminar el uso de la Azolla. **(FRANCO, 2004)**

Azolla-Anabaena es un pequeño helecho acuático y un recurso natural promisorio del Ecuador que se probó como fertilizante alternativo de arroz con resultados positivos; la producción de arroz con Azolla dio 7.2 t/ha mientras que con urea dio 4.5 t/ha con lo cual se concluyó que es necesario extender este experimento a más sitios. **(FRANCO, 2004)**

Con la ejecución del proyecto de cultivo masivo de Azolla se activa por primera vez esta tecnología a escala comercial. Así mismo es una novedosa expectativa del agro ecuatoriano la producción del bioabono Azolla en arrozales de inundación para ser extraído, secado, ensacado y vendido para su aplicación como abono en otros cultivos. **(MONTAÑO, 2005)**

Se ha comprobado la existencia de la cianobacteria Anabaena y el helecho Azolla en el Litoral Ecuatoriano y actualmente el Instituto de Ciencias Químicas de la ESPOL se encuentra realizando un proyecto acerca de la aplicación de la simbiosis diazotrófica entre Azolla- Anabaena como abono verde para el cultivo de arroz como ya se ha venido mencionando en este apartado del presente trabajo investigativo. **(FRANCO, 2004)**

2.2 Fundamentación filosófica

El presente estudio pretendió ofrecer una amplia información acerca de la asociación simbiótica *Azolla s.p - Anabaena s.p* del cual se conoce muy poco y cuyos estudios únicamente se han centrado en generalizarlo como un biofertilizante apto para el cuidado de los cultivos de arroz pero de esto únicamente se estaría hablando en lo que refiere a la Región Litoral del país, mientras que en el resto de regiones aún se desconoce la utilidad que se le puede dar a este helecho acuático sin saber que a este lo podemos encontrar ampliamente distribuido en la naturaleza.

En sí lo que se buscó con este estudio fue recolectar la mayor cantidad de información tanto de manera teórica como experimental de tal modo que se pueda proporcionar nuevas alternativas que sean favorables para el medio ambiente, pues como sabemos este se encuentra en uno de los momentos más críticos en donde alternativas como esta contribuirían con su preservación y cuidado. Por esta razón para esta investigación se consideraron los paradigmas tanto positivista como naturalista los cuales se conectan con las corrientes filosóficas de realismo e idealismo respectivamente.

Al paradigma positivista también se le ha denominado Cuantitativo, empírico-analítico racionalista este surge de las ciencias naturales y se extrapola a las ciencias sociales. Una de las pretensiones de este paradigma es sostener que las predicciones es una explicación del hecho.

Se considera a la realidad única y fragmentable en partes que se pueden manipular independientemente. Así tenemos pues varios estudios que realizamos en este tema como son caracterizaciones, evaluaciones ecológicas y fitopatogénicas, etc. El sujeto y el objeto en este caso son independientes, siendo en este caso el sujeto la asociación simbiótica *Azolla-anabaena* mientras que el objeto fue lógicamente profundizar más en cuanto a sus utilidades dentro de diferentes áreas específicamente en la depuración de aguas contaminadas.

La investigación es objetiva y libre de valores. Entre los métodos aplicables predominan los cuantitativos. Los diseños pre-estructurados pueden ser esquematizados. Su escenario puede ser mediante laboratorio o por muestreo en este caso se realizó primeramente un muestreo en diferentes lugares de la provincia luego de conservarlos un tiempo para ver la velocidad de multiplicación del simbiote; se llevó dichas muestras a un laboratorio donde se procedió a realizar las respectivas evaluaciones propuestas. En cuanto a la lógica de análisis se conoce que está orientado a la verificación, confirmatorio,

reduccionista, inferencial e hipotético deductivo con un posterior análisis de resultados como ya se mencionó anteriormente.

Por otro lado está el paradigma naturalista cuyo campo de acción son las ciencias del espíritu. Existen múltiples realidades construidas, interrelacionadas y dependientes de las demás.

El sujeto y el objeto en este caso interactúan y son inseparables. No se admite la posibilidad; solo es posible desarrollar hipótesis de trabajo limitadas en un tiempo y espacio. La investigación está determinada por valores del investigador, de la teoría en que se fundamente, etc. Entre los métodos aplicables predominan los cualitativos. En este caso se determinó cuales muestran presentaron multiplicación inmediata del simbiote y cuales se multiplicaron lentamente. Los diseños pre-estructurados son abiertos, emergentes, nunca completos. Su escenario puede ser por campo. Está orientado al descubrimiento exploratorio, expansionista, descriptivo e inductivo.

La falta de información relacionada a este tema en la sociedad da resultado de las falencias científicas y tecnológicas que posee nuestro país y en especial nuestra provincia y que para resolverlas se necesita de prontas y eficientes soluciones, que son objetivos que tienen como coincidencia la contradicción que existe entre el nivel de conocimientos que tiene el hombre en un momento dado y lo que está por conocerse.

2.3 Fundamentación legal

El presente estudio se centró específicamente en el aprovechamiento al máximo de nuestros recursos naturales sin afectar nuestro ambiente de alguna u otra manera y así tratar de brindar alternativas naturales para la solución de problemas reales como lo es la contaminación de aguas; por esta razón y en base a lo mencionado se tomarán en cuenta los siguientes puntos legales:

CONSTITUCIÓN ECUATORIANA

Capítulo segundo. Biodiversidad y recursos naturales

Sección primera. Naturaleza y ambiente

Art. 395.- La Constitución reconoce los siguientes principios ambientales:

1. El Estado garantizará un modelo sustentable de desarrollo, ambientalmente equilibrado y respetuoso de la diversidad cultural, que conserve la biodiversidad y la capacidad de regeneración natural de los ecosistemas, y asegure la satisfacción de las necesidades de las generaciones presentes y futuras.
2. Las políticas de gestión ambiental se aplicarán de manera transversal y serán de obligatorio cumplimiento por parte del Estado en todos sus niveles y por todas las personas naturales o jurídicas en el territorio nacional.
3. El Estado garantizará la participación activa y permanente de las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades afectadas, en la planificación, ejecución y control de toda actividad que genere impactos ambientales.
4. En caso de duda sobre el alcance de las disposiciones legales en materia ambiental, éstas se aplicarán en el sentido más favorable a la protección de la naturaleza.

Art. 396.- El Estado adoptará las políticas y medidas oportunas que eviten los impactos ambientales negativos, cuando exista certidumbre de daño.

En caso de duda sobre el impacto ambiental de alguna acción u omisión, aunque no exista evidencia científica del daño, el Estado adoptará medidas protectoras eficaces y oportunas.

La responsabilidad por daños ambientales es objetiva. Todo daño al ambiente, además de las sanciones correspondientes, implicará también la obligación de

restaurar integralmente los ecosistemas e indemnizar a las personas y comunidades afectadas.

Cada uno de los actores de los procesos de producción, distribución, comercialización y uso de bienes o servicios asumirá la responsabilidad directa de prevenir cualquier impacto ambiental, de mitigar y reparar los daños que ha causado, y de mantener un sistema de control ambiental permanente.

Las acciones legales para perseguir y sancionar por daños ambientales serán imprescriptibles.

Art. 397.- En caso de daños ambientales el Estado actuará de manera inmediata y subsidiaria para garantizar la salud y la restauración de los ecosistemas. Además de la sanción correspondiente, el Estado repetirá contra el operador de la actividad que produjera el daño las obligaciones que conlleve la reparación integral, en las condiciones y con los procedimientos que la ley establezca. La responsabilidad también recaerá sobre las servidoras o servidores responsables de realizar el control ambiental. Para garantizar el derecho individual y colectivo a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, el Estado se compromete a:

1. Permitir a cualquier persona natural o jurídica, colectividad o grupo humano, ejercer las acciones legales y acudir a los órganos judiciales y administrativos, sin perjuicio de su interés directo, para obtener de ellos la tutela efectiva en materia ambiental, incluyendo la posibilidad de solicitar medidas cautelares que permitan cesar la amenaza o el daño ambiental materia de litigio. La carga de la prueba sobre la inexistencia de daño potencial o real recaerá sobre el gestor de la actividad o el demandado.
2. Establecer mecanismos efectivos de prevención y control de la contaminación ambiental, de recuperación de espacios naturales degradados y de manejo sustentable de los recursos naturales.

3. Regular la producción, importación, distribución, uso y disposición final de materiales tóxicos y peligrosos para las personas o el ambiente.
4. Asegurar la intangibilidad de las áreas naturales protegidas, de tal forma que se garantice la conservación de la biodiversidad y el mantenimiento de las funciones ecológicas de los ecosistemas. El manejo y administración de las áreas naturales protegidas estará a cargo del Estado.
5. Establecer un sistema nacional de prevención, gestión de riesgos y desastres naturales, basado en los principios de inmediatez, eficiencia, precaución, responsabilidad y solidaridad.

Art. 398.- Toda decisión o autorización estatal que pueda afectar al ambiente deberá ser consultada a la comunidad, a la cual se informará amplia y oportunamente. El sujeto consultante será el Estado. La ley regulará la consulta previa, la participación ciudadana, los plazos, el sujeto consultado y los criterios de valoración y de objeción sobre la actividad sometida a consulta.

El Estado valorará la opinión de la comunidad según los criterios establecidos en la ley y los instrumentos internacionales de derechos humanos.

Si del referido proceso de consulta resulta una oposición mayoritaria de la comunidad respectiva, la decisión de ejecutar o no el proyecto será adoptada por resolución debidamente motivada de la instancia administrativa superior correspondiente de acuerdo con la ley.

Art. 399.- El ejercicio integral de la tutela estatal sobre el ambiente y la corresponsabilidad de la ciudadanía en su preservación, se articulará a través de un sistema nacional descentralizado de gestión ambiental, que tendrá a su cargo la defensoría del ambiente y la naturaleza.

PRINCIPIOS GENERALES DE DERECHO INTERNACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE

PRINCIPIOS DE ACCIÓN PREVENTIVA

El principio de prevención de la contaminación debe diferenciarse de la obligación de evitar daños ambientales. De acuerdo a esta nueva norma, un estado puede estar obligado a prevenir daños dentro de su propia jurisdicción. Por lo tanto, es necesario detener la eliminación de sustancias tóxicas en cantidades o en concentración que excedan la capacidad de degradación del medio ambiente, a fin de garantizar que no se causarán daños a los ecosistemas. Es preferible actuar al comienzo del proceso para reducir la contaminación, en lugar de esperar y luego restaurar las áreas contaminadas.

A fin de garantizar este principio, los estados han establecido procedimientos de autorización, compromisos sobre normas ambientales, métodos para acceder a la información, uso de sanciones y la necesidad de realizar estudios de impacto ambiental.

Por ejemplo, los organismos internacionales así como muchos convenios incorporaron los estudios de impacto ambiental como instrumentos de decisión. El principio de prevención ha sido respaldado por instrumentos internacionales que previenen la introducción de contaminantes y también por acuerdos en el campo del derecho económico internacional. Por último, también ha sido amparado por la jurisprudencia internacional.

2.4 Categorías fundamentales

2.4.1 Azolla

El esporofito de Azolla consiste de una rama flotante que contiene hojas y raíces verdaderas. **(LADHA, 1987)**

Azolla es un diminuto helecho acuático que alberga en las cavidades de sus hojas a la bacteria Anabaena. Esta bacteria cumple con la función de fijar del aire sobre los 1200 kg de nitrógeno por hectárea por año en condiciones óptimas de temperatura, luz y composición química del suelo y agua. Azolla Anabaena tiene un elevado potencial como abono verde en el cultivo de arroz en zonas tropicales, además de un sinnúmero de aplicaciones en los sectores agrícola, pecuario y acuícola. **(MONTAÑO, 2009)**

2.4.2 Anabaena

Anabaena es un simbiote extracelular que aporta al helecho el nitrógeno que este requiere para vivir y recibe de él otros nutrientes. Su capacidad fijadora es de 1.8 de N kg/ha/día y se utiliza generalmente en cultivos de arroz. Una de las aplicaciones más prometedoras que las cianobacterias fijadoras de nitrógeno en la agricultura presentan es su empleo como biofertilizantes. **(FRANCO, 2004)**

2.4.3 Generalidades del simbiote

Esta asociación fue descrita por primera vez por el científico alemán Edward Stranburger en 1873. Se han identificado algunas especies. *Azolla* es usado como fertilizante verde y como alimento para animales en China y Vietnam, y algunas regiones de África desde hace mucho tiempo y más recientemente como un biofiltro de aguas servidas. **(FIGUEROA, 2004)**

El data más antiguo que se tiene de esta planta se origina en un diccionario chino hace 2000 años; la introducción de una variedad de *A. filiculoides* parece haber sido uno de los pasos más decisivos en el mejoramiento del cultivo de esta planta en China. En esta asociación ocurre un intercambio de compuestos desde la cianobacteria hacia el hospedero (compuestos nitrogenados) y en vía contraria (productos fotosintéticos). **(FIGUEROA, 2004)**

Azolla es nombrada como un super-organismo refiriéndose a que cada eucariota lo es también, pues constituye un simbiote compuesto por genes cromosómicos, genes organelares, y otras veces como bacterias simbiotes, así como virus. En el simbiote, el límite de los organismos multicelulares extiende más allá las actividades de sus propias células. Todas las plantas y animales envuelven un complejo de las comunidades ecológicas de los microbios, algunos funcionando como comensales, algunos como mutualistas, y otros como parásitos, dependiendo de su naturaleza y contexto. **(FIGUEROA, 2004)**

En el mismo sentido, se cree que esta idea puede ser aplicada a la simbiosis entre *Azolla*-*Anabaena*. La cavidad en la hoja de *Azolla* puede ser considerada como una unidad básica fisiológica de la asociación simbiótica, donde el complejo de las comunidades ecológicas de microorganismos permanentes co-existen con el helecho para mantenerlo. Nuevas rutas metabólicas y capacidades orgánicas son adquiridas y mejoradas por estos simbiotes para establecer un nuevo nivel de organización, extendiendo más allá la capacidad de cada individuo formando la asociación. **(CARRAPICO, 2006)**

2.4.4 Fijación biológica del nitrógeno

El Nitrógeno (N) es un elemento necesario en la composición de proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes celulares, siendo así una molécula esencial para el crecimiento de todos los organismos. **(FIGUEROA, 2004)**

En la atmósfera el N ocupa aproximadamente el 80%, existiendo en la forma $N\equiv N$; sin embargo, el N_2 , debido al triple enlace entre los dos átomos de nitrógeno, que hace a la molécula casi inerte, no puede ser aprovechado por la mayoría de las formas vivientes, sino sólo por un pequeño grupo de microorganismos altamente especializados, que incluyen algas, bacterias y actinomicetes. Para ser utilizado en el crecimiento, este debe ser primero reducido y luego “fijado” (combinado) en la forma de iones amonio (NH_4^+) o nitrato (NO_3^-). **(FIGUEROA, 2004)**

El proceso a través del cual esos microorganismos reducen el nitrógeno hasta una forma utilizable es conocido como Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN por sus siglas en español). El proceso puede ser llevado a cabo por los microorganismos en vida libre o en simbiosis con plantas, y el mismo no sólo permite usar el nitrógeno atmosférico sino también revertir o reducir la degradación del suelo. **(FIGUEROA, 2004)**

La FBN es mediada por el complejo nitrogenasa, presente en los organismos fijadores, el cual cataliza la conversión del N_2 a NH_4^+ bajo la reacción general:



Esta requiere de grandes cantidades de poder reductor y energía (ATP), y la reducción obligada de protones con un mínimo de 1 mol de H_2 producido por mol de N_2 reducido. La actividad del complejo enzimático puede ser reducida por el oxígeno, de tal manera que los organismos fijadores poseen mecanismos que les permiten mantener bajas concentraciones de éste a fin de mantener la enzima funcionando. **(FIGUEROA, 2004)**

Entre los microorganismos involucrados en la FBN se encuentran: bacterias, algas verde-azules (cianobacterias) y actinomicetes, los cuales pueden fijar el nitrógeno viviendo libremente o formando asociaciones. **(FIGUEROA, 2004)**

2.4.5 La simbiosis como una medalla funcional

La simbiosis mutualística ha recibido la atención de los ecologistas y evolucionistas desde los años 50 y 60. Un gran progreso son sin duda alguna los estudios de evolución de la simbiosis. El significado de la simbiosis desde el punto de vista de algunos autores no fue el mutualismo sino la integración, la interdependencia en una unidad biológica. **(SECKBACH, 2010)**

Todas las asociaciones simbióticas, incluso “asociaciones hereditarias” pueden ser entendidas en términos reales por “dominio de uno de los organismos sobre el otro y por un equilibrio estable correspondiente a una función”. **(SECKBACH, 2010)**

Entonces se concibe el concepto de simbiosis no como mutualismo sino como integración, ese fue el consenso de un grupo de microbiólogos británicos quienes se reunieron para discutir los significados de la palabra. Aunque la simbiosis puede no ser definida estrictamente en términos de mutualismo pero si fue claro que para las relaciones íntimamente estables entre dos o más especies pueden no ser entendidas en términos de parasitismo estricto. **(SECKBACH, 2010)**

2.4.6 Bases bioquímicas de la simbiosis

Importantes procesos bioquímicos de *Azolla* y *Anabaena azollae* fueron revisados con especial énfasis en la especificidad del simbiote a hospedero y de hospedero a simbiote. **(INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE, 1985)**

La fijación del nitrógeno solamente en las células del simbiote *A. azollae*; la mayor parte de energía es suplida por la fotosíntesis en el hospedero *Azolla*. Característicamente los niveles bajos de asimilación enzimática de amonio en *A. azollae* hace el proceso de fijación del nitrógeno muy eficiente. El nitrógeno es fijado por el simbiote y transportado al hospedero; el hospedero incorpora el nuevo nitrógeno fijado en aminoácidos. **(INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE, 1985)**

Probablemente los aminoácidos junto con la reductancia y la fotosíntato, son suministrados del hospedero al simbiote, porque *A. azollae* está asociada con *Azolla* un escenario de vida libre del simbiote no es necesitado. Durante la inmunofluorescencia y las pruebas de ADN, el simbiote ha sido encontrado similar a las especies hospedero. La cavidad de la hoja ha sido mostrada para producir lecitina probablemente envuelta en el establecimiento o alimentación de la relación simbiótica. **(INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE, 1985)**

2.4.7 Aguas residuales

La fracción residual líquida (agua residual) está constituida esencialmente, por el agua de abastecimiento, después de haber sido contaminada por los diversos usos a que ha sido sometida. Desde el punto de vista de su origen las aguas residuales pueden definirse como una combinación de los desechos líquidos procedentes de las viviendas, instituciones, y establecimientos comerciales e industriales, junto con las aguas subterráneas, superficiales, y de lluvia que puedan agregarse a anteriores. Los factores que contribuyen a la contaminación del agua son: aumento de la población, diversidad y complejidad de procesos industriales, producción de elementos de consumo en gran escala, desecho de excretas a ríos lagunas, etc. **(POZO, 2012)**

2.4.8 Impurezas en el agua

Existen dos tipos de impurezas en el agua: aquellas que se encuentran en suspensiones y otras que están disueltas. El material suspendido son partículas grandes que se sostienen en el agua debido a fuerzas de viscosidad. El material disuelto lo componen las moléculas o iones que se retienen en el agua debido a la estructura molecular del agua. **(NERIN, 2009)**

2.4.9 Bases acerca del tratamiento de aguas residuales

El adecuado tratamiento de aguas residuales industriales y su posterior reutilización para múltiples usos contribuye a un consumo sostenible del agua y a la regeneración ambiental del dominio público hidráulico y marítimo y de sus ecosistemas. Sin olvidar que el agua de calidad es una materia prima crítica para la industria. **(RODRÍGUEZ, 2006)**

Los tratamientos a los que se deben someter los efluentes tienen que garantizar la eliminación o recuperación del compuesto orgánico en el grado requerido por la legislación que regula el vertido del efluente o para garantizar las condiciones mínimas del proceso en el caso de reutilización o recirculación de la corriente para uso interno. El nivel máximo admisible de contaminante puede conseguirse mediante la utilización de diversas técnicas tanto destructivas como no destructivas. **(RODRÍGUEZ, 2006)**

En el contexto del tratamiento de contaminantes en efluentes acuosos, la aplicación de una técnica no destructiva se entiende como una etapa previa de concentración antes de abordar su destrucción química. El carácter oxidable de la materia orgánica hace que la transformación en compuestos no tóxicos consista, en último extremo, aunque no necesariamente en la mineralización o conversión a dióxido de carbono y agua. En muchos casos, el objetivo de los procesos de oxidación no es la mineralización completa, con conversión del

carbono orgánico a dióxido de carbono, sino la transformación de los contaminantes en sustancias biodegradables que no originen problemas de inhibición de biomasa en tratamientos biológicos convencionales o que permitan la descarga sin originar problemas de ecotoxicidad. **(RODRÍGUEZ, 2006)**

La aplicación de un método u otro depende fundamentalmente de la concentración del contaminante y del caudal de efluente. Determinadas técnicas, como la incineración y algunos tratamientos de oxidación, son utilizables sólo cuando la concentración de compuestos orgánicos es elevada, mientras que otras, como la adsorción y los procesos de oxidación avanzada, son útiles en efluentes con baja concentración de contaminante. **(RODRÍGUEZ, 2006)**

2.4.10 Tecnologías convencionales

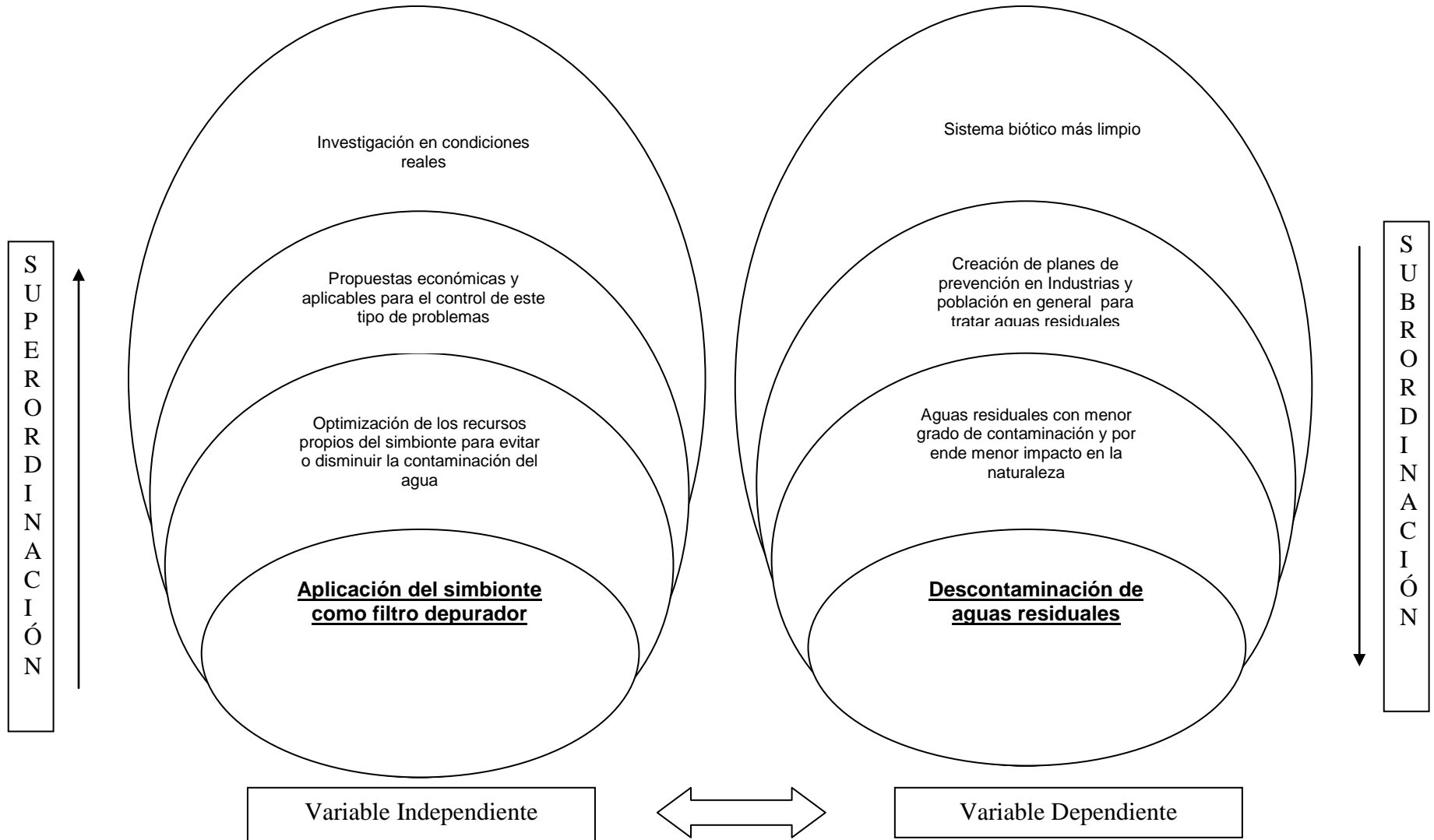
El tratamiento de las aguas residuales es una práctica que, si bien se lleva realizando desde la antigüedad, hoy por hoy resulta algo fundamental para mantener nuestra calidad de vida. Son muchas las técnicas de tratamiento con larga tradición y, evidentemente, se ha mejorado mucho en el conocimiento y diseño de las mismas a lo largo de los años. **(RODRÍGUEZ, 2006)**

A la hora de revisar los tratamientos unitarios más convencionales no resulta fácil establecer una clasificación universal. Una de las formas más utilizadas es en función de los contaminantes presentes en el agua residual, o también en función del fundamento del tratamiento (químico, físico o biológico). Una forma de intentar aunar ambas formas de clasificación puede ser considerar que los contaminantes en el agua pueden estar como materia en suspensión, materia coloidal o materia disuelta. **(RODRÍGUEZ, 2006)**

En efecto *Azolla-anabaena* puede ser considerado como un potencial descontaminante de aguas residuales ya que según reportes hechos por el Ing.

Mariano Montaña en la Escuela Politécnica del Litoral “ESPOL” y conforme con lo observado de acuerdo a las experimentaciones se menciona que una vez que el simbionte está listo para ser llevado a los arrozales o cualquier otro cultivo, cuando las aguas que se encuentran en estado no apto para el consumo humano es decir contaminadas, pasan por los lugares donde se encuentra este helecho acuático se ha notado un grado de descontaminación bastante favorable que sin duda alguna beneficia a la humanidad pues es de conocimiento público que es un problema de la contaminación ambiental se multiplica gravemente cada día más. **(MONTAÑO, 2009)**

2.5 Gráficos de inclusión



Elaborado por: Adriana Pulluquina. 2013

2.5 Hipótesis

Hipótesis alternativa

¿El simbiote helecho acuático (*Azolla sp. – Anabaena azollae*) depura las aguas contaminadas que causan impacto ambiental en la provincia de Tungurahua?

Hipótesis nula

¿El simbiote helecho acuático (*Azolla sp. – Anabaena azollae*) no depura las aguas contaminadas que causan impacto ambiental en la provincia de Tungurahua?

2.6 Señalamiento de variables

Variable independiente

Aplicación del simbiote como filtro depurador

Variable dependiente

Descontaminación de aguas residuales

CAPITULO III

METODOLOGIA

3.1 Enfoque

El presente estudio arrojó resultados tanto cuantitativos como cualitativos, puesto que se tomaron valores como forma de la especie, coloración, procedencia y evolución en el transcurso de los días, de igual manera el DQO del agua residual de tipo acequia después de haberla tratado con *Azolla anabaena*, además de turbidez, pH, conductividad, DQO. Esto permitió tener ideas claras de la actividad, evolución y mantenimiento de *Azolla-Anabaena* para que esta pueda ser utilizada como depurador de aguas residuales.

3.2 Modalidad básica de la investigación

Las modalidades de investigación que se consideraron en el presente estudio fueron: De campo, Experimental y Bibliográfica.

3.2.1 De Campo

La investigación fue realizada con las muestras tomadas de sectores estratégicos en la Provincia como son la Granja ecológica del cantón Píllaro, el Parque Extremo Pucahuayco y de Querochaca; estas muestras fueron evaluadas para verificar su accionar, conocer cuál es la metodología más apropiada y determinar así el tratamiento más apropiado para tomarlo como aporte científico dentro del sector ambiental así como del agrícola pues como se mencionó anteriormente *Azolla* se utiliza como abono orgánico en arrozales. Todo esto permitió validar los análisis que se realizaron para su posterior aplicación en condiciones reales.

3.2.2 Experimental

Las muestras previamente seleccionadas fueron sometidas a análisis, en los cuales recolectamos información profunda y especializada acerca del simbiote y su actividad como fijador del nitrógeno atmosférico sea cual fuere su propósito final.

3.2.3 Bibliográfica

En esta investigación se recopiló información y antecedentes previos de estudios similares o afines al tema con el propósito de indagar y estudiar cosas nuevas e innovadores que brinden a la población beneficios y de esta forma explotar más nuestro ecosistema pero de una manera consciente y segura.

3.3 Nivel o tipo de investigación

3.3.1 Exploratorio

Con el presente estudio lo que se pretendió es realizar un análisis exhaustivo de simbiote Azolla-Anabaena englobado todo lo referente a caracterizaciones, ecología y como su acción como depurador de aguas, pues como es de conocimiento general esta propuesta nunca antes se la ha llevado a cabo en nuestra provincia ya que muy poco se conoce respecto al tema.

3.3.2 Descriptivo

Con esta investigación se describió no solo el aspecto externo de Azolla-Anabaena, su forma de sobrevivencia frente a las condiciones climáticas y su entorno en general sino se estudió con detenimiento su aplicación como biofiltro para depuración de aguas residuales en base a la fijación del nitrógeno; para entender así las razones por las cuales en el Ecuador se debería utilizar más

estos recursos ecológicos y no los recursos químicos que tanto afectan nuestro ambiente contaminándolo cada día más.

3.4 Población y muestra

Para este tipo de trabajo investigativo no se procedió a calcular población y muestra ya que eso es aplicable en modelos de trabajos de investigación donde se realizan estudios económicos que requieren establecer un sector poblacional, en mi caso se aplicó un diseño experimental basado en datos a partir de muestras ya establecidas previamente, las mismas que fueron el objeto de estudio. Entonces la metodología a considerar para el desarrollo de la investigación es:

3.4.1 Primera parte “evaluación y análisis de las muestras”

Para cada una de las muestras tomadas se realizó un análisis de crecimiento o propagación indicado en metros (m), ya que se procedió a medir alturas cada 7 días conforme se vaya dando la propagación en las piscinas comprendiendo el largo total de las mismas (2m ó 200cm), el valor inicial de propagación fue el la cantidad en libras colocada en cada una de las piscinas el primer día y las consiguientes referidas a los valores obtenidos de las mediciones durante los siguientes días, hasta que la muestra alcanzó su propagación al 100%. Seguido de esto y una vez observado el nivel de propagación se elaboró gráficas en Excel, mostrando todos los sujetos en estudio a modo de visualizar el crecimiento del simbionte con respecto al tiempo.

3.4.2 Segunda parte “validación de las muestras con mejor actividad depuradora”

Siguiendo la metodología de la primera parte de este estudio, se realizó tres ensayos, es decir uno para cada sujeto de estudio; por lo que se empleó un diseño experimental con arreglo factorial 3^2 , siendo 2 los niveles: Lugar de procedencia

de *Azolla anabaena*, y 3 los factores a considerar por un lado Granja de Píllaro, Pucahuayco Parque extremo y Querochaca y por otro 25, 50 y 75 L.

3.4.3. Diseño experimental

Factores y niveles de estudio para la selección de muestras con mejor actividad depuradora en aguas contaminadas.

Tabla 1. Factores de estudio

FACTOR	DESCRIPCIÓN	NIVELES
A	Tipo de Azolla	a₀ Granja de Píllaro
		a₁ Pucahuayco Parque Extremo
		a₂ Querochaca
B	Cantidad de agua sometida a descontaminación	b₀ 25 L
		b₁ 50 L
		b₂ 75 L

Elaborado por: Adriana Pulluquina. 2013

Tabla 2. Tratamientos en estudio

TRATAMIENTOS		FACTORES DE ESTUDIO	
No.	CODIFICACIÓN	TIPO DE AZOLLA	CANTIDAD DE AGUA
1	a ₀ b ₀	Granja de Píllaro	25 L
2	a ₀ b ₁	Granja de Píllaro	50 L
3	a ₀ b ₂	Granja de Píllaro	75 L
4	a ₁ b ₀	Pucahuayco Parque Ext.	25 L
5	a ₁ b ₁	Pucahuayco Parque Ext.	50 L
6	a ₁ b ₂	Pucahuayco Parque Ext.	75 L
7	a ₂ b ₀	Querochaca	25 L
8	a ₂ b ₁	Querochaca	50 L
9	a ₂ b ₂	Querochaca	75 L

Elaborado por: Adriana Pulluquina. 2013

Modelo matemático

Para el caso de tres niveles por factor cuantitativo podríamos detectar tanto relaciones lineales como cuadráticas. Considerando este experimento 3^2 en el que los dos factores, A y B, actúan cada uno con tres niveles que se designan 0= bajo; 1= medio y 2= alto.

Nos interesa identificar los efectos lineales y cuadráticos; por lo tanto, en el modelo de dos factores, tenemos:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + R_k + \varepsilon_{ijk}$$

Efectos lineales	:	A _i	B _j	A _i B _j
Efectos Cuadráticos	:	A _c	B _c	A _i B _c
Efecto Total	:	$\sum T_i \lambda_i$		

Se desagregan los citados efectos, denotándolos con los subíndices L y Q para lineal y cuadrático, respectivamente. Así tenemos el nuevo modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_L + A_Q + B_L + B_Q + A_L B_L + A_L B_Q + A_Q B_L + A_Q B_Q + R_k + \varepsilon_{ijk}$$

Los efectos principales A, B y de interacción AB, se han desglosado de la siguiente manera:

$$A_i = A_L + A_Q$$

$$B_j = B_L + B_Q$$

$$(AB)_{ij} = A_L B_L + A_L B_Q + A_Q B_L + A_Q B_Q$$

Tanto el efecto es lineal, como el efecto cuadrático serán definidos por medio de contrastes, es decir:

$$\mathbf{Efectos} = \mathbf{Contrastes} = \sum T_i \lambda_i$$

Los contrastes son en realidad combinaciones lineales donde T_i , es el total del tratamiento i -ésimo a través de las réplicas que se hayan considerado. En cambio λ_i , es el coeficiente de la matriz de diseño que corresponde a esa combinación específica de niveles de factores.

Para conformar dicha matriz pueden utilizarse (-1, 0, +1) como coeficientes de los contrastes o efectos lineales A_L y B_L . Así mismo los coeficientes de los contrastes o efectos cuadráticos A_Q y B_Q son (+1, -2, +1). Finalmente los coeficientes de contraste o efecto de interacción serán producto de los coeficientes de las combinaciones que están en la interacción.

3.5 Operacionalización de variables

Variable independiente

Aplicación del simbiote como filtro depurador

Tabla 3. Operacionalización de variables

LO ABSTRACTO		LO OPERATIVO			
CONCEPTUALIZACION	CATEGORIAS	INDICADORES	INDICES	ITEM BASICO	TECNICAS E INSTRUMENTOS
<p>Azolla Anabaena es una asociación simbiótica entre un helecho acuático y una cianobacteria alojada en el lóbulo dorsal de la planta, este simbiote tiene múltiples usos y es de fácil propagación generalmente muere al secarse y sus hojas tienen un elevado contenido en nitrógeno.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Actividad depuradora. - Alternativa ecológica. - Sustituto de productos químicos. - Control de contaminación de aguas servidas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Nivel de propagación del simbiote. - Costos de aprovisionamiento de muestras módicos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Población estimada cada 5 días expresada en alturas de crecimiento - Dólares 	<ul style="list-style-type: none"> - ¿Azolla Anabaena se propaga con facilidad en tiempos impresionantemente cortos? - ¿Los costos de aprovisionamiento de muestras de este simbiote podrían llegar a ser bastante módicos para la población en general? 	<p>Investigación de campo.</p> <p>Diseño experimental.</p>

Elaborado por: Adriana Pulluquina. 2013

Variable dependiente

Descontaminación de aguas residuales.

Tabla 5. Operacionalización de variables

LO ABSTRACTO		LO OPERATIVO			
CONCEPTUALIZACION	CATEGORIAS	INDICADORES	INDICES	ITEM BASICO	TECNICAS E INSTRUMENTOS
Las aguas contaminadas son aquellas aguas que se encuentran en mal estado por la cantidad de desechos de todo tipo que contienen y por lo tanto no son aptas para el consumo humano.	<ul style="list-style-type: none"> - Nivel de contaminación de las aguas. - Periodicidad de aplicación de la muestra - Tipos de contaminantes que pueden ser eliminados con esta metodología. 	<p>Descontaminación las muestras de agua.</p> <p>Reducción de los valores de otros parámetros</p>	<p>DBO</p> <p>Turbidez, pH, conductividad y DQO.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - ¿El porcentaje de descontaminación de aguas residuales puede disminuir con el uso de Azolla Anabaena? - ¿Cada una de las muestras de Azolla Anabaena generó disminución en otros parámetros indicativos de contaminación? 	<p>Investigación de campo.</p> <p>Diseño experimental.</p>

Elaborado por: Adriana Pulluquina.2013

3.6 Recolección de información, procesamiento, análisis e interpretación

Las técnicas que se utilizaron para la recolección de la información fueron la observación directa puesto que como investigador estuve en contacto con el objeto de estudio directamente en escenarios y ambientes previamente dispuestos y proveídos para la realización de la presente investigación es así como se llegó a comprobar si las hipótesis planteadas anteriormente en este proyecto eran ciertas o no.

3.6.1 Evaluación y análisis de las muestras de *Azolla Anabaena*

A) Recolección de muestras

Para esta primera etapa lo que se hizo fue buscar posibles lugares donde se podía conseguir muestras de *Azolla Anabaena*. Se obtuvo información mediante publicidad y contactos respecto a tres lugares estratégicos donde conocía muy poco acerca de los usos benéficos que se le podía dar al simbiote; pese a esto lo tenían como una variedad más de la flora ecuatoriana, por su llamativa forma de permanecer en el agua flotando y propagándose cada cierto tiempo (estimado de 5 a 7 días según reportes bibliográficos). Las muestras se tomaron con mucho cuidado ya que los estanques o piscinas en que se las mantiene prácticamente estaban llenos por la facilidad con la que se duplica este simbiote.

B) Evaluación general de *Azolla Anabaena*

Para esta evaluación general lo que se hizo fue observar características del simbiote como la coloración, tamaño, textura; que fueron características visibles al ojo humano, que permitieron reconocer a *Azolla* en cualquier lugar donde esta se encuentre.

C) Observación microscópica del microsmbionte *Azolla Anabaena*

Se observó *Anabaena azollae* microscópicamente con el propósito de analizar y verificar la presencia de los heterocistos, para lo cual se procedió a tomar una

muestra individual de cada lugar para después colocarlas y observar en el microscopio óptico, en campo claro.

D) Preparación de piscinas

Para la preparación de piscinas se escogió un terreno amplio ubicado en la ciudad de Ambato para lo que se construyó un total de 6 piscinas de 2m de largo por 1m de ancho.

Hay que destacar que existieron 3 niveles de agua, uno de 25 L otro de 50 L y otro de 75 L, para lo cual se varió la profundidad sobre la cual se colocó la piscina y posteriormente el plástico sobre el cual reposó el agua en estudio.

En primer lugar se preparó unas tablas del tamaño del largo y ancho de las piscinas que sirvieron de soporte; después lo que se hizo fue colocar un plástico grande que sobrepase unos 10cm al tamaño de la piscina con el propósito de cubrirla totalmente para evitar posibles desbordes de agua.

Posteriormente se llevó a cabo la colocación del agua en las piscinas con mucho cuidado este procedimiento se lo hizo únicamente con una manguera y con agua potable en primera instancia. Siendo esta la antesala para la colocación de *Azolla anabaena* para su crecimiento y posterior uso.

E) Colocación de las muestras de *Azolla anabaena*

Se procedió a colocar las muestras de *Azolla anabaena* en las piscinas. Es decir se dispuso una libra y media de cada muestra en cada piscina y seleccionadas por lugar (de los lugares estratégicos escogidos) para lo cual se las transportó del recipiente inicial hasta las piscinas sea manualmente o con un cernidor.

F) Análisis del crecimiento de *Azolla anabaena*

En esta etapa de la investigación se midió las alturas para comprobar así la propagación del simbionte.

Midiendo las alturas con un metro se comprueba con facilidad si es o no certera la idea de que *Azolla anabaena* duplica su población inicial al doble en tan solo cuestión de días.

G) Cambio de agua potable por muestras de aguas contaminadas

En este caso se procedió a cambiar el agua que se puso en primera instancia en las piscinas por agua contaminada y se colocó el simbionte dentro de las mismas para verificar su efecto depurador.

Primeramente se retiró *Azolla Anabaena* con la ayuda de unos cernidores para verter el agua y posteriormente colocar nuevamente al simbionte cuidando de no estropear su estado natural.

El agua de acequia fue tomada en unos tanques reservorios con medida para así distribuir correctamente las cantidades conforme las profundidades indicadas en el punto anterior.

En este caso las piscinas quedaron dispuestas como se muestra en la tabla B-1 (Anexo B).

H) Evaluación de muestras de agua

Para esta evaluación se procedió a tomar 1L de la muestra la cual fue evaluada en laboratorio. Los análisis a llevar a cabo fueron: turbiedad, conductividad, pH, DQO y DBO, valores que fueron medidos como referencia para indicar su variación una vez que el agua haya sido depurada por *Azolla anabaena*; y así poder determinar el grado de descontaminación que tuvieron estas muestras y aprobar o desmentir las hipótesis planteadas en este proyecto.

Como sabemos el pH es el parámetro que nos indica el nivel de alcalinidad, basicidad o neutralidad que una muestra pueda presentar, generalmente los valores de pH permisibles para aguas q serán destinadas para consumo o

diferentes usos oscilan entre 6 y 7. Esta medición se la realizó en los Laboratorios de Control de calidad de la Empresa de Agua Potable y Alcantarillado EMAPA.

Con 15ml de muestra de agua tomada de las piscina se procedió a medir el pH con un pH-metro q es un aparato especializado para tomar esta medida, donde lo único q resta es sumergir el electrodo y esperar unos segundo hasta que la lectura mostrada en el visor se quede estable.

La turbidez es otro de los parámetros relevantes ya que este indica la opacidad de la muestra, mientras más opaca es la muestra, más contaminada esta el agua y mientras menos opaca o turbia este, la muestra estará más apta para darle uso o ser consumida. Para esto se toman aproximadamente 2m de la muestra se colocan en las celdas y posteriormente en el equipo, una vez hecho esto se debe esperar unos segundos hasta q el turbidímetro muestre en su pantalla la lectura expresada en NTU.

La Conductividad, que es la medida de la capacidad del agua para conducir la electricidad e indicativo de la materia ionizable total presente en la misma. Un agua con bajo nivel de contaminación es decir potable presenta alrededor de 0,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$. De igual manera se tomaron 2ml de muestra y se procedió a medir con el conductivímetro. Esta medición se muestra expresada en $\mu\text{S}/\text{cm}$.

El DQO, cuyas letras representan Demanda Química de Oxígeno considerado como la cantidad de oxígeno consumido para la oxidación total de los constituyentes orgánicos a productos inorgánicos. Para este caso se tomo 2.5ml de la muestra los cuales se colocan en tubos de ensayo que vienen ya listos con solución digestiva (sulfato de mercurio HgSO_4 , sulfato de plata Ag_2SO_4 , ácido sulfúrico H_2SO_4 y ácido crómico H_2CrO_4) para agregar la muestra, colocarlos en el equipo y esperar a q se muestre la lectura.

Cabe destacar que esta lectura es distinta al resto ya que no se muestra en un panel sino que consiste en esperar dos horas a que la muestra se mezcle bien con la solución digestiva, reaccionen juntos lo cual ocurre en un lapso aproximado de dos horas seguido de lo cual es necesario hacer las lecturas en el espectrofotómetro. Esta medida va expresada en mg/L.

El DBO, Demanda Bioquímica de Oxígeno, es el parámetro q denota o mide la cantidad de oxígeno disuelto que han consumido los microorganismos en el proceso de oxidación bioquímica de la materia orgánica, dado que éstos utilizan oxígeno en la respiración para la obtención de energía. Este parámetro se expresa en términos de mg/L.

Para esta medición lo que se hizo fue tomar 244ml de muestra, son colocadas en las botellas propias del equipo o incubador de DBO adicionándole un sobre de hidróxido de Litio (NaOH) que es el reactivo con el cual reacciona la muestra y es así como después de 5 días se realizan las lecturas, Este incubador tiene la capacidad de receptar hasta 12 botellas de muestra lo cual facilita el trabajo del investigador.

3.7 Procesamiento y análisis

Se evaluó cada muestra de las aguas contaminadas con los respectivos testigos, con el propósito de verificar si *Azolla Anabaena* fue o no capaz de depurar de algún modo las muestras colocadas en las piscinas.

3.7.1 Selección de las muestras de *Azolla Anabaena* más efectivas

Con las 3 muestras que fueron probadas se seleccionó el tratamiento que presentó mayor grado de eficacia en el caso de la utilización de este simbiote como biofiltro para la depuración de aguas contaminadas.

CAPITULO IV

ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

4.1 Análisis de los resultados

4.1.1 Evaluación general de *Azolla anabena*

En esta etapa de la investigación lo que se hizo fue observar características que a simple vista no pasan desapercibidas y que me permitieron reconocer en instantes al helecho acuático.

A continuación se citan algunas de ellas:

- Las hojas de *Azolla* son de forma triangular o poligonal, claramente se observa una afluencia de hojas pequeñas, conocidas como frondes que se encuentran divididas y que flotan horizontalmente sobre el agua.
- El color que se observa va entre rojo y púrpura cuando la muestra está expuesta al sol y de verde pálido a verde azulado si la muestra está expuesta en zonas donde la sombra prevalece.
- Consta de tallos abundantemente ramificados, recubiertos de hojas bilobuladas alternas, cada una de las cuales consta de un lóbulo ventral aclorofílico sumergido y otro lóbulo dorsal clorofílico que contiene cavidades con el alga *Anabaena*.
- Cuenta con raíces auténticas que surgen de forma endógena con pelos radicales.

4.1.2 Observación microscópica de *Azolla Anabaena*

La observación microscópica se llevo a cabo con el objetivo de visualizar de una manera más minuciosa al helecho acuático. Lo que se hizo fue tomar una porción de frondas de *Azolla anabaena* las cuales fueron cuidadosamente maceradas en un portaobjetos.

Se trató de retirar la mayoría de los fragmentos de tejidos del simbiote y solo dejar la savia con las cianobacterias libres. No se realizó ningún tipo de tinción. Se observaron claramente los heterocistos, los cuales son células especializadas en la fijación de N₂ atmosférico de ahí el porqué de la acción depuradora del simbiote. (Anexo F. Grafico F-5)

4.1.3 Análisis del crecimiento de *Azolla anabaena*

Estos datos se muestran en las tablas del Anexo B.

4.2 Interpretación de datos

4.2.1 Análisis del crecimiento de *Azolla anabaena*

El crecimiento sin duda alguna fue favorable para todas las muestras, esto se debe a que tienen las condiciones óptimas para su propagación, la piscina o estanque donde se encuentran es amplia, el cuidado que se les dió es el más apropiado, pues se cuidó de que no haya problemas de sobrepoblación impidiendo que el estanque se llene más de lo debido, evitando así la conocida muerte por sobrepoblación.

Observamos así desde la gráfica C-1 a la gráfica C-3 (ubicadas en el Anexo C), que lo mencionado bibliográficamente es totalmente cierto pues *Azolla anabaena* si se duplica en un tiempo aproximado de 5 a 7 días.

4.2.2 Evaluación de muestras de agua y determinación del mejor tratamiento

Para la obtención del mejor tratamiento, se consideró la existencia de mayor depuración de aguas contaminadas específicamente provenientes de acequia, se utilizó los valores correspondientes al DBO medidos dentro de 15 días después de

la colocación de la muestra, los mismos que se presentan en la Tabla B-6 (Anexo B), estos son los datos obtenidos para cada réplica de cada tratamiento.

De la misma forma en la Tabla B-5 (Anexo B), se presentan los valores correspondientes al DBO para las muestras iniciales que se utilizarán como testigo para proceder a un análisis comparativo en el cual se podrá verificar si la cantidad de DBO descendió o en su defecto permaneció constante.

Para realizar los cálculos estadísticos y determinar la mejor muestra y la cantidad de agua sobre la cual *Azolla anabaena* actúa de mejor manera, se realizó un análisis estadístico respecto a los datos de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) medidos o expresados en términos de mg/L.

Una vez procesados los datos en el programa estadístico STATGRAPHICS PLUS 4.0, los resultados que se obtuvieron se muestran en las tablas del Anexo D. El análisis de varianza del experimento que se encuentra en la Tabla D-1, señala que la diferencia entre los datos de DBO tomados entre cada réplica son significativos por lo tanto existe variación entre ellos.

El diseño experimental escogido genera efectos lineales y cuadráticos como ya se explicó en el apartado 3.7.3, así en la tabla éstos se expresan de esta manera: Efecto lineal como: AB, y efectos cuadráticos: AA, BB; para cada factor planteado respectivamente; sabiendo que el Factor A, representa el lugar de procedencia de las muestras de *Azolla anabaena* y que Factor B, la cantidad de agua. Los factores A y B generan el efecto lineal significando que interactúan entre sí para presentar un efecto combinado que influye significativamente en el decremento del nivel de contaminación de las muestras de agua traducido en términos de DBO.

La Tabla de ANOVA divide la variabilidad de DBO (mg/L), en distintos segmentos separados para cada uno de los efectos. Al comparar las medias al cuadrado contra la estimación del error experimental, se nota claramente que 5 de los

efectos tienen los p-valores inferiores a 0,05; indicando que son significativamente diferentes de cero al 95,0% del nivel de confianza.

El estadístico R-cuadrado que se muestra en la Tabla D-2 (ANEXO D), indica que el modelo ajustado tiene el 99,2357 de la variabilidad en DBO. El estadístico R-cuadrado ajustado, el cual es el más adecuado para la comparación de números diferentes de variables independientes, arroja un valor de 99,0537%. El error estándar de la estimación muestra la desviación normal generó un valor de 0,76673. El error absoluto de la media es: 0,463374, siendo este el promedio del valor de los residuos. El estadístico Durbin – Watson (DW), examina los residuos para determinar si hay cualquier correlación significativa basada en el orden en el que sucede el procesamiento de datos. Puesto que el p-valor es superior a 0,05, no hay indicios de correlación de serie de residuos.

En la tabla D-3 se muestra el coeficiente de regresión para DBO, la ecuación de la regresión se ha ajustado de acuerdo a los datos ingresados del DBO obtenido experimentalmente luego de haber aplicado la muestra. La ecuación del modelo ajustado es:

$$\begin{aligned} DBO = & 48,0519 + 11,2556 \times \textit{Proveniencia de la muestra} + 0,172222 \\ & \times \textit{Cantidad de agua} - 1,67778 \times \textit{Proveniencia de la muestra}^2 \\ & - 0,0613333 \times \textit{Proveniencia de la muestra} \times \textit{Cantidad de agua} \\ & - 0,000417778 \times \textit{Cantidad de agua}^2 \end{aligned}$$

Los resultados del coeficiente de regresión son para cada caso tanto de efectos lineales y cuadráticos; siendo todos ellos negativos. El valor más bajo fue el del efecto cuadrático para el factor B (cantidad de agua), el cual arrojó un valor de: - 0,000417778.

En la tabla D-4 (ANEXO D), se muestra los resultados de estimación para DBO, los valores observados, los ajustados (utilizando el modelo ajustado) y los valores inferiores y superiores al 95% de confianza para todas las medias.

En la tabla D-5 (ANEXO D) se encuentra la matriz de correlación la misma que muestra la magnitud de la confusión entre los efectos. Un diseño ortogonal perfecto mostrará una matriz diagonal con 1's en la diagonal y 0's fuera de la diagonal.

Cualquier término de no cero fuera de la diagonal, implica que las estimaciones de los efectos que corresponden a esa fila y columna estarían correlacionadas. En este caso, hay un par de efectos con una correlación no cero.

En la tabla D-6 (ANEXO D), se muestra la ruta ascendente (o descendente) para DBO; este es el camino del centro de la región experimental actual a lo largo de la cual la respuesta estimada varía rápidamente con una variación mínima en los factores experimentales.

Finalmente en la tabla D-7 (ANEXO D), se muestra la respuesta optimizada, y la combinación de niveles de factores que minimizan DBO por encima de cualquier otro tratamiento.

Estos resultados se muestran los gráficos C-4, C-5, C-6, C-7 (ANEXO C); En el grafico C-4 se muestra el gráfico de Pareto, donde se enfocan los efectos estandarizados para el factor A, factor B, y los respectivos efectos lineales y cuadráticos.

El gráfico de Pareto, es una comparación cuantitativa y ordenada de elementos o factores según su contribución a un determinado efecto.

En el gráfico C-5 se muestran los efectos principales para DBO, los dos factores con sus respectivos niveles y la visualización de cómo el DBO mejoró dependiendo de la muestra y cantidad de agua utilizada.

La muestra que más depurada quedo fue la sometida al tratamiento con el helecho del la granja de Píllaro con menor cantidad de agua con un valor de DBO de: 40,87 mg/L; mientras que con las muestras del Parque Extremo Pucahuayco los valores de DBO oscilaron entre 51,73 a 58,90 mg/L y finalmente de las muestras de Querochaca, los valores de DBO oscilaron entre 60,33 a 63,47 mg/L, es decir para estos casos el DBO fue incrementándose debido a que se va incrementado la cantidad de agua, la profundidad, y la muestra también es diferente para cada caso. La grafica C-6 (ANEXO C), evidentemente enfoca a la muestra de la Granja de Píllaro sobre 25L, como el mejor tratamiento debido a que hay menor cantidad de agua, menor interferencia para el intercambio de gases, incluyendo el factor de que la procedencia de la muestra favorece a la depuración por las condiciones en la cuales se mantuvo inicialmente.

En el grafico D-7, donde se encuentra representada la superficie de respuesta estimada; la respuesta optimizada que fue de 40,6963, es el mejor DBO (mg/L), producto del tratamiento más apropiado que se utilizó.

Así entendemos que en la Granja de Píllaro tienen más conocimiento de que el simbionte no puede estar expuesto a condiciones extremas es decir fríos o temperaturas altas, debe hacerse un control continuo de la sobrepoblación, puesto que todo esto afecta a su desenvolvimiento e incluso crecimiento ya que se puede también acelerar su tiempo de vida útil y por mas cuidados posteriores a la toma de muestras que se le dé, no servirá de nada pues si existen ya vestigios de muerte poblacional esta se propagara haciendo que el resto de vida verde se vaya perdiendo poco a poco perdiendo así su capacidad depurante.

Esto también se puede verificar en la coloración del helecho acuático ya que cuando este, empieza a tomar un color café oscuro casi negro y los frondes ya no poseen esa vitalidad que los caracteriza esto se traduciría automáticamente en que *Azolla anabaena* no tendrá el mismo desempeño del que posee estando en condiciones óptimas, que fue el caso de las muestra tomadas de Pucahuayco

Parque extremo y Querochaca las cuales a simple vista no poseían tanta vitalidad en comparación con las muestras de la granja de Píllaro recalcando también que las muestras de Querochaca estaban también sometidas a temperaturas extremas de frío lo cual había afectado seriamente ocasionando una degeneración estructural, específicamente de los heterocistos ya que se produce un desprendimiento de los mismos lo cual es totalmente desfavorable ya que son los encargados de la fijación del Nitrógeno atmosférico parte fundamental para la depuración de aguas.

De igual manera, la mejor piscina fue la de menor capacidad ósea la de 25 L, debido a que *Azolla anabaena* se basa en un principio bastante importante de su historia y es que hace varios años ocurrió un acontecimiento importante denominado el “Evento Azolla” en el cual menciona que la espesa capa de *Azolla* que se formó dificultó el intercambio de gases entre la superficie oceánica y la atmósfera, provocando una importante falta de oxígeno en las profundidades, lo cual se traduce en que a mayor profundidad o a mayor cantidad de agua más inconvenientes tiene el simbiote para poder intercambiar gases con el ambiente y mientras menos profundidad o menos cantidad de agua exista es mucho más probable la depuración del agua por efecto del intercambio de gases y a fin de cuentas por efecto de que es posible la fijación del nitrógeno.

Se procedió también a comparar con las muestras testigo que se tomó inicialmente antes de colocar cualquier muestra de *Azolla anabaena* con sus respectivas replicas (Tabla B-5. Anexo B) y de hecho se verifica que si hubo una notable reducción del DBO ya que la muestra inicial de 67.10 se reduce a 40.87 mg/L, es decir hay un margen de reducción de DBO de 26,23 mg/L, lo cual es un resultado bastante favorable considerando que solo se utilizó este simbiote sin ningún otro aditivo. Así mismo podemos afirmar que la muestra de Querochaca tuvo efecto depurador pero no tan efectivo como en los casos anteriores. La depuración del agua es notable pero quedan aun vestigios por investigar referidos

a que si *Azolla anabaena* sería o no útil en caso de que se lo quiera destinar para depuración de aguas con un nivel mucho más alto de contaminación.

4.3 Verificación de hipótesis

De acuerdo a los resultados obtenidos se rechaza la hipótesis nula que señala que: El simbiote helecho acuático (*Azolla sp. – Anabaena azollae*) no depura las aguas contaminadas que causan un gran impacto ambiental en la provincia de Tungurahua, ya que como se puede ver en el apartado 4.2, específicamente el 4.2.2 la mejor muestra es decir la de la Granja de Píllaro conjuntamente con la cantidad adecuada de agua y por ende la profundidad más adecuada de la piscina, presentan resultados efectivos en la descontaminación de agua de acequia en las diferentes piscinas, resultando ser buenos entes depuradores por su acción como filtros biológicos que estabilizan los contaminantes o bien degradan los compuestos orgánicos. Por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa la cual expone que *Azolla Anabaena* depura las aguas contaminadas.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- El simbiote *Azolla anabaena* puede ser utilizado como biofiltro de aguas contaminadas ya que mediante esta investigación se pudo comprobar el decremento que sufrieron varias de las muestras en estudio; esto debido a que el helecho si realiza depuración obviamente no de forma inmediata pero si con el paso de los días dando tiempo a que se realice un intercambio de gases con la atmósfera, llevándose a cabo la fijación de nitrógeno y con ello la disminución de los contaminantes del agua, considerando que las aguas de acequia tienen un nivel considerable de contaminación que de una u otra forma afectan a la humanidad y al ambiente en general puesto que las consecuencias no solo se pueden ver reflejadas en el problema de contaminación global que vive nuestro planeta hoy en día sino también en las posibles enfermedades que podrían manifestarse en aquellas personas aledañas a lugares donde existen acequias y que dan uso a estas aguas sin saber el daño que se están haciendo a sí mismos debido a que no hay propuestas de tratar este tipo de aguas con fines de beneficiar a la población en general.
- El simbiote *Azolla anabaena* se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, en la provincia de Tungurahua específicamente en el cantón Ambato; se encontraron tres lugares diferentes donde se poseen estanques o piscinas no tan profundas conteniendo al helecho acuático. Así los que se tomaron en cuenta para el muestreo de esta investigación fueron: la Granja de Píllaro, el Parque Ecológico Pucahuayco, y Querochaca; lógicamente estos son solamente algunos de los tantos lugares donde se da esta impactante asociación simbiótica y no solo es aquí en la región Sierra sino que también se encuentran en el resto de regiones y a nivel

mundial, es por ello que se ha empezado ya los respectivos estudios que permitirán que *Azolla anabaena* pueda darse a conocer de mejor manera. Se puede concluir que este simbiote puede crecer en cualquier lugar donde exista agua y las condiciones climáticas favorables para su crecimiento.

- *Azolla anabaena* es un simbiosistema compuesto de una cianobacteria con una alga, sus frondes son de color característico verde que cuando se exponen a condiciones solares extremas pueden cambiar a una coloración parda rojiza, se propagan con facilidad a partir de reproducción vegetativa de trozos de sus frondes que se duplican cada 5 a 7 días, lo cual comprobamos midiendo las alturas en las piscinas donde se dispuso la muestra. Este helecho acuático que aparentemente parecería simplemente una planta flotante a manera de alfombra que recubre el agua sobre la cual se encuentra y que supuestamente no tendría beneficio alguno, presenta usos que pueden extenderse más allá de lo que cualquiera podría imaginarse ya que *Azolla anabaena* ha sido utilizada por años como biofertilizante y que hoy en día se está abriendo paso como biofiltro para la depuración de aguas contaminadas e incluso como alimento para aves y peces.
- La fijación biológica del Nitrógeno es la conversión de nitrógeno atmosférico en amoníaco, realizada por organismos libres o en asociación con plantas superiores, que reciben por ello el nombre de diazótrofos (azoe: nitrógeno; trofos: alimentación). Es así como *Azolla anabaena* constituye un potente elemento depurador de aguas, debido a que en su estructura poseen los llamados heterocistos, que son una adaptación para la fijación de nitrógeno, esto se pudo verificar mediante la observación en el microscopio óptico con el lente de 40x sin realizar tinción alguna, la depuración de agua se debe a que *Azolla anabaena* tolera y acumula los contaminantes del agua, los cuales involucran la formación de complejos en la pared celular por tal

razón esta depuración se ve reflejada en la reducción de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) en prácticamente todas las muestras, unas con mas efectividad que otras dependiendo del caso.

- La implementación de azollarios es una propuesta innovadora que toda industria debería adoptar hoy en día pensando fundamentalmente en el futuro del planeta ya que la contaminación se incrementa cada día más, de esta forma contribuiríamos a que el agua que generalmente es desechada hacia los ríos no vaya con tanta materia contaminante para no difundir y extender el efecto dañino y disminuir así el riesgo de posibles enfermedades en la población por el uso de estas aguas y con ello también una serie de consecuencias que trae consigo este tipo de problemas.

5.2 Recomendaciones

- No colocar una cantidad excesiva de muestra ya que esto podría ocasionar un problema de sobrepoblación, lo cual no favorece para nada la investigación ya que como se conoce la sobrepoblación tiene como efecto consecuente la muerte de la especie ya que ya no existe espacio para que esta pueda continuar con su propagación ni para que pueda accionar como agente depurante por lo cual la muestra de agua tampoco se verá favorecida con esto y no se dará la descontaminación esperada.
- Establecer un periodo de observación de propagación de la muestra considerando días extra a los establecidos por bibliografía es mucho más factible ya que en mi caso tome como referencia los 5 días que se consideraban para la duplicación de la población pero se comprobó que no siempre se multiplicará en este tiempo ya que la muestra no proviene del mismo lugar y pese a que se las adecuó de la misma forma no presentaron crecimiento similar unas tardaban más que otras en propagarse y esto se debe a que *Azolla anabaena* puede verse afectada también por las

condiciones climáticas en las que se encuentre y como sabemos Ambato es una ciudad que presenta variaciones climáticas constantes por lo que esta variación es claramente visible.

- Medir otros parámetros de calidad del agua que nos permitan verificar con certeza que la descontaminación fue llevada a cabo de una manera eficaz tales como: pH, turbidez, conductividad, DQO, etc.; obviamente si es que se posee los recursos necesarios ya que para tener la certeza de que el agua que vamos a consumir está completamente desinfectada es necesario hacerlo, más que todo si el agua va a ser consumida por los humanos, esta necesita pasar por un control de calidad que encierra parámetros ya establecidos para cada país como normativa de prevención de enfermedades por consumo de agua no apta.
- Colocar una carpa que cubra todas las piscinas y cerrar con plásticos transparentes permite un mejor control de las condiciones de siembra y propagación de *Azolla anabaena* al evitarse pérdidas de agua por evaporación y estar a salvo de contaminación por otras especies, esto resultaría más caro que un sistema abierto lo cual sería un tanto contraproducente pero sería un factor que le daría un plus a la investigación.

CAPITULO VI PROPUESTA

6.1 Datos Informativos

- 1. Título:** Implementación de azollarios en la Curtiduría Tungurahua y su contribución para la disminución del grado de contaminación de sus aguas residuales.

- 2. Unidad Ejecutora:** Curtiduría Tungurahua

- 3. Beneficiario:** Curtiduría Tungurahua

- 4. Director del Proyecto:** Ing. Juan Ramos.

- 5. Personal Operativo:** Egda. Adriana Carolina Pulluquina Reyes.

- 6 Tiempo de Duración:** 2 meses.

- 7 Fecha de Inicio:** Julio 2013.

- 8 Lugar de Ejecución:** Curtiduría Tungurahua.

- 9 Costo:** \$800

6.2 Antecedentes de la propuesta

Los efluentes de la industria de las curtiembres son uno de los más complejos, en lo referente a su tratamiento, debido a la composición y origen de los contaminantes. El tratamiento de efluentes industriales siempre se lleva a cabo en función de las exigencias y normativas que establece la ley. **(ECHEVERRIA, 2012)**

Los límites establecidos por las leyes para diversos parámetros deberían estar basados en los riesgos que tal componente puede originar en el ambiente natural. Es necesario prestar especial atención a los procesos de la industria, tanto en relación a las técnicas de tratamiento de efluentes, como a las tecnologías y procedimientos en el proceso productivo. **(ECHEVERRIA, 2012)**

Hace poco a las aguas de desecho se les ha brindado tratamientos biológicos que generalmente se basan en la acción seres vivos microscópicos que tienen la posibilidad de alimentarse de los residuos biodegradables presentes en las aguas residuales, transformándolos en tejido vivo o biomasa, es decir, en nuevos microorganismos. **(PEÑA, 2010)**

Las aguas residuales y en especial las de las curtiembres cuando se descargan directamente a un cuerpo de agua ocasionan efectos negativos en la vida acuática por la disminución del oxígeno disuelto, y en los usos posteriores, pues deteriora la calidad del recurso impidiendo su utilización directa para el consumo doméstico, fines agrícolas o pecuarios, entre otros. **(OWEN, 2009)**

El tratamiento previo de los efluentes que puedan contaminar es necesario, y es por eso que año tras año se ha tratado de mejorar las técnicas buscando reducir la alteración del equilibrio ecológico sin dificultar los tratamientos que se han tratado de efectuar cuando se ha querido utilizar el agua que está contaminada. **(TOZZI, 2010)**

En los últimos años el tratamiento de aguas residuales por medio de estanques con plantas acuáticas ha despertado un gran interés, por el potencial que han presentado para la depuración de las mismas. Algunos de estos sistemas han logrado proporcionar un tratamiento integral en donde no solamente se remueven eficientemente material orgánico y sólidos suspendidos sino que también se logran reducir nutrientes, sales disueltas, metales pesados y patógenos. **(GARCIA, 2012)**

6.3 Justificación

Azolla anabaena por años ha sido utilizado como un excelente biofertilizante pero que por falta de interés o conocimiento no se ha continuado con investigaciones referentes a este simbiote para buscar otros posibles usos. Es así como surge la idea de utilizarla como biofiltro con el propósito de disminuir la contaminación ambiental, esto incluye la disminución de niveles de contaminación del agua, incentivando la búsqueda de nuevas alternativas para la depuración de aguas residuales, concepto que bien podría utilizarse en el sector industrial como plan de gestión ambiental.

La industria y específicamente el área de las curtiembres, que es en la cual se enfoca esta propuesta y la que en estos momentos requiere de opciones para mejorar sus buenas prácticas como entidad y así intentar ganar mayor credibilidad y solidez mostrándose como entes que no solo busquen un beneficio o lucro económico, sino también que el trabajo que realizan lo hagan pensando en el futuro del planeta, intentando generar menos contaminación de la que normalmente se provee al ambiente una vez que se realizan descargas de tipo contaminante hacia el río Ambato, ya que por más tratamiento químico que se les dé a las aguas residuales antes de ser desechadas, es necesario buscar una nueva alternativa natural para así reducir el impacto ambiental que se pueda generar producto de las labores diarias de las fabricas e industrias, tratando de brindar seguridad a nuestro entorno y con ello a la humanidad en general, puesto que como sabemos las aguas de río muchas veces son utilizadas por la población

aledaña para: regadío, uso en sus viviendas en caso de que no cuenten con el servicio de agua potable, entre otros, dando uso a estas aguas que no tienen garantía de estar completamente limpias debido a que estas se mezclan con aguas residuales, lo cual es un factor que podría ocasionar consecuencias bastante lamentables.

6.4 Objetivos

6.4.1 Objetivo General

- Construir azollarios en los canales de desecho de aguas residuales de la Curtiembre Tungurahua.

6.4.2 Objetivos Específicos

- Medir el DBO de las muestras de agua que van a ser desechadas al río Ambato sometiéndolas previamente al tratamiento con *Azolla anabaena*.
- Comparar los resultados obtenidos respecto al DBO frente a los resultados que se obtenían sin utilizar un tratamiento similar.
- Verificar si es efectivo el uso de *Azolla anabaena* en la depuración de este tipo de aguas y analizar las repercusiones en la descontaminación ambiental.

6.5 Análisis de factibilidad de implementación

La investigación a desarrollarse es de tipo investigativo, ya que con esto se contribuirá con un gran aporte a la sociedad y al sector industrial proveyéndoles de una idea innovadora que hará que sus planes de gestión ambiental mejoren y que incluso su reputación como empresas no contaminantes del ambiente se optimice, ya que no se estaría atentando contra el ambiente sino todo lo contrario.

Además el análisis de factibilidad también es de tipo gestional ya que al obtener menores cantidades de DBO en el agua desechada estaríamos dándole una oportunidad al planeta de ya no ser unos contaminantes potenciales brindado este tipo de alternativas biotecnológicas, por lo tanto, incrementaremos la credibilidad y seriedad de la industria.

En lo que se refiere al análisis financiero de esta propuesta, es necesario un estudio de costos de todo lo que ocasionara una inversión. Este análisis se lo realizará conjuntamente con la entidad que se vaya a trabajar, analizando posibles costos que implicará su realización. Con la propuesta planteada se pretende causar menos impacto ambiental y reducir así la contaminación de nuestros ríos.

6.6 Fundamentación

6.6.1 Aguas residuales

La generación de aguas residuales se debe principalmente a las aguas que desembocan en el río que provienen de industria, hospitales, clínicas, aguas servidas y a restos de producto derramados. (POZO, 2012)

Se descargan los residuos de 65 curtiembres, 10 fábricas de alimentos, tres empresas cromadoras, 105 lubricadoras, 30 lavadoras de vehículos y las aguas servidas que producen más de 120 000 habitantes de la capital de Tungurahua. (MORETA, 2009)

Estas aguas descargadas presentan siguientes características:

- Alto contenido de materia orgánica.
- Aceites y grasas.
- Niveles elevados de nitrógeno y fósforo, principalmente debidos a los productos de limpieza y desinfección.
- Variaciones importantes de pH, vertidos de soluciones ácidas y básicas.

Se pueden clasificar en dos tipos: los sistemas que emplean procesos fisicoquímicos y los que se sustentan en procesos biológicos. (POZO, 2012)

6.6.2 Tecnología de depuración de vertidos

Los vertidos deben ser depurados de contaminantes antes de ser introducidos de nuevo en el río, para restablecer las condiciones originales del agua. El tratamiento de un vertido se clasifica en:

- Pre tratamiento, suelen ser tratamientos físicos
- Primarios, son tratamientos físico-químicos
- Secundarios, son tratamientos biológicos
- Terciarios, son tratamientos variados según las características del vertido. (NERÍN, 2009)

Es en la última etapa en donde podrían introducirse nuevas bioalternativas como es el caso de *Azolla anabaena*.

6.6.3 *Azolla anabaena* como alternativa

La *Anabaena azollae* es una cianobacteria microscópica que se aloja permanentemente en simbiosis dentro de las hojas de la Azolla, y se encarga de fijar el nitrógeno de la atmósfera. (MONTAÑO, 2006)

Se han estudiado distintas plantas acuáticas en sistemas de depuración de aguas residuales, algas u otras sumergidas, con vistas a explorar su posible valor, las así denominadas macrófitas acuáticas flotantes, la lenteja de agua o Lemna (*Lemna spp*), azolla (*Azolla spp*) y Jacinto acuático (*Eichhornia crassipes*) son del grupo de las plantas que con más intensidad se han estado evaluando en el trópico como posibles integrantes de sistemas de recirculación de nutrientes a través de su cultivo en estanques cargados con efluentes provenientes de

biodigestores anaeróbicos, en lagunas, o simplemente colectadas en su medio natural. **(GARCÍA, 2012)**

La relación simbiótica entre el helecho y la cianobacteria, permite a la Azolla ser relativamente independiente de utilizar nitrógeno de su entorno que da a la planta la capacidad de llegar a fijar del aire más de 600 kg N/ha/año; y ha atraído el interés de muchos científicos. Este hecho hace que la Azolla tienda a contener niveles relativamente altos de nitrógeno y ser una fuente proteica atractiva para la alimentación animal, no solamente del ganado y en la avicultura, sino en acuicultura, para alimentar peces en forma fresca o seca. Se le llama 'helecho mosquito', por la creencia de que ningún mosquito puede penetrar la cubierta verde de helechos para poner sus huevos en el agua. **(GARCÍA, 2012)**

Muchas de las especies pueden producir grandes cantidades de antocianinas, pigmentos hidrosolubles que se hallan en las vacuolas de las células vegetales, generadas con el sol brillante, creando una intensa coloración rojiza y dando la sensación de cubrirse la superficie acuosa de una alfombra roja. Ayuda a controlar el desarrollo de las algas al limitar la disponibilidad de la luz. **(GARCÍA, 2012)**

6.7 Metodología

Tabla 1. Modelo Operativo (Plan de acción)

Fases	Metas	Actividades	Responsables	Recursos	Presupuesto	Tiempo
1. Desarrollo preliminar de la propuesta	Cronograma de la propuesta.	Construcción e instalación de Azollarios.	Investigador	Humanos Insumos Económicos	\$400	3 semanas
2. Formulación de la propuesta	Ejecución de La propuesta.	Preparación de las muestras de <i>Azolla anabena</i> en los azollarios.	Investigador	Humanos Insumos	\$150	1 semana
3. Implementación de la propuesta	Instalación de Azollarios en la Curtiduría Tungurahua usando <i>Azolla anabaena</i>	Colocación de <i>Azolla anabena</i> en los azollarios y reposo de agua.	Investigador	Humanos Insumos	\$90	1 semana
4. Evaluación de la propuesta	Medición del DBO en el agua	Toma de muestras y análisis pertinentes.	Investigador	Humanos Materiales Equipos	\$160	3 semanas

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013.

6.8 Administración

Tabla 5. Administración de la Propuesta.

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados Esperados	Actividades	Responsables
<p>Nivel de DBO en el agua que es desechada hacia el Río Ambato</p>	<p>Contaminación del Río Ambato debido al alto grado de DBO, producto de aguas de desecho de la Curtiduría Tungurahua.</p>	<p>Baja concentración de DBO Descontaminación ambiental del río Ambato</p>	<p>Construcción de Azollarios Obtención de resultados favorables es decir aguas con bajo nivel de contaminación. Comparación de resultados de DBO antes y después de aplicar la propuesta Establecer si la propuesta fue o no efectiva a escala industrial</p>	<p>Responsable: Ing. Juan Ramos Investigador: Adriana Pulluquina</p>

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013.

6.9 Previsión de la evaluación

Tabla 6. Previsión de la evaluación.

Preguntas básicas	Explicación
¿Quiénes solicitan evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Sector científico. • Curtiduría Tungurahua.
¿Por qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Para disminuir el impacto ambiental en cuanto a la contaminación de aguas se refiere.
¿Para qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Disminuir el nivel de contaminación con el que generalmente se arroja las aguas de desecho hacia los ríos.
¿Qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Aguas residuales. • Resultados obtenidos.
¿Quién evalúa?	<ul style="list-style-type: none"> • Director del proyecto. • Tutor. • Calificadores.
¿Cuándo evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Todo el tiempo desde las pruebas preliminares, hasta la comprobación de la efectividad <i>Azolla anabaena</i> en el agua desechada de la curtiembre.
¿Cómo evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Mediante análisis de muestras de agua y comprobaciones estadísticas de los resultados obtenidos.
¿Con qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Experimentación. • Normas establecidas.

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA:

1. Asamblea Constituyente. 2008. Constitución de la República del Ecuador. Págs.: 174-177
2. Carrapico, F. 2006. Is the azolla-anabaena symbiosis a co-evolution case?. Disponible en línea: http://azolla.fc.ul.pt/documents/Azolla_Kazan06.pdf
3. Ceresnet. 2010. La fijación de nitrógeno atmosférico una biotecnología en la producción agraria. Disponible en línea: http://www.ceresnet.com/ceresnet/esp/servicios/teleformacion/agroambiente/nitrogeno_atmosferico.pdf
4. Davidse, Gerrit, & Otros. 2011. Flora Mesoamericana: Psilotaceae a Salviniaceae. Disponible en línea: <http://books.google.com>
5. Echeverría, Diego. 2012. Tratamiento de aguas residuales de Curtiembres. Disponible en línea: <http://es.scribd.com/doc/26730635/Tratamiento-de-Aguas-Residuales-Curtiembres-a>
6. Franco, Imer. 2004. *Azolla anabaena* como un abono alternativo en la producción de arroz en el litoral ecuatoriano - Análisis Económico Financiero. Disponible en línea: <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/3790/1/6317.pdf>
7. García Trujillo, Zarela Milagros. 2012. Comparación y evaluación de tres plantas acuáticas para determinar la eficiencia de remoción de nutrientes en el tratamiento de aguas residuales domésticas. Disponible en línea: http://www.lima-water.de/documents/zgarcia_tesis.pdf
8. International Rice Research Institute. 1985. Azolla utilization. Págs. 56-65.

Disponible en línea:

http://books.google.com.ec/books/about/Azolla_utilization.html?id=VmFNJ5XvvVwC&redir_esc=y

9. Marsilli, Alejandro. 2005. "Tratamiento de aguas residuales" Disponible en línea: <http://www.tierramor.org/Articulos/tratagua.htm>

10. Montaña Armijos, Mariano. 2005. Estudio de la aplicación de Azolla Anabaena como bioabono en el cultivo de arroz en el Litoral ecuatoriano, Revista Tecnológica ESPOL, Vol. 18, N. 1, 147-151, (Octubre, 2005), ISSN: 0257-1749. Disponible en línea: www.rte.espol.edu.ec/archivos/Revista_2005/80.pdf.

11. Montaña, Mariano. 2006. Aplicación de la simbiosis diazotrófica entre Azolla Anabaena como abono verde para el cultivo de arroz en el Litoral Ecuatoriano. Disponible en línea: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/AEISA2006/MarianoMontano.pdf>

12. Modesto Moreta. 2009. Disponible en línea: http://www.elcomercio.com/noticias/locales-afectan-rioAmbato_0_125387468.html

13. Muñoz, Carlos. 2012. Fundamentos del tratamiento biológico. Disponible en línea: http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lic/munoz_c_r/capitulo2.pdf

14. Nerín de la Puerta, Cristina. 200. Disponible en línea: <http://www.etsav.upc.es/personals/monclus/cursos/1301.htm>

15. Owen, Joyce. (2009) Contaminación de las aguas. Disponible en línea: <http://www2.medioambiente.gov.ar/sian/chubut/trabajos/contagua.htm>

16. Pozo, César. (2012). "Fitoremediación de las aguas del canal de riego Latacunga – Salcedo – Ambato mediante humedales vegetales a nivel de prototipo de campo Salcedo –Cotopaxi". Disponible en: <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/handle/123456789/1939/MSc.%2024pdf?sequence=1.pdf>
17. Rodríguez, Antonio & Otros. 2006. Tratamientos avanzados de aguas residuales. Págs.: 1-17. Disponible en línea: http://www.madrimasd.org/informacionidi/biblioteca/publicacion/doc/vt/vt2_tratamientos_avanzados_de_aguas_residuales_industriales.pdf
18. Saltos, Aníbal. 2010. Sensometría (Análisis en el desarrollo de alimentos procesados. Editorial Pedagógica Freire. Riobamba. Págs: 378-384.
19. Seckbach, Joseph & Grube, Martin. 2010. Symbioses and Stress (ebook). Págs: 14-15. Disponible en: <http://www.springer.com/life+sciences/microbiology/book/978-90-481-9448-3>
20. Tozzi, Eduardo. 2010. Aguas Industriales. Disponible en : http://www.elprisma.com/apuntes/ingenieria_quimica/aguasindustriales/
21. Valverdesoto, Max. 2011. Principios generales de derecho internacional del medio ambiente. Disponible en línea: <http://www.oas.org/dsd/Toolkit/Documentosspa/Moduloll/Soto%20Article.pdf>
22. Vásquez, Rodrigo. 2011. Marco Teórico aguas residuales. Disponible en línea: http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lic/vazquez_r_d/capitulo2.pdf
23. Y, Julio. 2003. Micrófitas acuáticas flotantes en sistemas integrados de producción porcina. Aspectos agronómicos y del ambiente. Disponible en línea: www.ict.udg.co.cu/FTPDocumentos/.../9.../Rev101/101%20artresJLyOK.doc

ANEXOS

ANEXO A

TABLAS

METODOLOGÍA

Tabla A-1. Parámetros analizados con sus respectivas unidades

PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS:	UNIDADES
Turbidez	UTN
pH	
Conductividad	uS/cm
PARÁMETROS ORGÁNICOS	UNIDADES
DBO	5 días mg/L
DQO	mg/L

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

ANEXO B

TABLAS DE RESULTADOS

EXPERIMENTO PRELIMINAR

CRECIMIENTO DEL SIMBIONTE

Tabla B-1. Profundidad y capacidad de las piscinas.

	GRANJA DE PILLARO		PUCAHUAYCO PARQUE EXTREMO		QUEROCHACA	
	Profundidad ad	Capacidad	Profundidad	Capacidad	Profundidad	Capacidad
Piscina 1	8cm	25 L	8cm	25 L	8cm	25 L
Piscina 2	16cm	50L	16cm	50L	16cm	50L
Piscina 3	24cm	75L	24cm	75L	24cm	75L

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-2. Valores de alturas de crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas 1 (25L para cada caso). Experimento preliminar

DIAS DE OBSERVACION	Altura (m)		
	GRANJA DE PILLARO	PUCAHUAYCO PARQUE EXTREMO	QUEROCHACA
DÍA 1	23	20	25
DÍA 7	54	43	40
DÍA 14	90	85	75
DÍA 21	170	163	152
DÍA 28	200	200	200

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-3. Valores de alturas de crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas 2 (50L para cada caso). Experimento preliminar.

DIAS DE OBSERVACION	Altura (cm)		
	GRANJA DE PILLARO	PUCAHUAYCO PARQUE EXTREMO	QUEROCHACA
DÍA 1	20	18	20
DÍA 7	43	40	35
DÍA 14	75	60	64
DÍA 21	135	130	120
DÍA 28	200	200	200

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-4. Valores de alturas de crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas 3 (75L para cada caso). Experimento preliminar.

DIAS DE OBSERVACION	Altura (m)		
	GRANJA DE PILLARO	PUCAHUAYCO PARQUE EXTREMO	QUEROCHACA
DÍA 1	25	23	20
DÍA 7	56	46	45
DÍA 14	98	90	73
DÍA 21	182	172	154
DÍA 28	200	200	200

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-5. Valores iniciales de DBO

MUESTRA	R1	R2	R3
Agua de acequia Huachi Grande	67,3	69,9	66,1

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-6. Valores finales de DBO

MUESTRA	PISCINA	VALORES DE DBO (mg/L)			PROMEDIOS
		R1	R2	R3	
Píllaro	Piscina (25L)	40,5	41,9	40,2	40,87
	Piscina (50 L)	45,6	47,3	44,3	45,73
	Piscina (75 L)	50,1	49,4	50,9	50,13
Parque Ecológico	Piscina (25L)	52,0	51,5	51,7	51,73
	Piscina (50 L)	54,7	56,9	55,5	55,70
	Piscina (75 L)	58,3	59,3	59,1	58,90
Querochaca	Piscina (25L)	60,0	61,2	59,8	60,33
	Piscina (50 L)	62,1	62,9	61,2	62,07
	Piscina (75 L)	63,9	64,5	62,0	63,47

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-7. Tabla de resultados medidos inicialmente antes de colocar Azolla anabaena.

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO DIA 15 REPLICA 1	RESULTADO DIA 15 REPLICA 2	RESULTADO DIA 15 REPLICA 3
TURBIDEZ	NTU	5,33	5,48	5,67
pH		8,41	8,31	8,02
CONDUCTIVIDAD	μS/cm	287,5	290,2	291,8
DQO	mg/L	15,2	14,9	15,7
DBO	mg/L	67,3	69,9	66,1

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-8. Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 1. Muestras de Granja de Pillaro.

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO DIA 15 REPLICA 1	RESULTADO DIA 15 REPLICA 2	RESULTADO DIA 15 REPLICA 3
TURBIDEZ	NTU	3,41	3,34	3,67
pH		7,02	7,03	7,9
CONDUCTIVIDAD	μS/cm	198,5	197,6	205,2
DQO	mg/L	9,1	9,2	9,8
DBO	mg/L	40,5	41,9	40,2

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-9. Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 2. Muestras de Granja de Pillaro.

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO DIA 15 REPLICA 1	RESULTADO DIA 15 REPLICA 2	RESULTADO DIA 15 REPLICA 3
TURBIDEZ	NTU	3,57	3,34	3,28
pH		7,09	7,07	7,10
CONDUCTIVIDAD	μS/cm	202,9	201,6	204,6
DQO	mg/L	10,0	9,5	8,2
DBO	mg/L	45,6	47,3	44,3

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-10. Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 3. Muestras de Granja de Pillaro.

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO DIA 15 REPLICA 1	RESULTADO DIA 15 REPLICA 2	RESULTADO DIA 15 REPLICA 3
TURBIDEZ	NTU	3,99	3,84	3,91
pH		7,15	7,23	7,19
CONDUCTIVIDAD	μS/cm	207,3	209,5	210,1
DQO	mg/L	10,9	10,4	9,7
DBO	mg/L	50,1	49,4	50,9

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-11. Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 1. Muestras de Parque Extremo Pucahuayco.

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO DIA 15 REPLICA 1	RESULTADO DIA 15 REPLICA 2	RESULTADO DIA 15 REPLICA 3
TURBIDEZ	NTU	4,13	4,20	4,17
pH		7,24	7,20	7,25
CONDUCTIVIDAD	μS/cm	219,5	214,4	213,5
DQO	mg/L	11,1	10,7	11,4
DBO	mg/L	52,0	51,5	51,7

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-12. Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 2. Muestras de Parque Extremo Pucahuayco.

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO DIA 15 REPLICA 1	RESULTADO DIA 15 REPLICA 2	RESULTADO DIA 15 REPLICA 3
TURBIDEZ	NTU	4,19	4,23	4,25
pH		7,27	7,29	7,31
CONDUCTIVIDAD	μS/cm	228,2	223,3	219,9
DQO	mg/L	11,3	12,6	11,9
DBO	mg/L	54,7	56,9	55,5

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-13. Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 3. Muestras de Parque Extremo Pucahuayco.

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO DIA 15 REPLICA 1	RESULTADO DIA 15 REPLICA 2	RESULTADO DIA 15 REPLICA 3
TURBIDEZ	NTU	4,27	4,28	4,26
pH		7,34	7,38	7,32
CONDUCTIVIDAD	μS/cm	229,2	225,3	228,8
DQO	mg/L	12,3	11,7	11,4
DBO	mg/L	58,3	59,3	59,1

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-14. Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 1. Muestras de Querochaca.

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO DIA 15 REPLICA 1	RESULTADO DIA 15 REPLICA 2	RESULTADO DIA 15 REPLICA 3
TURBIDEZ	NTU	4,51	4,66	4,55
pH		7,41	7,53	7,39
CONDUCTIVIDAD	μS/cm	231,7	229,8	230,1
DQO	mg/L	12,5	12,0	11,8
DBO	mg/L	60,0	61,2	59,8

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-15. Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 2. Muestras de Querochaca.

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO DIA 15 REPLICA 1	RESULTADO DIA 15 REPLICA 2	RESULTADO DIA 15 REPLICA 3
TURBIDEZ	NTU	4,89	4,78	4,82
pH		7,58	7,65	7,63
CONDUCTIVIDAD	μS/cm	233,7	235,4	234,5
DQO	mg/L	12,8	12,6	13,0
DBO	mg/L	62,1	62,9	61,2

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Tabla B-16. Tabla de resultados medidos a los 15 días de experimentación. Piscina 3. Muestras de Querochaca.

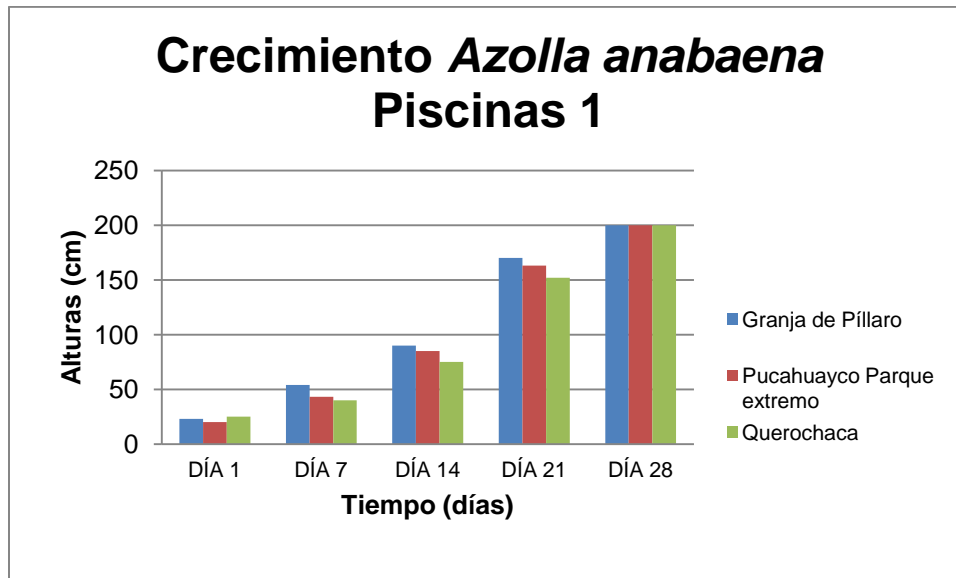
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO DIA 15 REPLICA 1	RESULTADO DIA 15 REPLICA 2	RESULTADO DIA 15 REPLICA 3
TURBIDEZ	NTU	5,03	4,94	4,90
pH		7,76	7,82	7,90
CONDUCTIVIDAD	μS/cm	253,2	264,0	271,3
DQO	mg/L	13,5	12,9	13,2
DBO	mg/L	63,9	64,5	62,0

Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

ANEXO C
(parte I)
GRÁFICOS

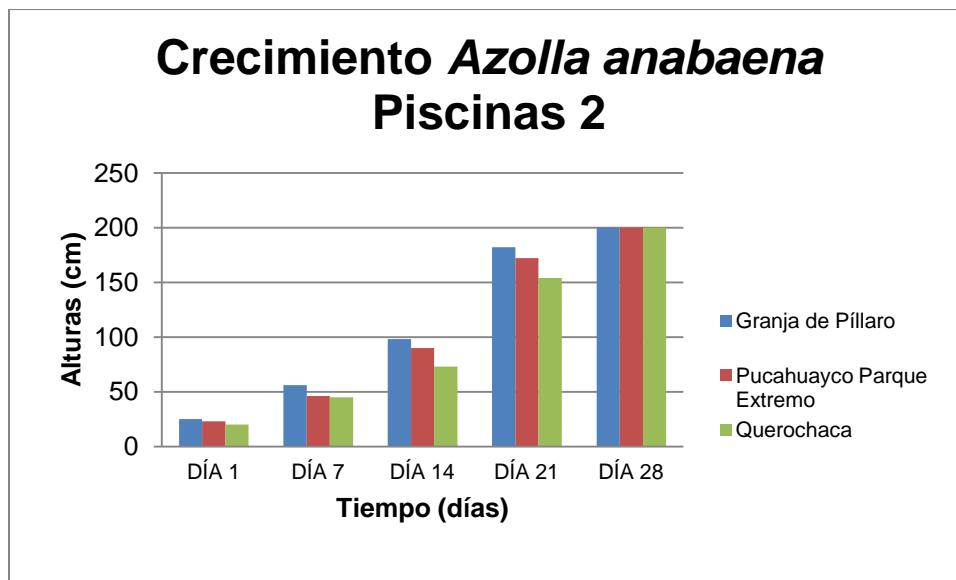
**GRÁFICOS
DE BARRAS
DEL CRECIMIENTO
Azolla anabaena**

Gráfico C-1. Crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas 1 (25L para cada caso).
Experimento preliminar



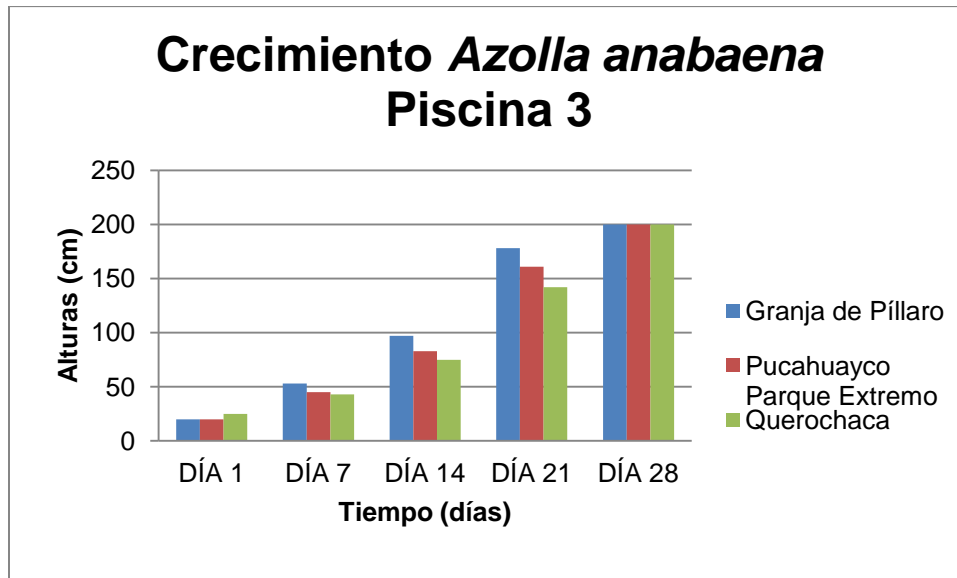
Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Gráfico C-2. Crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas 2 (50L para cada caso).
Experimento preliminar



Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013

Gráfico C-3. Crecimiento de *Azolla anabaena* en las piscinas 3 (75L para cada caso).
Experimento preliminar



Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013 (STATGRAPHICS).

ANEXO D

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Tabla D-1. Análisis de la Varianza para DBO

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A: Proven. muestra	1207,04	1	1207,04	2053,23	0,0000
B: Cant. agua	191,427	1	191,427	325,63	0,0000
AA	16,8896	1	16,8896	28,73	0,0000
AB	28,2133	1	28,2133	47,99	0,0000
BB	0,409074	1	0,409074	0,70	0,4145
Bloques	6,28074	2	3,14037	5,34	0,0144
Error Total	11,1696	19	0,587875		
Total	1461,43	26			

Fuente: Adriana Pulluquina. 2013 (STATGRAPHICS)

Tabla D-2. Análisis de varianza. Parte II.

R-cuadrado	= 99,2357 por ciento
R-cuadrado (ajustado para g.l.)	= 99,0537 por ciento
Error Estándar de Est.	= 0,76673
Error absoluto de la media	= 0,463374
Estadístico Durbin-Watson	= 2,15698 (P=0,1669)
Autocorrelación residual Lag 1	= -0,135241

Fuente: Adriana Pulluquina. 2013 (STATGRAPHICS)

Tabla D-3. Coeficiente de Regresión para DBO

Constante	= 48,0519
A: Procedencia de la muestra	= 11,2556
B: Cantidad de agua	= 0,172222
AA	= -1,67778
AB	= -0,061333
BB	= -0,000417778

Fuente: Adriana Pulluquina. 2013 (STATGRAPHICS)

Tabla D-4. Resultados de la Estimación para DBO

Fila	Observados valor	Ajustados Valor	Inf. 95,0% CL para la media	Sup. CL para la media
1	40,5	40,5037	39,5644	41,443
2	52,0	51,9037	51,0866	52,7208
3	60,0	59,9481	69,0088	60,875
4	45,6	45,5593	44,7421	46,3764
5	54,7	55,4259	54,6088	56,243
6	62,1	61,937	61,1199	62,7542
7	50,41	50,0926	49,1533	51,0319
8	58,3	58,4259	57,6088	59,243
9	63,9	63,4037	62,4644	64,343
10	41,9	41,3593	40,42	42,2986
11	51,5	52,7593	51,9421	53,5764
12	61,2	60,8037	59,8644	61,743
13	47,3	46,4148	45,5977	47,2319
14	56,9	56,2815	55,4644	57,0986
15	62,9	62,7926	61,9755	63,6097
16	49,4	50,9481	50,0088	51,8875
17	59,3	59,2815	58,4644	60,0986
18	64,5	64,2593	63,32	65,1986
19	4,2	40,2259	39,2866	41,1652
20	1,7	51,6259	50,8088	52,443
21	59,8	59,6704	58,7311	60,6097
22	44,3	45,2815	44,4644	46,0986
23	55,5	55,1481	54,331	55,9653
24	61,2	61,6593	60,8421	62,4764
25	50,9	49,8148	48,8755	50,7541
26	59,1	58,1481	57,331	58,9653
27	62,0	63,1259	62,1866	64,0652

Fuente: Adriana Pulluquina. 2013 (STATGRAPHICS).

Tabla D-5. Matriz de Correlación para efectos estimados

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
(1) Promedio	1,0000	0,0000	0,0000	-0,6325	0,0000	-0,6325	0,0000	0,0000
(2) A: Proven. Muestra	0,0000	1,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
(3) B: Cantidad de agua	0,0000	0,0000	1,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
(4) AA	- 0,6325	0,0000	0,0000	1,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
(5) AB	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000	0,0000	0,0000	0,0000
(6) BB	- 0,6325	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000	0,0000	0,0000
(7) Bloque	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000	-0,5000
(8) Bloque	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	-0,5000	1,0000

Fuente: Adriana Pulluquina. 2013 (STATGRAPHICS)

Tabla D-6. Ruta ascendente para DBO

Procedencia de la muestra	Cantidad de agua	DBO (mg/L)
0,0	50,0	55,6185
1,0	59,6833	62,7597
2,0	65,924	65,3031
3,0	13,7704	66,4771
4,0	-43,3643	68,6144
5,0	-100,499	71,6771

Fuente: Adriana Pulluquina. 2013 (STATGRAPHICS)

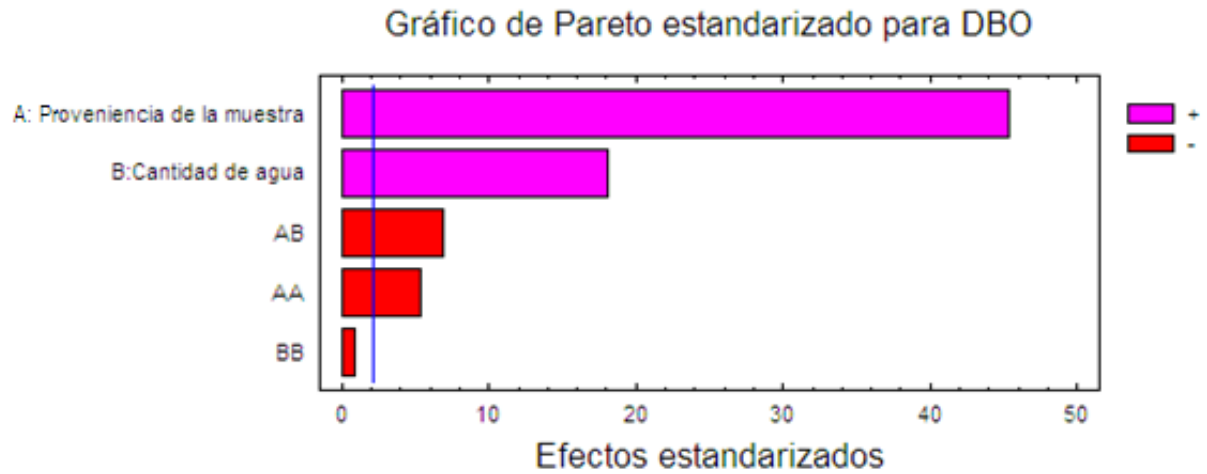
Tabla D-7. Respuesta optimizada

Meta: minimizar DBO			
Valor óptimo = 40,6963			
Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
Proven. de la muestra	Granja de Píllaro	Querochaca	Granja de Píllaro
Cantidad de agua	25,0	75,0	25

Fuente: Adriana Pulluquina. 2013 (STATGRAPHICS)

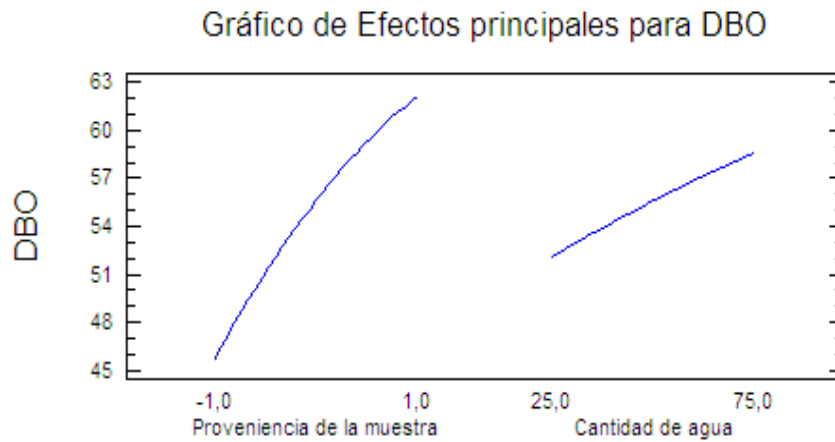
ANEXO C
(parte II)
Gráficos del
Diseño
Experimental

Gráfico C-4. Gráfico de Pareto estandarizado para DBO.



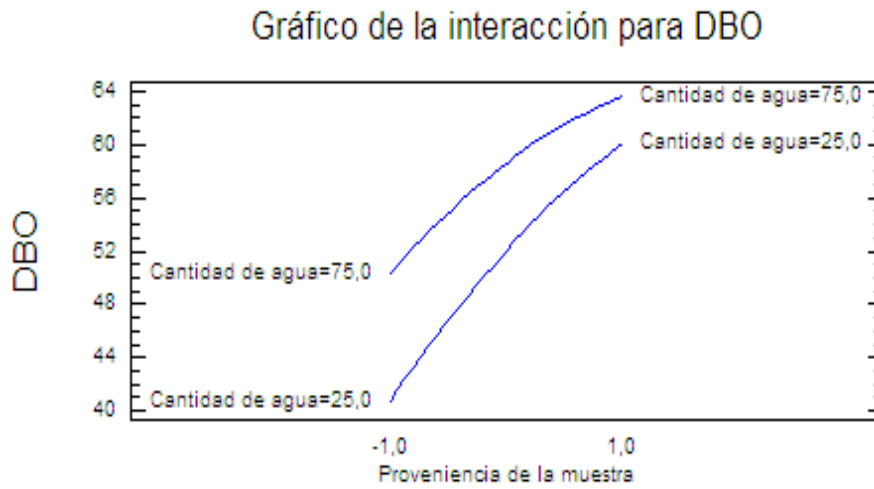
Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013 (STATGRAPHICS).

Gráfico C-5. Gráfico de efectos principales para DBO.



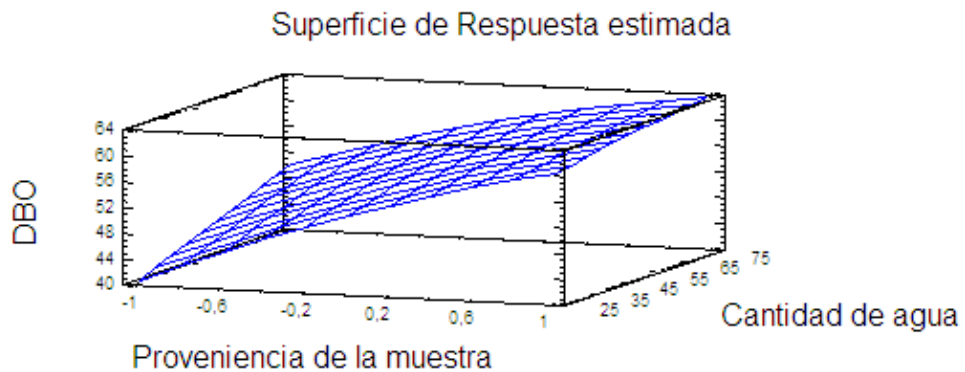
Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013 (STATGRAPHICS).

Gráfico C-6. Gráfico de la interacción para DBO.



Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013 (STATGRAPHICS).

Gráfico C-7. Gráfico de superficie de la Respuesta estimada.



Elaborado por: Adriana Pulluquina, 2013 (STATGRAPHICS).

ANEXO F

FOTOGRAFÍAS

**LUGAR
DE
TOMA
DE MUESTRAS**

Fotografía F-1. Granja de Pillaro



Fotografía F-2. Pucahuayco Parque Extremo



Fotografía F-3. Querochaca



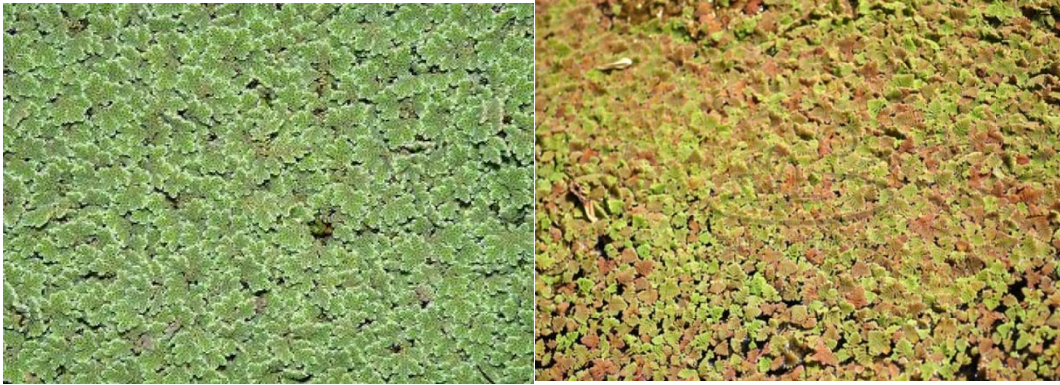
OBSERVACIONES

MACRO

Y

MICROSCÓPICAS

Fotografía F-4. Azolla anabaena vista macroscópica.



Fotografía F-5. Azolla anabaena vista microscópica – heterocistos.



PROCEDIMIENTO

Fotografía F-7. Colocación de muestra.



Fotografía F-8. Piscinas con las muestras en crecimiento.



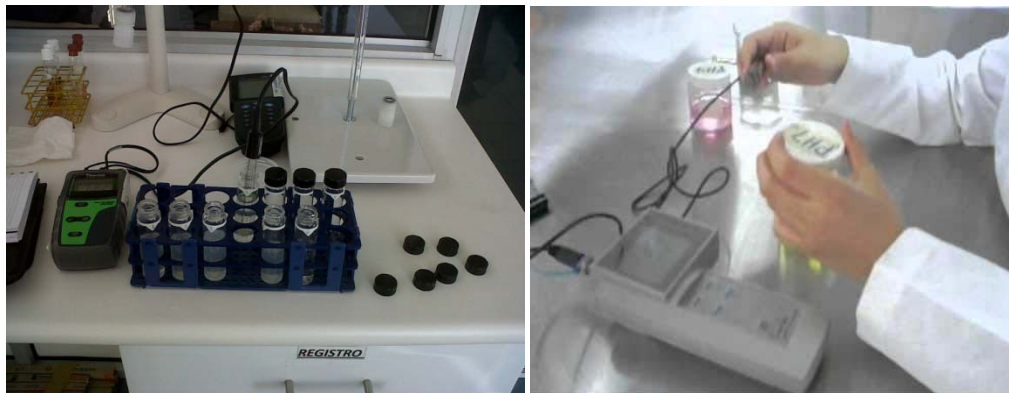
Fotografía F-9. Toma de muestras desde el canal de la acequia.



Fotografía F-10. Toma de muestras de agua en estudio de las piscinas.



Fotografía F-11. Medición del pH de las muestras.



Fotografía F-12. Medición de conductividad de las muestras.



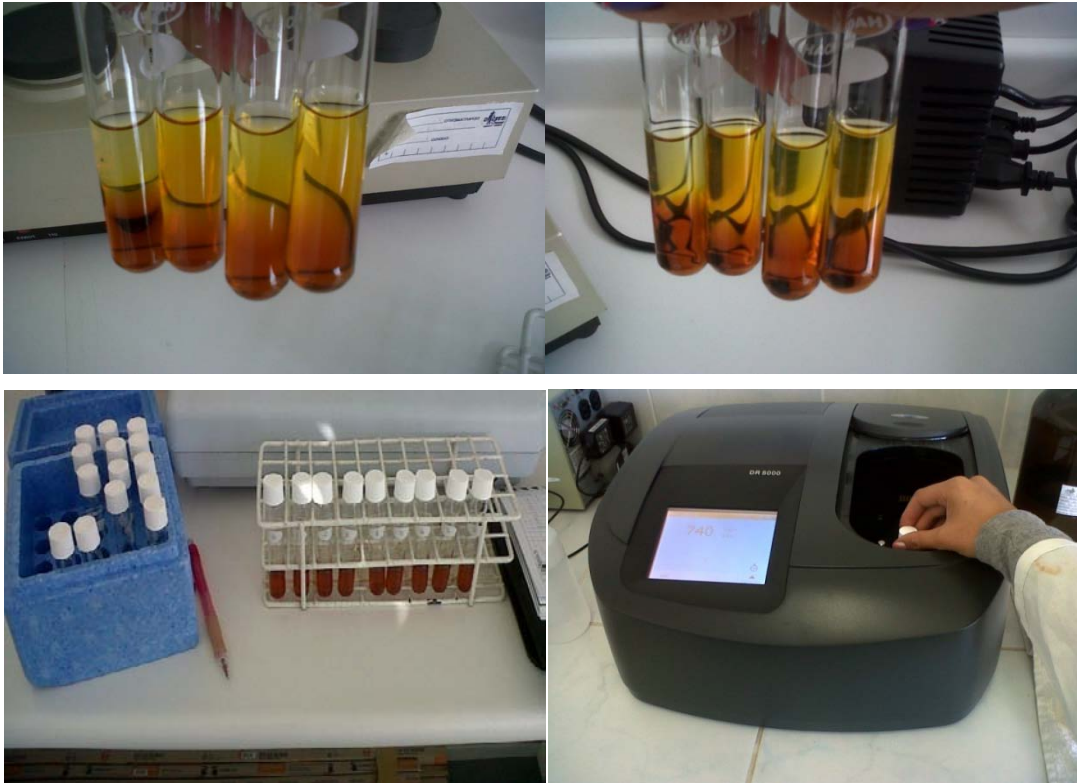
Fotografía F-13. Medición de la turbidez de las muestras.



Fotografía F-14. Preparación de muestras para la medición de DQO.



Fotografía F-15. Colocación de muestras en el equipo de DQO.



Fotografía F-16. Preparación de muestras para la medición de DBO.



Fotografía F-17. Preparación de muestras para la medición de DBO.



**MATERIALES
Y EQUIPO
DE LABORATORIO**

Fotografía F-18. Laboratorio en el cual se realizó los análisis



Fotografía F-19 pH-metro



Fotografía F-20 Turbidímetro



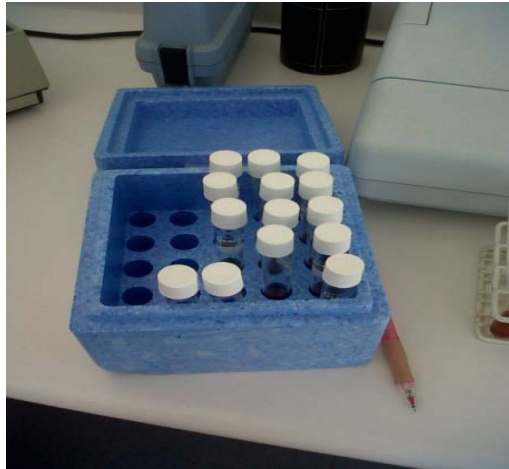
Fotografía F-21 Conductivímetro



Fotografía F-22 Equipo para medir DQO



Fotografía F-23 Reactivos para DQO



Fotografía F-24 Espectrofotómetro



Fotografía F-25 Equipo para medir DQO

