



UNIVERSIDAD INDOAMÉRICA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MEDIO AMBIENTE
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIODIVERSIDAD Y RECURSOS GENÉTICOS

**Evaluación de la biodegradación de nutrientes mediada por
microorganismos en la laguna eutrofizada de Yahuarcocha.**

Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del título de

INGENIERA EN BIODIVERSIDAD Y RECURSOS GENÉTICOS

AUTORA

Cinthia Paulina Chávez Moran

TUTOR

Ing. Jean Carlo Andrade Tobar MSc.

Quito-Ecuador

2025

**AUTORIZACIÓN POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN
PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TRABAJO DE
TÍTULACIÓN**

Yo, Cinthia Paulina Chávez Moran, declaro ser autora del Trabajo de Titulación con el nombre **“Evaluación de la biodegradación de nutrientes mediada por microorganismos en la laguna eutrofizada de Yahuarcocha”**, como requisito para optar al grado de Ingeniera en Biodiversidad y Recursos Genéticos y autorizo al Sistema de Bibliotecas de la Universidad Tecnológica Indoamérica, para que con fines netamente académicos divulgue esta obra a través del Repositorio Digital Institucional (RDI-UTI).

Los usuarios del RDI-UTI podrán consultar el contenido de este trabajo en las redes de información del país y del exterior, con las cuales la Universidad tenga convenios. La Universidad Tecnológica Indoamérica no se hace responsable por el plagio o copia del contenido parcial o total de este trabajo.

Del mismo modo, acepto que los Derechos de Autor, Morales y Patrimoniales, sobre esta obra, serán compartidos entre mi persona y la Universidad Tecnológica Indoamérica, y que no tramitaré la publicación de esta obra en ningún otro medio, sin autorización expresa de la misma. En caso de que exista el potencial de generación de beneficios económicos o patentes, producto de este trabajo, acepto que se deberán firmar convenios específicos adicionales, donde se acuerden los términos de adjudicación de dichos beneficios.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Quito, a los 24 días del mes de febrero de 2025, firmo conforme:

Autor: Cinthia Paulina Chávez Moran

Firma: 

Número de Cédula: 1004743140

Dirección: Pichincha, Quito, Cotacollao.

Correo Electrónico: cinthypao29@gmail.com

Teléfono: 0981844744

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación “EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DE NUTRIENTES MEDIADA POR MICROORGANISMOS EN LA LAGUNA EUTROFIZADA DE YAHUARCOCHA” presentado por Cinthia Paulina Chávez Moran, para optar por el Título Ingeniera en Biodiversidad y Recursos Genéticos,

CERTIFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del Tribunal Examinador que se designe.

Quito, 24 de febrero del 2025

.....

Ing. Jean Carlo Andrade Tobar MSc

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Quien suscribe, declaro que los contenidos y los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, como requerimiento previo para la obtención del Título de Ingeniera en Biodiversidad y Recursos Genéticos, son absolutamente originales, auténticos y personales y de exclusiva responsabilidad legal y académica del autor

Quito, 24 de febrero del 2025

A handwritten signature in blue ink that reads "Cinthia Chavez". The signature is written in a cursive style and is underlined with a single horizontal line.

Cinthia Paulina Chávez Moran

1004743140

APROBACIÓN TRIBUNAL

El trabajo de Titulación ha sido revisado, aprobado y autorizada su impresión y empastado, sobre el Tema: EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DE NUTRIENTES MEDIADA POR MICROORGANISMOS EN LA LAGUNA EUTROFIZADA DE YAHUARCOCHA, previo a la obtención del Título de Ingeniera en Biodiversidad y Recursos Genéticos, reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la sustentación del trabajo de titulación.

Quito, 24 de febrero del 2025

.....
Dr. Alex Renato Santillán Sarmiento
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

.....
Dr. Ibon Tobes Sesma
VOCAL

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a:

A mi madre, mi pilar y mi razón de ser, quien, con su amor incondicional, su fuerza inquebrantable y su apoyo infinito, fue la luz que guio mis pasos en los momentos más difíciles. Gracias por creer en mi cuando yo dudaba, por ser mi refugio en los días de incertidumbre y por enseñarme que, con perseverancia y dedicación, todo es posible. Esta tesis es el fruto de tu esfuerzo, tu sacrificio y tu amor. Te la dedico con todo mi corazón, porque sin ti, nada de esto habría sido posible. A mi familia por estar siempre unidos, apoyándonos en cada paso, compartiendo alegrías y superando desafíos. Gracias por su cariño y amor incondicional. A mi tutor Jean Carlo Andrade, por su invaluable guía, su paciencia infinita y su sabiduría compartida durante este camino. Gracias por creer en mi proyecto, por impulsarme a superar mis límites y por brindarme las herramientas para convertir mis ideas en realidad. Su dedicación y compromiso han sido fundamentales para alcanzar este logro. Esta tesis es también un reflejo de su esfuerzo y apoyo constante.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, doy gracias a Dios por ser mi guía y fortaleza, por iluminar mi camino y darme la sabiduría y perseverancia para alcanzar este logro. Gracias porque, a través de ti, mi madre encontró la fuerza para sacarme adelante y darme la oportunidad de seguir mis estudios. A ti mamá, te agradezco con todo mi corazón por tus sacrificios, sé que mi deuda contigo es interminable, y, aun así, cuando sé que tu corazón no me cobrará nada, el mío sabe que te lo debe todo. A mi tutor Jean Carlo Andrade quien dejó una huella imborrable en mi corazón y ha contribuido a mi crecimiento personal y académico. Gracias por su paciencia infinita, su dedicación y compromiso a pesar del cansancio y el estrés que conlleva su labor. Siempre estuvo ahí apoyándome en cada paso, compartiendo su conocimiento e impulsándome a dar lo mejor de mí. Al Ing. Santiago Mafla, quien me brindo su apoyo incondicional durante mi tiempo en el laboratorio. Gracias por compartir sus conocimientos con generosidad, por abrirme las puertas de la PUCE Ibarra y permitirme realizar mis experimentos en sus instalaciones. A pesar de sus múltiples responsabilidades y ocupaciones, siempre encontró un momento para atenderme, orientarme y asegurarme de que tuviera lo necesario para avanzar en mi investigación. A mi amiga Sofía Brown, por estar a mi lado en los momentos clave de este proceso. Gracias por tu ayuda en la recolección de muestras y colaboración en el laboratorio. Tu apoyo incondicional, tus palabras de aliento y tu amistad sincera. Y por último agradecer al cuerpo de bomberos de Ibarra por su apoyo logístico en la prestación de la embarcación para la recolección de mis muestras. Gracias por facilitar el desarrollo de esta investigación. A todos, gracias por ser parte de esta etapa.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. OBJETIVOS:	7
1.1.1. Objetivo general:	7
1.1.2. Objetivos específicos:	7

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA.....	7
2.1. Tipo de investigación	7
2.2. Diseño de investigación	8
2.3. Área de estudio	8
2.4. Muestreo.....	8
2.5. Recolección de muestras de agua	10
2.6. Condiciones de trabajo y procedimientos microbiológicos.....	11
2.7. Medición de iones	11
2.8. Obtención de muestras de suelo de la Isla Santay	13
2.9. Preparación de muestra de suelo de la isla Santay.....	13
2.11. Preparación de caldo de cultivo y agar nutritivo	14
2.12. Inoculación en medios de cultivo líquido	14
2.13. Inoculación en medio de cultivo sólido	14
2.14. Purificación de cepas	15
2.15. Evaluación de ecología microbiana mediante Ecoplate®.....	15
2.16. Evaluación de la biodegradación con microorganismos aislados frente a nutrientes mediante ensayos de bioaumentación.	17

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS.....	19
3.1. Parámetros fisicoquímicos de la laguna Yahuarcocha.....	19
3.2. Concentraciones iniciales de nitratos y fosfatos.....	20
3.3. Características metabólicas de fuentes de carbono	21
3.4. Evaluación de biodegradación de nutrientes por microorganismos aislados mediante ensayos de bioaumentación	28

4. DISCUSIÓN.....	30
CAPÍTULO IV	
5. CONCLUSIONES.....	34
6. RECOMENDACIONES	35
6.1. Soluciones basadas en la naturaleza.....	35
7. BIBLIOGRAFÍA.....	40
8. ANEXOS.....	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Coordenadas de los puntos de muestreo y actividades observadas alrededor de la laguna Yahuarcocha.	9
Tabla 2. Fórmula para calcular el desarrollo de color promedio del pocillo (AWCD).	16
Tabla 3. Distribución de tratamientos y condiciones experimentales con muestras compuestas de agua eutrofizada de Yahuarcocha.	18
Tabla 4. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de fuentes complejas de carbono M2, M3 M4.	48
Tabla 5. Análisis de Tukey en el consumo de fuentes complejas de carbono M2, M3, M4.	48
Tabla 6. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de fuentes complejas de carbono cepa 1, 2, 3.	49
Tabla 7. Análisis de Tukey en el consumo de fuentes complejas de carbono Cepa 1, 2, 3.	49
Tabla 8. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de fuentes complejas de carbono cepa 4, 5, 6.	50
Tabla 9. Análisis de Tukey en el consumo de fuentes complejas de carbono Cepa 4, 5, 6.	50
Tabla 10. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de aminoácidos M2, M3 M4.	50
Tabla 11. Análisis de Tukey en el consumo de aminoácidos M2, M3, M4.	51
Tabla 12. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de aminoácidos Cepa 1, 2, 3.	51
Tabla 13. Análisis de Tukey en el consumo de aminoácidos Cepa 1, 2, 3.	51
Tabla 14. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de aminoácidos Cepa 4, 5 ,6.	52
Tabla 15. Análisis de Tukey en el consumo de aminoácidos Cepa 4, 5 ,6.	52
Tabla 16. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de carbohidratos M2, M3 M4.	53
Tabla 17. Análisis de Tukey en el consumo de carbohidratos M2, M3, M4.	53
Tabla 18. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de carbohidratos Cepa 1, 2, 3.	53
Tabla 19. Análisis de Tukey en el consumo de carbohidratos Cepa 1, 2, 3.	54
Tabla 20. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de carbohidratos Cepa 4, 5 ,6.	54
Tabla 21. Análisis de Tukey en el consumo de carbohidratos Cepa 4, 5 ,6.	54
Tabla 22. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de ácidos carboxílicos M2, M3 M4.	55
Tabla 23. Análisis de Tukey en el consumo de ácidos carboxílicos M2, M3, M4.	55
Tabla 24. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de ácidos carboxílicos Cepa 1, 2, 3.	56
Tabla 25. Análisis de Tukey en el consumo de ácidos carboxílicos Cepa 1, 2, 3.	56
Tabla 26. Análisis de varianza ANOVA en el ácidos carboxílicos Cepa 4, 5 ,6.	56
Tabla 27. Análisis de Tukey en el consumo de ácidos carboxílicos Cepa 4, 5 ,6.	57
Tabla 28. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de aminas M2, M3 M4.	57
Tabla 29. Análisis de Tukey en el consumo de aminas M2, M3, M4.	57
Tabla 30. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de aminas Cepa 1, 2, 3.	58
Tabla 31. Análisis de Tukey en el consumo de aminas Cepa 1, 2, 3.	58
Tabla 32. Análisis de varianza ANOVA en el aminas Cepa 4, 5 ,6.	59
Tabla 33. Análisis de Tukey en el consumo de aminas Cepa 4, 5 ,6.	59
Tabla 34. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de carbón-fosfato M2, M3 M4.	60
Tabla 35. Análisis de Tukey en el consumo de carbón-fosfato M2, M3, M4.	60
Tabla 36. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de carbón-fosfato Cepa 1, 2, 3.	60
Tabla 37. Análisis de Tukey en el consumo de carbón-fosfato Cepa 1, 2, 3.	61
Tabla 38. Análisis de varianza ANOVA en el carbón-fosfato Cepa 4, 5 ,6.	61
Tabla 39. Análisis de Tukey en el consumo de carbón-fosfato Cepa 4, 5 ,6.	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de los puntos de muestreo en la laguna de Yahuarcocha.....	10
Figura 2. Valores iniciales de pH y temperatura de las muestras de agua recolectadas en la laguna de Yahuarcocha	19
Figura 3. Concentración de Nitratos y Fosfatos medidos inicialmente en los seis puntos de muestreo de la laguna de Yahuarcocha.	20
Figura 4. Consumo de Fuentes complejas de carbono a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. AWCD (Average Well Color Development).	22
Figura 5. Consumo de aminoácidos a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. AWCD (Average Well Color Development).	23
Figura 6. Consumo de Carbohidratos a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. AWCD (Average Well Color Development).	24
Figura 7. Consumo de Ácidos carboxílicos a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. AWCD (Average Well Color Development)	25
Figura 8. Consumo de Aminas a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. AWCD (Average Well Color Development).	26
Figura 9. Consumo de Carbón-Fosfato a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. AWCD (Average Well Color Development).	27
Figura 10. Comparación de niveles de concentración de nitratos antes y después del tratamiento.....	28
Figura 11. Comparación de niveles de concentración de fosfatos antes y después del tratamiento	29

UNIVERSIDAD TÉCNOLÓGICA INDOAMÉRICA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MEDIO AMBIENTE
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIODIVERSIDAD Y RECURSOS GENÉTICOS

**TEMA: EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DE NUTRIENTES MEDIADA
POR MICROORGANISMOS EN LA LAGUNA EUTROFIZADA DE YAHUARCOCHA**

AUTOR: Cinthia Paulina Chávez Moran

TUTOR: Ing. Jean Carlo Andrade Tobar MSc.

RESUMEN

La eutrofización de cuerpos de agua dulce, como la laguna de Yahuarcocha en Ecuador, constituye un problema ambiental y ecológico debido al exceso de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo. Esta condición desencadena un desbalance ecológico, exacerbado principalmente por las actividades antropogénicas, el crecimiento excesivo de algas y la disminución del oxígeno disuelto, lo cual afecta negativamente a la biodiversidad y a los diferentes usos del agua, tanto económicos como sociales. En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la biodegradación de nutrientes mediante ensayos de laboratorio con microorganismos provenientes del suelo de un humedal Ramsar del Ecuador conocido como isla Santay, región caracterizada por su alta biodiversidad. Los ensayos consistieron en aislar y cultivar microorganismos específicos bajo condiciones controladas para determinar su capacidad de reducir las concentraciones de nitratos y fosfatos en muestras de agua de la laguna. Se realizaron mediciones iniciales y finales de estos nutrientes utilizando métodos estandarizados de espectrofotometría. Tras la aplicación del tratamiento se evidenció una disminución del 32% en nitratos y del 90% en fosfatos. Estos resultados permitieron observar el potencial de estos microorganismos para actuar como agentes de biorremediación. Como parte del estudio, se enfatizó la importancia de las soluciones basadas en la naturaleza como estrategia sostenible para mitigar problemas como la eutrofización, pues estas propuestas consideran no solo la reducción de contaminantes, sino también la restauración integral de los ecosistemas afectados. Los hallazgos destacan la relevancia de integrar métodos biológicos en la gestión ambiental, constituyendo a la conservación de los recursos hídricos y la sostenibilidad ambiental, lo cual podría permitir abordar de manera eficiente problemas similares, adaptándose a diferentes contextos locales.

Palabras clave: Biorremediación; Eutrofización; Microbiología ambiental, Sostenibilidad; Soluciones basadas en la naturaleza.

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA INDOAMÉRICA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MEDIO AMBIENTE
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIODIVERSIDAD Y RECURSOS GENÉTICOS

**THEME: EVALUATION OF MICROORGANISM-MEDIATED NUTRIENT
BIODEGRADATION IN THE EUTROPHIC YAHUARCOCHA LAGOON**

AUTOR: Cinthia Paulina Chávez Moran

TUTOR: Ing. Jean Carlo Andrade Tobar MSc.

ABSTRACT

Eutrophication of freshwater bodies, such as Yahuarcocha Lagoon in Ecuador, represents a significant environmental and ecological issue due to excessive nutrient levels, primarily nitrogen and phosphorus. This condition triggers an ecological imbalance, exacerbated by anthropogenic activities, excessive algal growth, and reduced dissolved oxygen, which negatively impacts biodiversity and various economic and social water uses. In this context, the present study aimed to evaluate nutrient biodegradation through laboratory experiments using microorganisms from the soil of a Ramsar wetland in Ecuador known as Isla Santay, a region characterized by its high biodiversity. The experiments involved isolating and cultivating specific microorganisms under controlled conditions to determine their ability to reduce nitrate and phosphate concentrations in water samples from the lagoon. Initial and final measurements of these nutrients were conducted using standardized spectrophotometric methods. After applying the treatment, a 32% reduction in nitrates and a 90% reduction in phosphates were observed. These results demonstrated the potential of these microorganisms as bioremediation agents. As part of the study, emphasis was placed on the importance of Nature-Based Solutions as a sustainable strategy to mitigate problems such as eutrophication, as these approaches address not only pollutant reduction but also the integral restoration of affected ecosystems. The findings highlight the relevance of integrating biological methods into environmental management, contributing to the conservation of water resources and environmental sustainability. This approach could efficiently address similar problems, adapting to various local contexts.

Keywords: Bioremediation; Eutrophication; Environmental Microbiology; Sustainability; Nature-Based Solutions.

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

La eutrofización es uno de los problemas ambientales más extendidos a nivel global. Es un proceso natural en el que los cuerpos de agua reciben nutrientes, provenientes de la escorrentía superficial, la descomposición de materia orgánica, la lluvia y la erosión de suelos y rocas. Estos aportes contienen nitrógeno y fósforo, provocando un aumento gradual en la producción de algas y plantas acuáticas, siendo parte del ciclo de envejecimiento de lagos y lagunas, que puede durar miles de años (Moreno et al., 2010). Sin embargo, este proceso se ha visto agravado por las actividades humanas, como la agricultura intensiva, el uso excesivo de fertilizantes y la mala gestión de aguas residuales, lo cual ha acelerado significativamente su ritmo (Laughinghouse et al., 2022). La introducción masiva de estos nutrientes afecta tanto a los ecosistemas de agua dulce como marinos, desencadenando un enriquecimiento excesivo que resulta en el crecimiento descontrolado de algas y cianobacterias (Chislock et al., 2013).

Las actividades humanas han aumentado el deterioro de los ecosistemas acuáticos, provocando la pérdida de biodiversidad y la alteración de las funciones ecológicas en innumerables regiones del mundo (Sheikholeslami y Hall, 2023). Un ejemplo es el lago Datong en China, que ha sufrido graves problemas de eutrofización a causa de la agricultura y la urbanización. Para mitigar este problema, se implementó un método de biomanipulación (Chao et al., 2022), considerando la vegetación acuática y el control de peces, para reducir la biomasa de algas, e implementar sistemas de tratamiento naturales para controlar la entrada de nutrientes al lago; lo cual, demostró ser eficaz en la mejora de la calidad del agua de este ecosistema (Zhu et al., 2020).

Asimismo, el lago Titicaca ubicado entre Perú y Bolivia enfrenta problemas de eutrofización causado por actividades humanas como la agricultura, crecimiento urbano y por descargas informales de aguas residuales (Heredia et al., 2022). Las autoridades y organizaciones locales han implementado diversas estrategias para mitigar la eutrofización, como plantas de tratamiento de aguas residuales y proyectos de saneamiento. Aunque estos esfuerzos han mejorado la calidad del agua en algunas áreas, los desafíos persisten debido a la magnitud del problema y la falta de infraestructura adecuada en toda la región (Duwig et al., 2014). Esto sumado a la necesidad de una inversión económica fuerte que representa el instalamiento de plantas de tratamiento y diversos proyectos de gestión de residuos.

Para restaurar ecosistemas afectados por la eutrofización, se pueden emplear diversos métodos, entre los cuales se destaca la biorremediación. Este proceso incluye técnicas como la bioaumentación, que consiste en introducir microorganismos específicos, que no están presentes en el ecosistema, para degradar contaminantes o consumir nutrientes en exceso (Goswami et al., 2018), la bioestimulación consiste en añadir nutrientes o condiciones específicas que favorezcan el crecimiento de microorganismos nativos que ya están presentes y que son capaces de reducir la eutrofización (Benites y Méndez, 2023) y la fitorremediación se basa en el uso de plantas y sus microorganismos asociados para la mejora funcional y recuperación de ecosistemas contaminados (Marrero et al., 2012). Este conjunto de técnicas consiste en utilizar organismos vivos que tienen la capacidad de degradar, retener, volatilizar o transformar contaminantes presentes en los ecosistemas y de esta manera contribuyen a la recuperación del equilibrio ecológico de los ambientes deteriorados (Cañón, 2022). En particular, las bacterias son efectivas en reducir significativamente los niveles de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, dada su alta adaptabilidad y capacidad de utilizarlos como donadores de electrones en sus diferentes procesos

metabólicos. Al utilizar estos nutrientes, las bacterias ayudan a controlar la proliferación de algas y a mejorar la calidad del agua, lo cual es esencial para mantener la salud de los ecosistemas acuáticos (Zhu et al., 2020).

Los microorganismos bacterianos logran reducir la eutrofización a través de procesos como la desnitrificación. En el ciclo del nitrógeno, las bacterias desnitrificadoras juegan un papel crucial al convertir nitratos (NO_3^-) en gas nitrógeno (N^2) mediante un proceso anaeróbico, liberando este gas de vuelta a la atmósfera y ayudando a reducir la acumulación de nutrientes en los ecosistemas acuáticos (García et al., 2020). Este proceso no solo ayuda a evitar la eutrofización, sino que también le permite obtener energía a través de la respiración anaeróbica. Durante el ciclo del fósforo, bacterias y algas asimilan fosfatos y otros compuestos de fósforo para construir moléculas esenciales como ATP y fosfolípidos, necesarios para sus funciones metabólicas y de crecimiento (Muñoz et al., 2022). Al utilizar estos sustratos para su metabolismo, tanto las bacterias desnitrificantes como las que participan en el ciclo del fósforo aprovechan estas moléculas ricas en energía para sus procesos anabólicos, de organismos dañinos como las cianobacterias.

Dionisi et al. (2012) menciona que la bioprospección de microorganismos es el proceso de búsqueda y utilización de microorganismos provenientes de diversos ambientes, para identificar genes, proteínas o compuestos utilizados para las empresas biotecnológicas. Este proceso ha cobrado importancia con el avance de la ingeniería genética y se caracteriza por la búsqueda de recursos genéticos valioso a partir de la biodiversidad microbiana (Pérez y Ortiz, 2022; Quispe y Valderrama, 2024). Bunce et al., (2018) mencionan que, la selección de microorganismos para la mitigación de la eutrofización debe basarse en su eficacia para degradar los nutrientes clave y su capacidad para adaptarse al entorno específico del cuerpo de agua. Los criterios incluyen la capacidad de los microorganismos para proliferar en las condiciones específicas del agua, su

eficacia en la desnitrificación y fosfato-remoción, y su comparabilidad con otras formas de vida acuática. Existen varios estudios en los cuales se han evaluado microorganismos que se adaptan a la degradación de nutrientes, realizando ensayos en medios de cultivo para seleccionar cepas de bacterias desnitrificantes o cianobacterias que asimilan el fósforo (Xie et al., 2024). Según Riofrío (2023), el enfoque de bioprospección en la Isla Santay, Guayaquil, consistió en identificar microorganismos autóctonos asociados a la rizosfera de la palma *Roystonea oleracea* y evaluar su capacidad para tolerar y degradar hidrocarburos mediante pruebas metabólicas y moleculares.

Un estudio evaluó el efecto de las técnicas de bioestimulación y bioaumentación utilizando microorganismos como *Pseudomonas* spp, *Chlorella* spp y *Bacillus* spp en la remoción de contaminantes en aguas del puerto de lanchas de Isla de Toas (lago de Maracaibo, Venezuela) y los resultados mostraron que la bioaumentación fue más efectiva, logrando una remoción de materia orgánica del 99,8%, y nitratos en un 66,7%. La bioestimulación también mostró eficacia, pero con resultados menos destacados (Alburgue et al., 2016). En otro estudio se evaluó el uso de bacterias para biodegradar nutrientes ligados a la eutrofización. Se prepararon medios de cultivo específicos para cultivar microorganismos seleccionados capaces de degradar nutrientes como nitratos y fosfatos. El resultado fue considerable ya que hubo una disminución significativa de 25%-35% en los niveles de nitratos y fosfatos en zonas tratadas con estos consorcios (Yang et al., 2020).

Este trabajo también se enfoca en proponer soluciones basadas en la naturaleza, un conjunto de acciones o estrategias que aprovechan los procesos naturales para abordar desafíos ambientales y sociales. De acuerdo con un informe del Ministerio para la Transición Ecológica de España, estas soluciones incluyen la restauración de humedales, la revegetación de riberas y la implementación de prácticas agrícolas sostenibles para reducir la contaminación por nitratos y

fosforo (CENEAM, s.f.). Estas acciones no solo mejoran la calidad del agua, sino que también incrementan la resiliencia de los ecosistemas y proporciona beneficios adicionales, como la conservación de biodiversidad y la mitigación del cambio climático. En este contexto, el presente estudio busca evaluar la bioaumentación como una posible solución para la remediación ambiental de un ecosistema lacustre eutrofizado.

La laguna de Yahuarcocha, ubicada en la provincia de Imbabura al norte del Ecuador, es de gran importancia ecológica y socioeconómica para la región. Esta comenzó a mostrar signos de eutrofización a partir de la década de 1980, coincidiendo con la construcción de la carretera alrededor de la laguna como parte de un proyecto de desarrollo urbano y turístico Guerra et al., (2023). Esto añadido a otras actividades antropogénicas, ha contribuido significativamente a la eutrofización del ecosistema y ha facilitado la acumulación excesiva de nutrientes en el agua. Entre las principales fuentes de contaminación se describen las descargas de aguas domésticas, agrícolas e industriales, fertilizantes, residuos de pastoreo de ganado y desechos sólidos. Dichas fuentes se han intensificado con el tiempo y han acelerado el proceso de eutrofización en los últimos años (Hernández et al., 2022). La eutrofización representa un problema ambiental y socioeconómico para la laguna de Yahuarcocha (Méndez, 2022). La proliferación excesiva de algas ha provocado una disminución significativa del oxígeno disuelto en el agua, deteriorando la salud del ecosistema y reduciendo las poblaciones de peces y aves acuáticas, así como degradando el paisaje natural (Quijije, 2022). Este deterioro no solo afecta la biodiversidad local, sino que también reduce el valor recreativo y turístico de la laguna, subrayando la necesidad de soluciones efectivas para su restauración y conservación.

Así también en la investigación realizada por Astudillo (2018) se identificó la necesidad de estudiar la interacción entre consumidores y productores en la laguna de Yahuarcocha,

enfocándose en el pastoreo del mesozooplankton sobre el fitoplancton como técnica de biomanipulación con el objetivo de mejorar la calidad del agua y controlar el crecimiento excesivo de fitoplancton. Los resultados fueron regulares, aunque se observaron algunas disminuciones en los niveles de clorofila (indicador de biomasa algal) en ciertos tratamientos, la mayoría de los bioensayos no fueron efectivos en controlar el fitoplancton de manera efectiva. Se propuso seguir realizando bioensayos para desarrollar una estrategia de biomanipulación que considere la dinámica biótica del lago y mejore la calidad del agua. Esto brinda una oportunidad de investigación para el presente proyecto, dada la relevancia del estudio y el método propuesto.

Es importante mencionar que no se han reportado iniciativas de bioaumentación y/o bioestimulación en la laguna de Yahuarcocha para combatir la eutrofización, lo cual podría ser una opción viable para proponer medidas alternativas de tratamiento a este ecosistema lacustre. Las principales estrategias se han centrado en métodos más convencionales como la instalación de aireadores para aumentar los niveles de oxígeno en el agua y equipos de ultrasonido para controlar las poblaciones de microorganismos como las microalgas y cianobacterias, estos equipos trabajan con ondas ultras que rompen las vacuolas de gas presentes en estos microorganismos, evitando que estas se encuentren en la superficie y realicen procesos de fotosíntesis. También se han llevado a cabo campañas de limpieza para eliminar la acumulación de desechos sólidos, y se ha trabajado en la concientización de la comunidad sobre la reducción de contaminantes que ingresan a la laguna (MAATE, 2021; El NORTE, 2024; Farinango, 2023).

En Yahuarcocha, la implementación de microorganismos específicos podría contribuir a restaurar el equilibrio ecológico de la laguna, mejorando tanto la biodiversidad y salud ambiental, así como también la resiliencia de este ante futuras perturbaciones. Además, el uso de soluciones biológicas como la bioaumentación con microorganismos en lagunas eutrofizadas, se alinean con

los principios de sostenibilidad al promover un enfoque natural y de bajo impacto para la recuperación de cuerpos de agua. Estas técnicas no solo buscan mitigar los efectos nocivos de la contaminación por nutrientes, sino que también regeneran los ecosistemas acuáticos sin recurrir a químicos agresivos o métodos artificiales que pueden afectar el equilibrio ambiental (CGE, 2021).

1.1. OBJETIVOS:

1.1.1. Objetivo general:

- Evaluar la capacidad de biodegradación de los nutrientes nitrógeno y fósforo en un ecosistema eutrofizado mediante ensayos de laboratorio con microorganismos para proponer soluciones basadas en la naturaleza.

1.1.2. Objetivos específicos:

- Identificar las actividades de impacto ambiental y el área de estudio en la laguna de Yahuarcocha.
- Analizar in vitro la concentración de nitratos y fosfatos en las muestras de agua antes y después de aplicar un tratamiento de bioaumentación.
- Proponer recomendaciones de soluciones basadas en la naturaleza en base a los resultados obtenidos.

CAPITULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo de investigación

El presente estudio combinó investigaciones de campo y de laboratorio. Este enfoque se eligió porque las muestras de agua se recolectaron tanto de la laguna de Yahuarcocha como

muestras de suelo de un área protegida, para ser posteriormente analizadas en el laboratorio de la PUCE Ibarra.

El nivel de conocimiento de la investigación fue descriptivo, ya que se evaluaron y describieron las capacidades de los microorganismos en términos de su eficacia para degradar nutrientes y su potencial para ser utilizados en técnicas de biorremediación de ecosistemas acuáticos eutrofizados.

2.2. Diseño de investigación

La investigación es experimental dado que se aislaron microorganismos por medio de cultivos para luego escoger los más resistentes y después analizar el crecimiento microbiano para evaluar su capacidad de biodegradación de nutrientes de la laguna de Yahuarcocha.

2.3. Área de estudio

La laguna de Yahuarcocha, situada en la provincia de Imbabura, Ecuador, se encuentra a una latitud de 0°22'23"N y una longitud de 78°06'02"O, a una altitud de 2190 msnm. Con una superficie de 2.62 km², esta laguna contiene aproximadamente 12.7 millones de metros cúbicos de agua. La temperatura del agua en la laguna ronda los 14°C, y su profundidad promedio es de alrededor de siete metros.

2.4. Muestreo

Se empleó un método de muestreo direccionado, considerando la proximidad a diversas actividades con impacto ambiental negativo en los alrededores de la laguna. Las coordenadas de los puntos de muestreo se presentan en la **Tabla 1**. Durante el proceso, se realizaron registros visuales de las actividades humanas observadas en el entorno. Para ello, se utilizó una embarcación

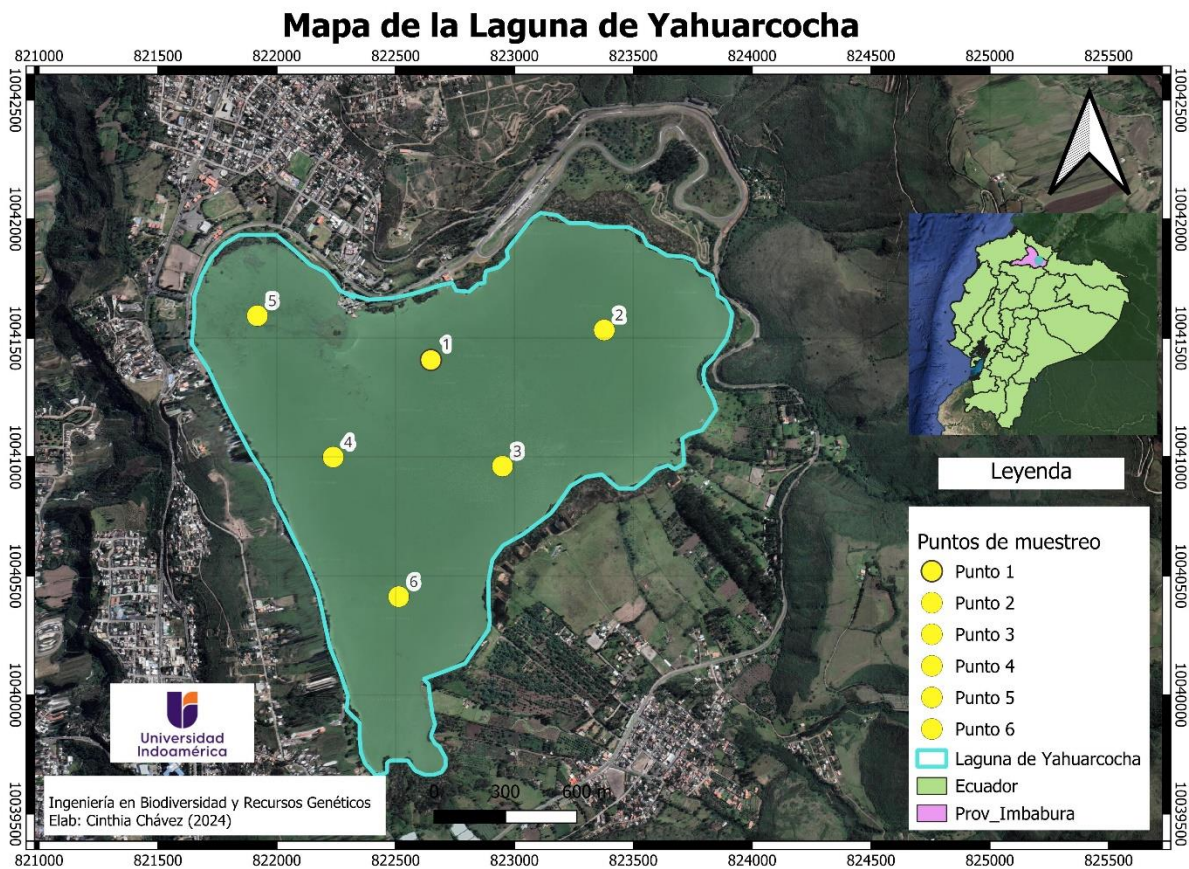
y un GPS Garmin® para registrar las coordenadas de cada punto, siguiendo la metodología de Méndez (2022). En total, se seleccionaron seis puntos de muestreo con base en estos criterios.

Tabla 1. *Coordenadas de los puntos de muestreo y actividades observadas alrededor de la laguna Yahuarcocha.*

Puntos de muestreo	Coordenadas X	Coordenadas Y	Puntos de Interés	Posibles impactos
Punto 01	0822651E	0041405N	-Muelle -Estación de bomberos -Autódromo	Contaminación por aceites y combustibles, alteración del entorno
Punto 02	0822968E	0041820N	-Fincas, hoteles y hosterías - Sectores turísticos, miradores.	Uso de fertilizantes, acumulación de desechos sólidos y plásticos
Punto 03	0823103E	0040898N	-Actividades agropecuarias -Población -Actividades turísticas y recreativas	Generación de desechos sólidos, uso de fertilizantes
Punto 04	0822462E	0039864N	-Actividades recreativas, pesca, pastoreo de ganado (excremento), -Vertimiento de aguas residuales	Contaminación por aguas residuales y materia orgánica
Punto 05	0821722E	0041655N	-Población activa, -Actividades domésticas	Vertimientos de aguas residuales, aumento de carga de nutrientes en la laguna
Punto 06	0822833E	0040340N	-Construcción de reservorio, -Invernaderos Zona agrícola	-Alteración del flujo hídrico, generación de desechos adicionales, posible impacto en la dinámica hídrica

La ubicación de estos puntos se correlacionó también con un análisis geoespacial rápido generado mediante el sistema de información geográfica Quantum Gis versión 3.38.0 (Ver *Figura 1*). Las muestras se recolectaron conforme la normativa NTE INEN 2176:2013 que establece directrices para el manejo y técnicas de muestreo.

Figura 1. Ubicación de los puntos de muestreo en la laguna de Yahuarcocha



Nota: Los puntos de color amarillo indican las localizaciones específicas donde se recolectaron las muestras de agua.

2.5. Recolección de muestras de agua

Las muestras de agua se recolectaron en los seis puntos seleccionados, con dos repeticiones por cada punto, resultando en un total de 12 muestras. La recolección se realizó en botellas estériles de 500 ml. Las muestras se tomaron a una profundidad uniforme (de 0,5 a 1 metro bajo la

superficie) para garantizar la representatividad de los datos (Van Colen et al., 2017). Después, las botellas se rotularon debidamente para mantener la cadena de custodia que establece la normativa NTE INEN 2169:2013 de técnicas y precaución de conservar y transportar las muestras de agua. Finalmente, las muestras se transportaron inmediatamente a 4°C mediante un cooler al laboratorio para su respectivo análisis.

2.6. Condiciones de trabajo y procedimientos microbiológicos

Los ensayos se realizaron en los laboratorios especializados en calidad de aguas y biotecnología de la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales de la PUCE Ibarra. El uso de estos espacios garantizó un entorno adecuado para la correcta implementación de los experimentos, asegurando que los resultados sean replicables y puedan contribuir a la mejora de estrategias de manejo en ecosistemas eutrofizados a nivel local y regional.

En todos los procedimientos microbiológicos se emplearon técnicas de asepsia. El trabajo se realizó dentro del rango de calor generado por la llama de un mechero Bunsen para minimizar la contaminación ambiental. Se desinfectaron las manos y las superficies de trabajo con alcohol, y se utilizaron guantes y mascarilla como medidas adicionales de protección. Asimismo, se evitó la exposición a corrientes de aire para prevenir cualquier posible contaminación externa.

2.7. Medición de iones

Previo a realizar los análisis de los iones, se procedió mediante un potenciómetro LAQUA® para evaluar el pH y la temperatura de las muestras recolectadas.

Para la medición de iones nitrato y fosfato, se utilizó un espectrofotómetro Merck® Millipore. Los protocolos del fabricante incluyen instrucciones detalladas para la preparación de reactivos y muestras, garantizando precisión y confiabilidad en la detección de estos nutrientes.

Dichos procedimientos pueden consultarse en los sitios web oficiales del fabricante (Hach Company, 2019; Hach Company, 2017).

Nitratos NO_3^-

Se prepararon 12 tubos de ensayo, a cada uno de los cuales se les añadieron 10 ml de las muestras de agua que se recolectó en la laguna. Es decir, cada muestra a cada tubo de ensayo. También se añadió un paquete de reactivo Nitriver® 5. Los tubos se agitaron suavemente durante un minuto y se dejaron reposar durante 5 minutos para permitir la reacción. Posteriormente, la dilución de cada tubo se trasvasó a los frascos correspondientes del kit, los cuales fueron colocados en la celda del espectrofotómetro para realizar las mediciones y posteriormente los valores obtenidos fueron registrados para su análisis.

Fosfatos PO_4^{3-}

Conforme al protocolo establecido del fabricante, se procedió a agregar 5ml de muestras de agua que se recolectó en la laguna en 12 tubos de ensayo que contenían reactivo PO_4^{3-} . A cada tubo se añadió un paquete de persulfato de potasio en polvo, y posteriormente, los tubos fueron colocados en un termorreactor a 150°C durante 30 minutos. Una vez finalizado el tiempo de reacción, los tubos fueron retirados del termorreactor y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Luego, se añadieron 2 ml de NaOH 1,54N a cada tubo, los cuales se agitaron cuidadosamente. Posteriormente, se incorporaron 0.5 ml de reactivo de molibdo vanadato a cada tubo. Finalmente, los tubos fueron colocados en la celda del espectrofotómetro para realizar las mediciones correspondientes.

Una vez que se midió las concentraciones de nitratos y fosfatos en las 12 muestras (dos repeticiones de cada uno de los seis puntos de muestreo), los valores mostraron cierta variabilidad.

Por esta razón, se promediaron los datos obtenidos para cada nutriente, lo que facilitó la representación gráfica y permitió una visualización más clara de las tendencias.

2.8. Obtención de muestras de suelo de la Isla Santay

Las muestras de suelo utilizadas en este estudio fueron recolectadas en el humedal Ramsar de la isla Santay, en Guayaquil, como parte de la investigación realizada por Riofrío (2023). En dicho estudio, se tomaron muestras de suelo cerca de las palmas reales, donde el contenido de materia orgánica es alto debido al residuo vegetal circundante. Se encontró que los microorganismos presentes en esas muestras mostraron un notable potencial como biorremediadores, demostrando crecimiento significativo en medios contaminados con hidrocarburos e incluso la capacidad de generar biosurfactantes.

2.9. Preparación de muestra de suelo de la isla Santay

Se contó con cuatro muestras de suelo de la isla Santay que se nombraron como (M1, M2, M3 y M4). Para su procedimiento se tomó una alícuota de 50 g de cada muestra y se las dejó secar en la incubadora a 100°C por 1 hora para eliminar la humedad. Una vez secas, se prepararon cuatro vasos de precipitación, sobre los cuales se colocó papel filtro. Luego, las muestras secas fueron trituradas y colocadas sobre el papel filtro. Se añadió agua destilada estéril, la cual pasó a través del filtro. El filtrado obtenido fue colectado en los vasos de precipitación, dejando las partículas gruesas atrapadas en el filtro y permitiendo obtener un líquido claro con los microorganismos presentes en las muestras.

2.10. Preparación de diluciones de los filtrados

Una vez obtenidos los cuatro filtrados de las muestras de suelo, se procedió a realizar las diluciones correspondientes. Para cada filtrado, se realizaron un total de seis diluciones en serie,

con el fin de obtener concentraciones adecuadas para el posterior aislamiento de los microorganismos. Las diluciones se prepararon utilizando soluciones estériles de 9 ml, siguiendo una metodología estándar de diluciones en serie, para asegurar una distribución uniforme de los microorganismos y facilitar su conteo en los medios de cultivo. Este proceso permitió preparar las muestras para los ensayos microbiológicos posteriores.

2.11. Preparación de caldo de cultivo y agar nutritivo

Para el análisis microbiológico se preparó Mueller Hinton Both y Mueller Hinton Agar. La preparación del caldo de cultivo se realizó disolviendo 13 g de Mueller Hinton Both en 1000 ml de agua destilada estéril, mientras que para el agar nutritivo Mueller Hinton Agar se utilizó 23 g en 1000 ml de agua destilada estéril. Todos los materiales, incluyendo cajas Petri, tubos de ensayo, agar, caldo de cultivo, puntas para pipetas y tubos con agua destiladas, fueron esterilizados en autoclave a 121°C durante 1 hora. Posteriormente, en condiciones estériles, se distribuyeron 20 ml de caldo de cultivo en 12 tubos de ensayo y 12 ml de agar nutritivo en placas Petri. Finalmente, el agar se dejó solidificar antes de continuar con el proceso experimental.

2.12. Inoculación en medios de cultivo líquido

Para el crecimiento de microorganismos en caldo de cultivo, se procedió a utilizar las primeras tres diluciones de cada una de las cuatro muestras, de las cuales se tomó 1 ml y se colocó en un tubo de caldo de cultivo, obteniendo un total de 12 tubos. Seguidamente, se almacenó los tubos en la incubadora durante 24 horas a una temperatura de 37° C.

2.13. Inoculación en medio de cultivo sólido

Para la inoculación en medio sólido, se procedió a utilizar la cuarta, quinta y sexta dilución. Se añadió con una micropipeta 1 ml de las diluciones en cada caja Petri por el método de extensión

de depósito en el centro de la placa, y se movió las placas en círculos para extender el inóculo sobre la superficie del agar.

Igualmente se obtuvo en total 12 cajas Petri inoculadas que se almacenaron en una incubadora a una temperatura de 37°C por 24 horas. Pasado este lapso se examinó el crecimiento en las cajas Petri y se buscó separar colonias en base a su morfometría y sus fenotipos; color, textura, tamaño, viscosidad, etc.

2.14. Purificación de cepas

Se utilizó técnicas de estriado en placa para separar colonias individuales y obtener cultivos puros de los microorganismos previamente identificados. Primero, se flameo el asa de siembra hasta que el filamento alcanzó un rojo incandescente, luego se abrió levemente la caja y se dejó enfriar dentro de la placa dando toques en las zonas donde no había crecimiento de microorganismos.

Luego, se procedió a tomar una porción de las colonias identificadas, se tapó la caja y brevemente se inoculo en otro medio de cultivo estéril sólido, esparciéndolo en estrías en forma de zigzag. Luego, se almacenaron en la incubadora a 37°C durante 24 horas y pasado este tiempo se guardaron en un refrigerador a 4°C para su próximo uso.

2.15. Evaluación de ecología microbiana mediante Ecoplate®

Para los ensayos de ecología microbiana se utilizó microplacas Ecoplate®, las cuales ayudan a obtener el perfil fisiológico a nivel comunitario (CLPP). Las placas contienen un total de 96 pocillos cada una, de las cuales, están divididas en tres repeticiones de 31 fuentes de carbono, cuyas categorías son 6 grupos: fuentes complejas de carbono, aminoácidos, carbohidratos, ácidos carboxílicos, aminas y carbón-fosfato.

Inicialmente, se cultivaron las primeras tres diluciones de cada muestra (M1, M2, M3 y M4) en caldo de cultivo durante 24 horas. Tras este período, se observó crecimiento en el caldo de cultivo para las muestras M2, M3 y M4, mientras que en la muestra M1 no hubo crecimiento de microorganismos. Debido a la falta de crecimiento en la muestra M1, en la primera microplaca solo se inocularon los filtrados correspondientes a las muestras M2, M3 y M4. Por otra parte, en la segunda y tercera microplaca se agregaron 6 cepas representativas del aislamiento directo de los cultivos realizados a partir de las muestras originales de las cajas Petri para su posterior análisis. Las mediciones se realizaron durante cinco días, de los cuales, se registraron los datos dentro de las siguientes horas: 24, 48, 72, 96 y 120 horas.

Para este proceso se usó un espectrofotómetro visible para microplacas de la marca BioTek modelo EPOCH y a su vez el software Gen 5 (Microplate Reader and Imager Software) para el análisis de los resultados. La longitud de onda empleada en el espectrofotómetro fue de 590 nm, para medir el desarrollo de color promedio de los pocillos por sus siglas en inglés AWDC, el cual se calcula utilizando la fórmula que se presenta en la **tabla 2**. Este indicador refleja la actividad metabólica al medir el desarrollo de color en los pocillos que contienen diferentes fuentes de carbono y permite comparar de manera estandarizada la actividad microbiana entre distintas muestras, proporcionando información sobre la diversidad funcional.

Tabla 2. *Fórmula para calcular el desarrollo de color promedio del pocillo (AWCD).*

Índice	Abreviación	Fórmula	Variables
Desarrollo de color en los pocillos de las microplacas	AWCD	$OD=C-R\Sigma OD/N$	OD: desarrollo observable C: densidad óptica de cada fuente de carbono R: densidad óptica del pocillo control N: nuero de fuentes de carbono

Nota: Adaptado de Andrade et al., (2024a).

Una vez obtenidos los resultados del ensayo Ecoplate®, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía y la prueba de TUKEY, para observar diferencias significativas entre medias de los valores. Estos análisis se llevaron a cabo utilizando el programa GraphPad Prism versión 10.4.1 (627). Tomando en cuenta el nivel de significancia del 5% y 95% de confiabilidad. Los resultados detallados del análisis estadístico empleado pueden visualizarse en la sección de Anexos, Tabla (5-40).

Para los análisis de TUKEY, se agruparon los valores con base en la similitud de las medias, lo que facilitó la visualización de las comparaciones entre sí.

2.16. Evaluación de la biodegradación con microorganismos aislados frente a nutrientes mediante ensayos de bioaumentación.

Una vez obtenidos los cultivos puros de los microorganismos aislados de las muestras del humedal Ramsar de la isla Santay, se procedió con los ensayos en laboratorio en los cuales, los microorganismos seleccionados fueron inoculados en medios específicos enriquecidos con agua eutrofizada de la laguna.

Se llevaron a cabo 12 ensayos experimentales utilizando muestras de agua recolectada de los seis puntos establecidos en la laguna de Yahuarcocha. Para ello, se emplearon 12 vasos de precipitación. En cada vaso, se añadió 8 ml de cada una de las 12 muestras, provenientes de las dos repeticiones de los seis puntos de muestreo, resultando en un volumen final aproximado de 100 ml por vaso.

Por otra parte, se procedió a centrifugar los cultivos con cepas previamente cultivadas del caldo nutritivo; una vez centrifugados, se clasificaron en dos grupos dependiendo de la cantidad de consorcio microbiano sedimentado tal como se observa en la **Tabla 3**. Esto se realizó para

determinar la dosis más efectiva de inóculo para la degradación de nitratos y fosfatos. Adicionalmente, se preparó una muestra compuesta que no tuvo inóculo para ser empleada como control.

Tabla 3. *Distribución de tratamientos y condiciones experimentales con muestras compuestas de agua eutrofizada de Yahuarcocha.*

Ensayos de bioaumentación		
#de muestra compuesta	# de cepa	Consortio microbiano inoculado
1	Cepa 1	10µl
2	Cepa 2	10µl
3	Cepa 3	10µl
4	Cepa 4	10µl
5	Cepa 5	10µl
6	Cepa 6	10µl
7	Cepa 7	20µl
8	Cepa 8	20µl
9	Cepa 9	20µl
10	Cepa 10	20µl
11	Cepa 11	20µl
12	Cepa 12	20µl
13	Control	0

Fuente: Elaboración propia

Se realizaron observaciones cada 24 horas durante un período de cinco días. Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente en condiciones iluminadas. Durante este tiempo se midieron las concentraciones de nutrientes al final del período para determinar si se produjo una reducción en comparación con las condiciones iniciales.

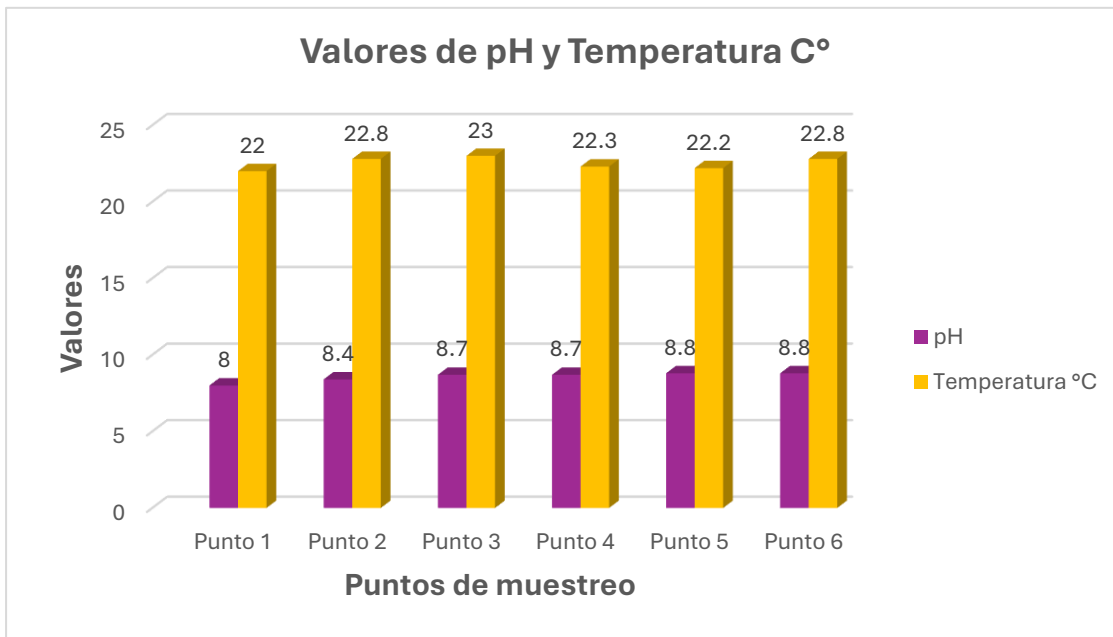
CAPITULO III

3. RESULTADOS

3.1. Parámetros fisicoquímicos de la laguna Yahuarcocha

Se realizó una evaluación inicial de pH y temperatura en los seis puntos seleccionados de la laguna de Yahuarcocha como se muestra en la **figura 2**.

Figura 2. Valores iniciales de pH y temperatura de las muestras de agua recolectadas en la laguna de Yahuarcocha

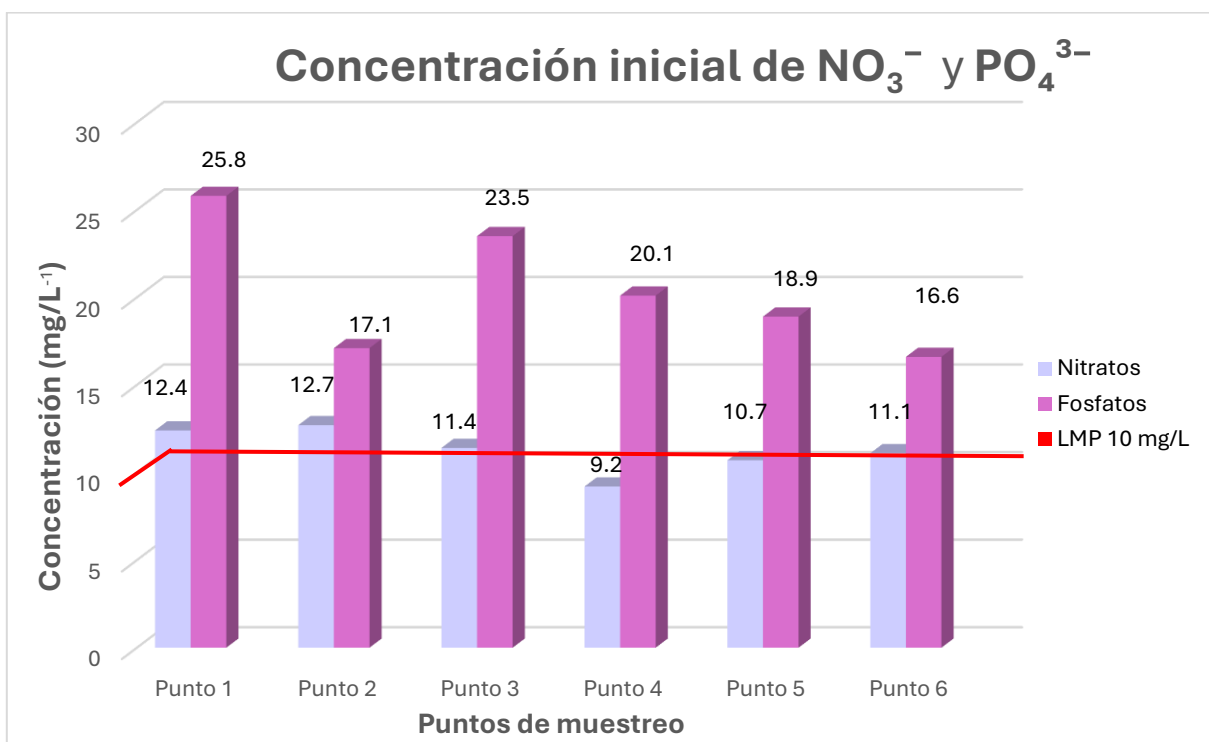


Nota: los valores de pH y temperatura en las muestras iniciales oscilaron entre 7.9 y 8.8, y de 22°C a 23°C, respectivamente, evidenciando condiciones ligeramente alcalinas y temperaturas relativamente homogéneas en la laguna.

3.2. Concentraciones iniciales de nitratos y fosfatos

Se evaluaron las concentraciones iniciales de nitratos y fosfatos (NO_3^-) y (PO_4^{3-}) en las muestras de agua recolectadas en los seis puntos de la laguna de Yahuarcocha tal como se detalla en la **Figura 3**.

Figura 3. Concentración de Nitratos y Fosfatos medidos inicialmente en los seis puntos de muestreo de la laguna de Yahuarcocha.



Según el Acuerdo ministerial 097 Anexo 1 del libro VI del texto unificado de legislación secundaria del ministerio del ambiente: Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes al recurso agua, el límite máximo permisible (LMP) se refiere al valor máximo permitido de una sustancia, contaminante o parámetro en un medio específico, como el agua, el aire, el suelo o los alimentos.

Dentro del acuerdo ministerial libro VI anexo 1, norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes al recurso agua, en su tabla 12, se puede observar los límites de

nutrientes en aguas dulces frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuarios para preservación de la vida acuática y silvestre. Donde se establece que el LMP de nutrientes como nitratos y fosfatos es de es de 10mg/L^{-1} .

Con base en los resultados obtenidos, los valores promedio de nitratos y fosfatos en los seis puntos de estudio presentaron concentraciones que en su mayoría superan el límite máximo permisible para ambos parámetros. Los nitratos muestran valores que oscilan entre $9,9\text{mg/L}^{-1}$ y $11,45\text{mg/L}^{-1}$ en cuatro de los seis puntos de muestreo, superando el límite permitido. Por otro lado, los fosfatos presentan valores más elevados, con promedios que varían entre $9,45\text{mg/L}^{-1}$ y 14mg/L^{-1} , superando el límite en cinco de los seis puntos analizados.

3.3. Características metabólicas de fuentes de carbono

Las siguientes figuras (ver figuras 5, 6, 7, 8, 9 y 10) muestran el consumo de diferentes fuentes de carbono, agrupadas en seis categorías: fuentes complejas de carbono, aminoácidos, carbohidratos, ácidos carboxílicos, aminas y carbón-fosfato. En estos gráficos se comparan los patrones de consumo entre las muestras M2, M3 y M4, así como entre seis cepas aisladas (1, 2, 3 y 4, 5, 6).

Las muestras M2, M3 y M4 corresponden a los filtrados de suelo recolectados en la isla Santay, que fueron cultivados en caldo nutritivo con el objetivo de enriquecer la población microbiana presente. Por otro lado, las cepas 1, 2, 3 y 4, 5, 6 fueron obtenidas mediante asilamiento a partir de cultivos puros de las muestras originales.

Cada fuente de carbono evaluada se presenta en tres gráficos:

Gráfico A: consumo en las muestras (M2, M3 y M4)

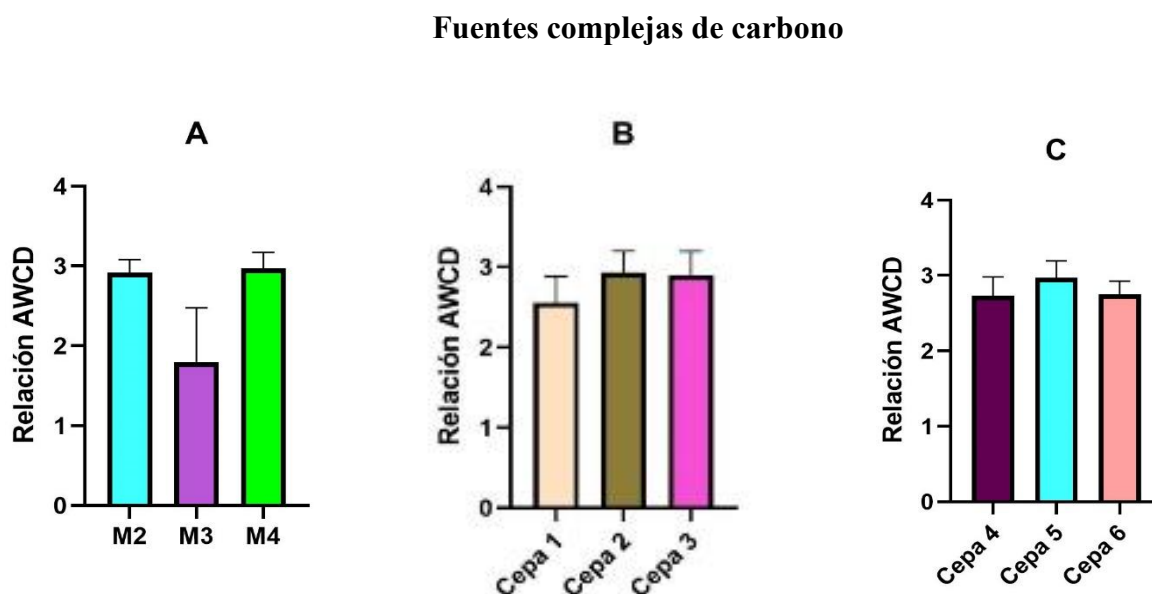
Gráfico B: consumo en las cepas 1, 2 y 3

Gráfico C: consumo en las cepas 4, 5 y 6

Los resultados corresponden a mediciones tomadas tras cinco días de incubación.

En el eje X se observan las muestras y cepas mientras que en el eje Y la relación AWCD que refleja el promedio de consumo de las muestras y cepas en relación con estas fuentes.

Figura 4. Consumo de Fuentes complejas de carbono a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. AWCD (Average Well Color Development).



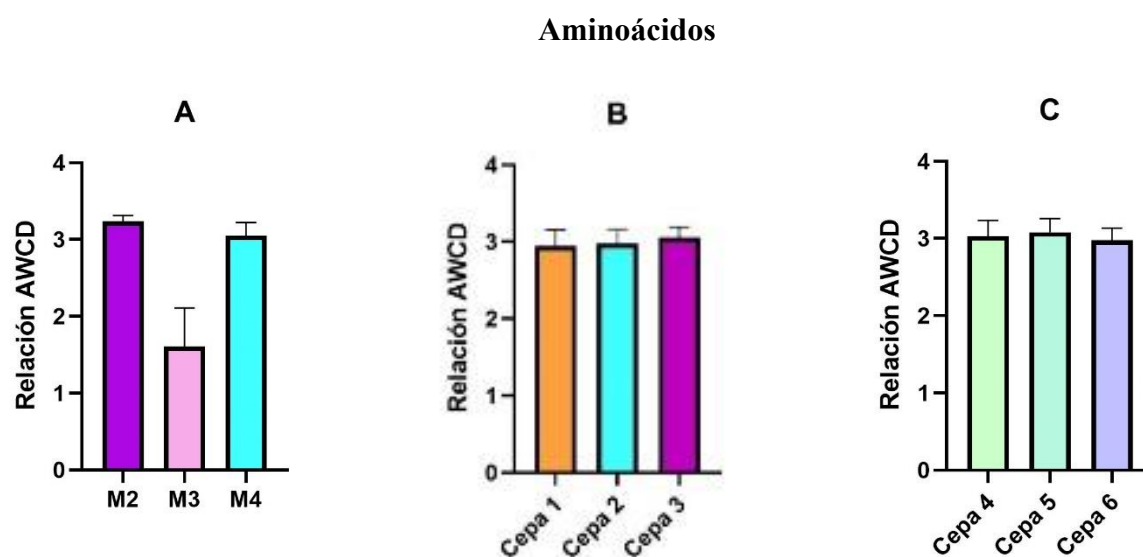
En la **figura 4**, en la gráfica A, el resultado del ANOVA mostró que hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 5) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; hay diferencias entre M2 y M3, así como M3 y M4. Sin embargo, M2 y M4 no mostraron diferencias significativas (ver Anexos, tabla 6).

El gráfico B detalla el consumo de fuentes complejas de carbono por parte de las cepas aisladas 1, 2 y 3. Los resultados del ANOVA mostraron que hay diferencias

significativas entre medias (ver Anexos, tabla 7) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; hay diferencias entre las cepas 1 y 2, así como las cepas 1 y 3. Sin embargo, entre las cepas 2 y 3 no mostraron diferencias significativas (ver Anexos, tabla 8).

Y el gráfico C, los resultados del ANOVA mostraron que hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 9) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; hay diferencias entre las cepas 4 y 5, así como las cepas 5 y 6. Sin embargo, entre las cepas 4 y 6 no mostraron diferencias significativas (ver Anexos, tabla 10).

Figura 5. Consumo de aminoácidos a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. AWCD (Average Well Color Development).

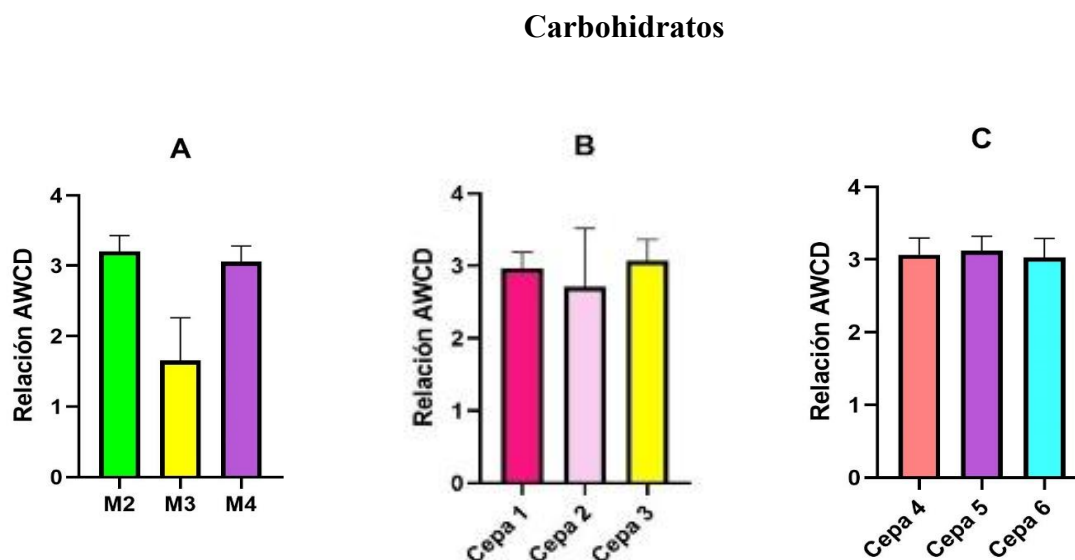


En la **figura 5**, en el gráfico A, el resultado del ANOVA mostró que hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 11) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; hay diferencias entre M2 y M3, así como M3 y M4. Sin embargo, entre M2 y M4 no se observaron diferencias significativas (ver Anexos, tabla 12).

El gráfico B detalla el consumo de aminoácidos por parte de las cepas aisladas 1, 2 y 3. Los resultados del ANOVA mostraron que no hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 13) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; no hay diferencias entre las cepas 1 y 2, así como las cepas 2 y 3. Sin embargo, entre las cepas 1 y 3 mostraron diferencias significativas (ver Anexos, tabla 14).

Y el gráfico C, los resultados del ANOVA mostraron que no hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 15) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; no hay diferencias entre cepa 4, 5 y 6 (ver Anexos, tabla 16).

Figura 6. Consumo de Carbohidratos a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. AWCD (Average Well Color Development).



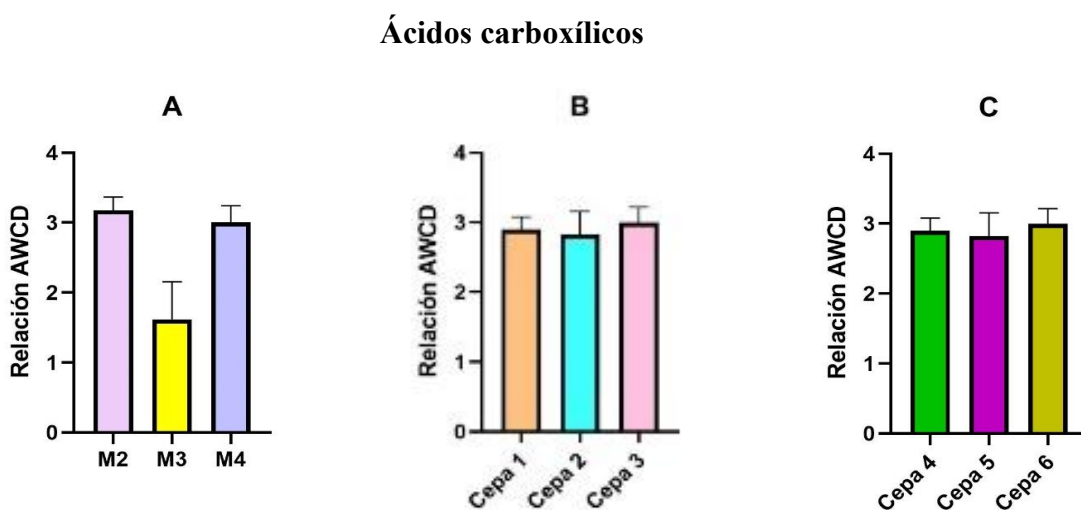
En la **figura 6**, en el gráfico A, el resultado del ANOVA mostró que hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 17) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; hay diferencia entre M2 y M3, así como M3 y M4. Sin embargo, entre M2 y M4 no mostraron diferencias significativas (ver Anexos, tabla 18).

El gráfico B detalla el consumo de carbohidratos por parte de las cepas aisladas 1, 2 y 3. Los resultados del ANOVA mostraron que hay diferencias significativas entre medias

(ver Anexos, tabla 19) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; no hay diferencias entre las cepas 1 y 2, así como las cepas 1 y 3. Sin embargo, entre las cepas 2 y 3 no mostraron diferencias significativas (ver Anexos, tabla 20).

Y el gráfico C, los resultados del ANOVA mostraron que no hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 21) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; no hay diferencias entre cepa 4, 5 y 6 (ver Anexos, tabla 22).

Figura 7. Consumo de Ácidos carboxílicos a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. AWCD (Average Well Color Development)



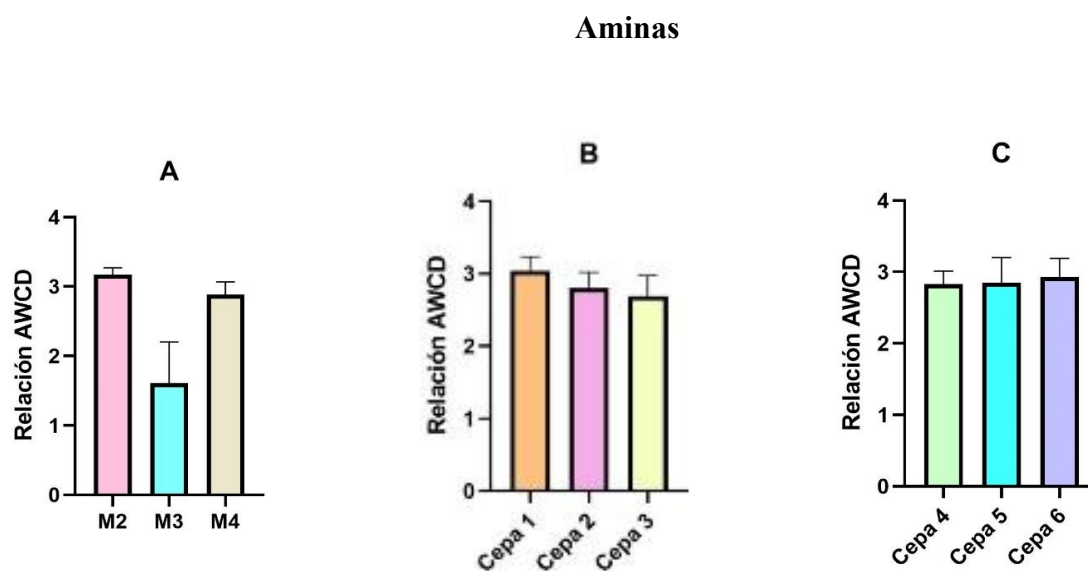
En la **figura 7**, en el gráfico A, el resultado del ANOVA mostró que hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 23) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; hay diferencias entre M2, M3 y M4 (ver Anexos, tabla 24).

El gráfico B detalla el consumo de ácidos carboxílicos por parte de las cepas aisladas 1, 2 y 3. Los resultados del ANOVA mostraron que hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 25) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; no hay diferencias

entre las cepas 1 y 2, así como las cepas 1 y 3. Sin embargo, entre las cepa 2 y 3 mostraron diferencias significativas (ver Anexos, tabla 26).

Y el gráfico C, los resultados del ANOVA mostraron que hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 27) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; no hay diferencias entre las cepas 4 y 5, así como las cepas 4 y 6. Sin embargo, entre las cepas 5 y 6 se observaron diferencias significativas (ver Anexos, tabla 28).

Figura 8. Consumo de Aminas a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. AWCD (Average Well Color Development).



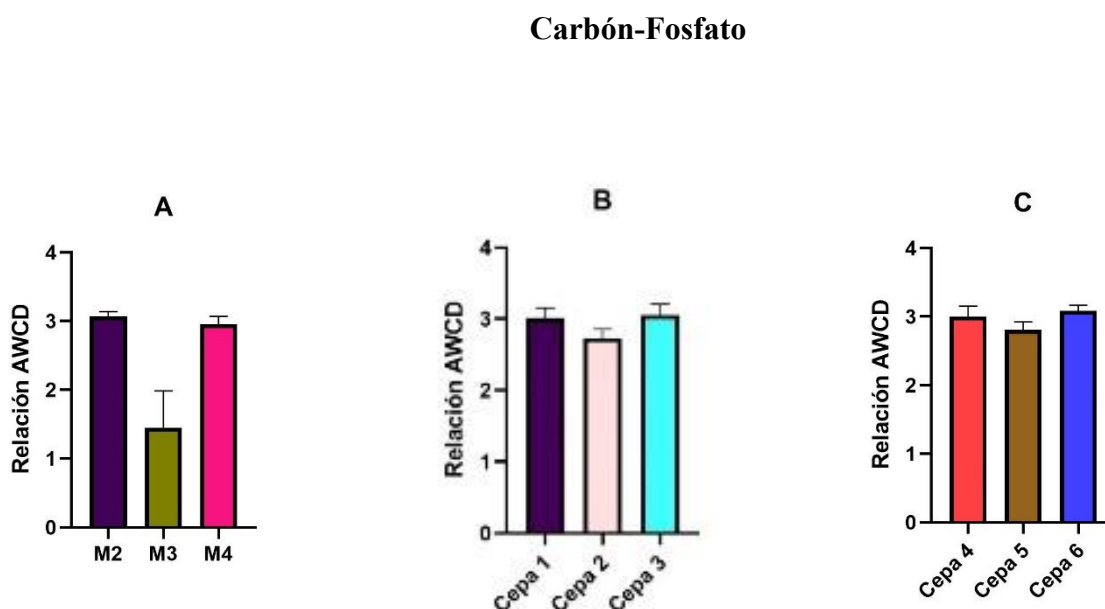
En la **figura 8**, en el gráfico A, el resultado del ANOVA mostró que hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 29) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; hay diferencias entre M2 y M3, así como M3 y M4. Sin embargo, entre M2 y M4 no se observaron diferencias significativas (ver Anexos, tabla 30).

El gráfico B detalla el consumo de aminas por parte de las cepas aisladas 1, 2 y 3. Los resultados del ANOVA mostraron que hay diferencias significativas entre medias (ver

Anexos, tabla 31) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; no hay diferencias entre las cepas 2 y 1, así como las cepas 3 y 2. Sin embargo, entre las cepas 3 y 1 mostraron diferencias significativas (ver Anexos, tabla 32).

Y el gráfico C, los resultados del ANOVA mostraron que no hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 33) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; no hay diferencias entre las cepas 4, 5 y 6 (ver Anexos, tabla 34).

Figura 9. Consumo de Carbón-Fosfato a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. AWCD (Average Well Color Development).



En la **figura 9**, en el gráfico A, el resultado del ANOVA mostró que hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 35), y el resultado de comparación de Tukey mostró que; hay diferencias entre M2 y M3, así como M3 y M4. Sin embargo, entre M2 y M4 no mostraron diferencias significativas (ver Anexos, tabla 36).

El gráfico B detalla el consumo de carbón-fosfato por parte de las cepas aisladas 1, 2 y 3. Los resultados del ANOVA mostraron que hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 37) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; hay diferencias

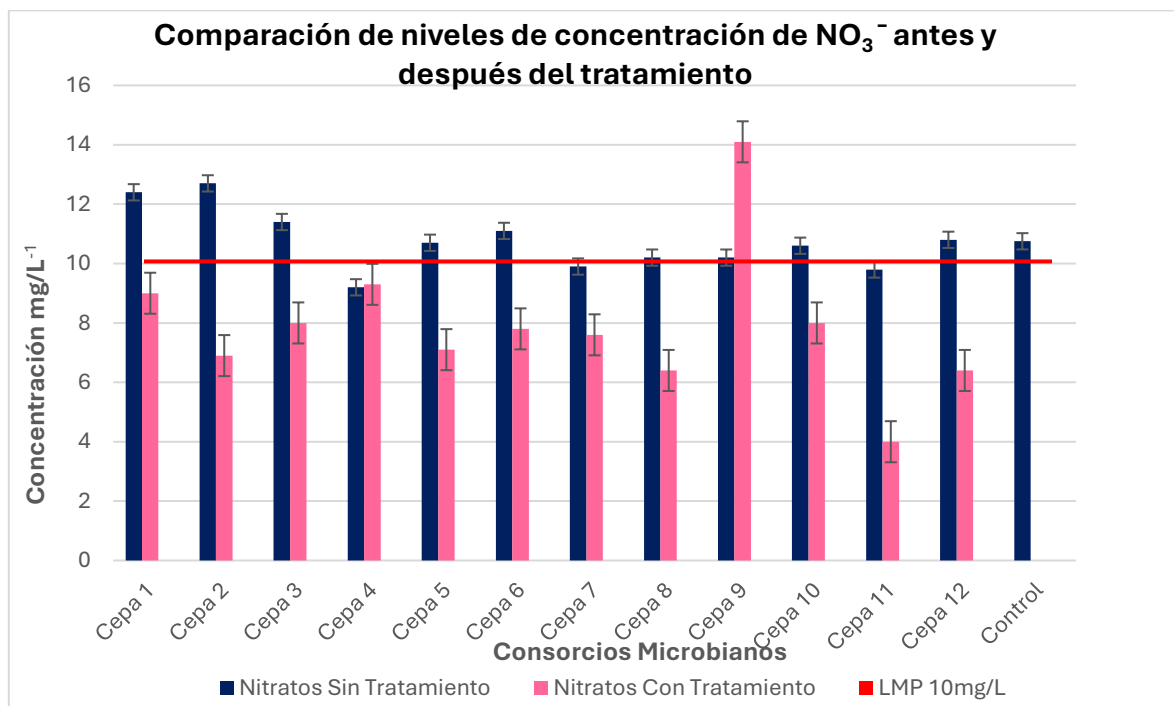
entre la cepas 1 y 2, así como las cepas 2 y 3. Sin embargo, entre las cepas 1 y 3 no se observó diferencias significativas (ver Anexos, tabla 38).

Y el gráfico C, los resultados del ANOVA mostraron que hay diferencias significativas entre medias (ver Anexos, tabla 39) y el resultado de comparación de Tukey mostró que; hay diferencias entre las cepas 4 y 5, así como las cepas 4 y 6. Sin embargo, entre las cepas 5 y 6 no se encontró diferencias significativas (ver Anexos, tabla 40).

3.4. Evaluación de biodegradación de nutrientes por microorganismos aislados mediante ensayos de bioaumentación

Transcurrido cinco días, la mayoría de las cepas lograron reducir las concentraciones de nitratos por debajo del LMP de 10mg/L^{-1} , lo que sugiere un efecto positivo de los consorcios microbianos en la reducción de nitratos del 32% (ver figura 10).

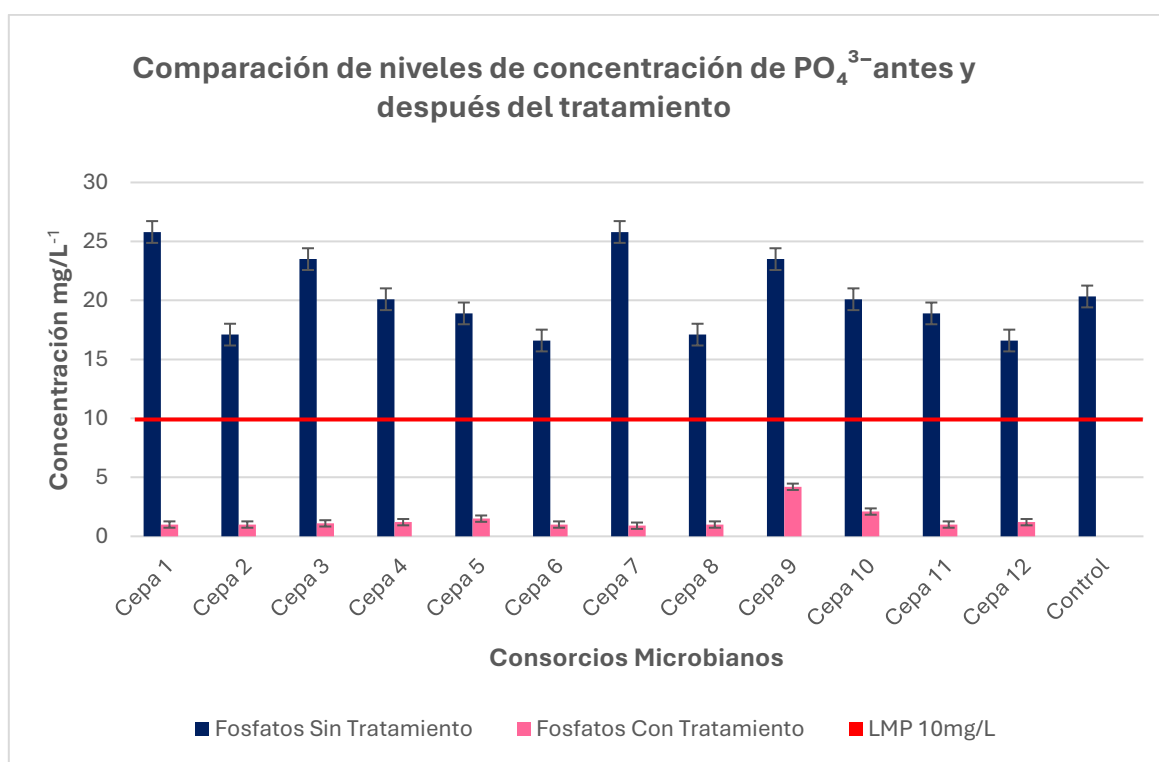
Figura 10. Comparación de niveles de concentración de nitratos antes y después del tratamiento



La cepa 9 en nitratos no tuvo el resultado esperado, pero a comparación de las otras cepas podemos ver que si existió una disminución.

En el caso de los fosfatos, la reducción es más notable, con la mayoría de las cepas, logrando concentraciones de 1 mg/L^{-1} . o menos, lo que indica una remoción de este nutriente de hasta el 90% (ver figura 11).

Figura 11. Comparación de niveles de concentración de fosfatos antes y después del tratamiento



El control no mostró cambios significativos en la concentración de nitratos o fosfatos, sugiriendo que las reducciones observadas en los demás ensayos fueron el resultado de la acción de los consorcios microbianos.

4. DISCUSIÓN

El presente estudio evaluó la degradación de nutrientes mediada por microorganismos en la laguna de Yahuarcocha, un ecosistema altoandino con problemas de eutrofización. Los resultados iniciales de los parámetros fisicoquímicos en la laguna se mantuvieron dentro de un rango ligeramente alcalino de 8 y con temperaturas relativamente homogéneas de 22-23°C. Estas condiciones suelen favorecer la proliferación de algas y cianobacterias, agravando el estado de eutrofización, tal como se ha documentado en otros estudios sobre lagos eutrofizados (Chislock et al., 2013).

En cuanto a los niveles de nitratos y fosfatos, se observó que en la mayoría de los puntos de muestreo las concentraciones iniciales superaron el límite Máximo Permisible (LMP) de 10mg/L⁻¹. para ambos nutrientes, según la normativa ecuatoriana (MAATEE, 2021). Este hallazgo confirma la presencia de una carga de nutrientes alta, atribuida principalmente a descargas de agua residuales, actividades agrícolas y urbanización, actividades antropogénicas similares a las reportadas en el lago Titicaca (Heredia et al., 2022). El estudio demostró que los niveles de nutrientes, principalmente nitratos y fosfatos, exceden los límites permitidos, lo que sugiere contaminación en la laguna de Yahuarcocha.

El uso del Ecoplate® permitió evaluar el consumo de diferentes fuentes de carbono por parte de los microorganismos. El análisis estadístico ANOVA y prueba de Tukey mostró diferencias significativas en el metabolismo de las muestras de suelo y las cepas aisladas. Se observó que M2 y M4 presentaron patrones de consumo similares en múltiples fuentes de carbono, mientras que M3 mostró diferencias en su afinidad por ciertos sustratos, lo que sugiere una composición microbiana distinta en esta muestra. En cuanto a las cepas aisladas

la cepa 5 mostró una mayor capacidad de consumo en fuentes complejas de carbono, lo que sugiere su posible rol clave en la degradación de materia orgánica.

En términos generales, las fuentes de carbono más consumidas fueron los carbohidratos, los ácidos carboxílicos y el carbón-fosfato, lo que refleja una mayor afinidad de los microorganismos evaluados hacia estos sustratos. Los carbohidratos y ácidos carboxílicos fueron ampliamente utilizados tanto por las muestras de suelo como las cepas aisladas, lo que sugiere que los microorganismos presentes tienen un metabolismo orientado a la utilización de compuestos energéticos fácilmente accesibles. Esto es consistente en estudios previos donde bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* han mostrado preferencia por estos sustratos. Por otro lado, el consumo de aminos y aminoácidos fue menor en comparación con los carbohidratos y los ácidos carboxílicos. En las muestras de suelo, esto puede estar relacionado con la disponibilidad de otras fuentes de nitrógeno en el medio o con la presencia de microorganismos especializados en la degradación de compuestos nitrogenados. En el caso de las cepas aisladas, es posible que algunas tengan menor capacidad de metabolizar estos sustratos, lo que sugiere diferencias en la funcionalidad de los microorganismos seleccionados. El consumo de carbón-fosfato mostró variabilidad tanto entre muestras de suelo como entre las cepas aisladas. Las diferencias significativas observadas sugieren que ciertos microorganismos poseen mecanismos más eficientes para la asimilación de fósforo, lo que es relevante en el contexto de la remediación de ecosistemas eutrofizados.

Estos resultados evidencian la presencia de comunidades microbianas con capacidades metabólicas diferenciadas, lo que refuerza la importancia de evaluar la diversidad funcional en estudios de bioaumentación. La preferencia por carbohidratos y

ácidos carboxílicos indica la capacidad de los microorganismos para degradar compuestos fácilmente asimilables, mientras que la variabilidad en el consumo de carbón-fosfato sugiere la necesidad de seleccionar consorcios microbianos óptimos para la biorremediación de ambientes con exceso de fósforo.

Asimismo, en el estudio Andrade et al. (2024b), se determinó que los microorganismos ubicados en las zonas más cercanas a las raíces de las palmas presentaron una mayor actividad metabólica, lo que se atribuye a la mayor disponibilidad de nutrientes en la rizosfera y las interacciones planta-microorganismos que se dan en esta zona. Esto sugiere que ciertos grupos microbianos podrían desempeñar un papel clave en la biodegradación de contaminantes, incluyendo hidrocarburos, como se menciona en el mismo estudio. Estas observaciones también son consistentes con otros estudios previos que han reportado la capacidad de microorganismos, como *Pseudomonas spp.* y *Bacillus spp.*, para degradar nutrientes mediante procesos metabólicos especializados (Alburgue et al., 2016; Zhu et al., 2020). Además, las diferencias entre las cepas y las muestras sugieren la importancia de seleccionar consorcios adaptados a las condiciones específicas del ecosistema.

Los ensayos de bioaugmentación permitieron evaluar la capacidad de los microorganismos aislados para degradar nitratos y fosfatos en agua eutrofizada de la laguna de Yahuarcocha. Los resultados mostraron una reducción promedio del 32% en las concentraciones de nitratos, alcanzando valores finales de 4mg/L^{-1} después de cinco días de tratamiento. El análisis de la gráfico de concentraciones de nitratos evidenció que la mayoría de los consorcios microbianos lograron disminuir este nutriente a niveles inferiores al Límite Máximo Permisible de 10 mg/L^{-1} . Sin embargo, se observó que la cepa 9 presentó un

comportamiento atípico, ya que, en lugar de reducir los nitratos, generó un aumento en su concentración. Este fenómeno podría explicarse por varios factores: 1) actividad nitrificante, mineralización de compuestos nitrogenados o liberación de nitratos por lisis celular, la cepa 9 pudo haber degradado materia orgánica rica en nitrógeno, liberando nitratos en el proceso en lugar de consumirlos. Por otro lado, el análisis de la gráfica de concentraciones de fosfatos mostró una reducción promedio de 90%, con valores finales de 1mg/L-1, lo que indica una alta eficiencia en la remoción de este nutriente. La disminución de fosfatos fue más pronunciada en comparación con la de nitratos, por las diferencias en los ciclos biogeoquímicos, en el ciclo del nitrógeno es más complejo y depende de múltiples transformaciones microbianas, como la amonificación, nitrificación, desnitrificación y asimilación, cada una de ellas mediada por grupos microbianos específicos, en cambio, el ciclo del fósforo es más directo, ya que no tiene una fase gaseosa como el nitrógeno, por lo que su disponibilidad en el medio es más estable y su absorción por los microorganismos es más rápida. El análisis estadístico confirmó que la reducción de nitratos y fosfatos fue estadísticamente significativa en comparación con el control, el cual mostró cambios en las concentraciones de estos nutrientes. Esto valida la eficacia de los consorcios microbianos en la biorremediación de cuerpos de agua eutrofizados. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos sobre bioaumentación en lagos eutrofizados. Investigaciones como las de Zhu et al., (2020) y Alburgue et al., (2016) han demostrado que el uso de microorganismos específicos permite una reducción eficiente de nutrientes en ecosistemas acuáticos contaminados. Asimismo, Yang et al., (2020) reportaron resultados similares en el lago Chaohu, donde la ampliación de consorcios microbianos especializados permitió disminuir significativamente la carga de nitrógeno y fósforo.

No obstante, es importante considerar que estos ensayos se realizaron en condiciones controladas de laboratorio, por lo que la eficacia de la bioaumentación podría variar en un contexto in situ, donde factores como la dinámica hidrológica y la interacción con otras especies microbianas podrían influir en los resultados.

La eficacia de los consorcios microbianos evaluados en este estudio se alinea con investigaciones previas sobre biorremediación. Por ejemplo, destacaron el potencial de microorganismos para restaurar lagos eutrofizados mediante la remoción de nutrientes, mientras que demostraron que la bioaumentación es más efectiva que la bioestimulación en la remoción de nitratos y fosfatos. Sin embargo, pocos estudios han explorado la aplicación de estas técnicas en ecosistemas altoandinos como Yahuarcocha, lo que subraya la contribución de esta investigación. La bioaumentación con consorcios microbianos no solo representa una solución efectiva, innovadora y sostenible, sino que también se alinea con los principios de sostenibilidad promovidos por la ONU en el Decenio para la Restauración de los Ecosistemas (2021-2030).

CAPITULO IV

5. CONCLUSIONES

Las actividades antropogénicas alrededor de la laguna pueden estar altamente ligadas a su contaminación, ya que contribuyen al aumento de nutrientes como nitratos y fosfatos, lo que agrava el proceso de eutrofización.

Los ensayos de bioaumentación mostraron resultados favorables para la degradación de nutrientes, nitratos con una disminución del 32% y fosfatos con el 90%, logrando una reducción significativa en condiciones de laboratorio.

Las soluciones basadas en la naturaleza, fundamentadas en los resultados de este estudio y correlacionadas con la literatura científica existente, podrían ser una alternativa viable para la descontaminación de lagos eutrofizados altoandinos como Yahuarcocha, ofreciendo un enfoque sostenible y ecológico.

6. RECOMENDACIONES

6.1. Soluciones basadas en la naturaleza

Las soluciones basadas en la naturaleza para abordar la eutrofización en la laguna de Yahuarcocha se fundamenten en los resultados obtenidos mediante los ensayos de bioaumentación realizados con consorcios microbianos. A continuación, se detallan las propuestas específicas:

Implementación de bioaumentación a escala piloto: los consorcios microbianos evaluados lograron una reducción promedio del 32% en las concentraciones de nitratos y del 90% en fosfatos. Este enfoque podría replicarse en áreas específicas de la laguna utilizando microorganismos seleccionados, como los provenientes de las cepas más eficientes. Se sugiere establecer áreas de prueba en la laguna para evaluar la efectividad de estos consorcios en condiciones *in situ* y analizar su impacto en parámetros de calidad del agua y reducción de biomasa algal. Tyagi et al., (2011) mencionan que proponer una solución mediante bioaumentación es ventajosa y tiene un enfoque más común para la biorremediación *in situ* de desahos accidentales y sitios contaminados. Pero también mencionan que la selección de cepas, la ecología microbiana, el tipo de contaminante, las limitaciones ambientales pueden conducir a su fracaso, por ello, es necesario realizar más estudios al respecto.

Diseño de biorreactores: se propone diseñar biorreactores con estos microorganismos que demostraron una capacidad para degradar nitratos y fosfatos primero a escala de laboratorio; la etapa en que se evaluara la efectividad de los microorganismos en la remoción de estos nutrientes bajo condiciones controladas, determinando los parámetros óptimos de operación, como la concentración de consorcios microbianos y el tiempo de retención hidráulica. Luego a escala piloto; una vez optimizados los biorreactores a nivel de laboratorio, se puede implementar en áreas seleccionadas de la laguna. Aquí se monitorea el rendimiento de los biorreactores en condiciones más cercanas a las del ecosistema natural, evaluando la mejora de la calidad del agua y después en caso de obtener resultados satisfactorios en la dos primeras etapas, se podrá considerar la expansión del proyecto hacia una planta de tratamiento a mayor escala. Esta planta utilizaría los biorreactores como estrategia para la remediación de la laguna, aplicando consorcios microbianos para remover los nutrientes en exceso de manera continua y sostenible, contribuyendo a la restauración ecológica de Yahuarcocha. Narciso et al., (2023) han reportado varios microorganismos como degradadores de contaminantes, por lo que diseñar biorreactores puede ser una práctica que representa una contribución ética para restaurar la salud de los ecosistemas acuáticos como menciona.

El estudio realizado por Hong et al., (2020) demostró el aislamiento exitoso de cepas con capacidad para formar biopelículas, como *Pseudomonas mendocina*. Esta cepa destacó por su alta producción de sustancias poliméricas extracelulares, las cuales desempeñaron un papel clave en la eliminación de contaminantes del agua, como el nitrógeno. Un reactor flotante de biopelículas puede diseñarse utilizando mallas o paneles plásticos que sirvan como superficies para la adhesión de microorganismos. Estos sistemas se pueden instalar en

áreas estratégicas, como cerca de los puntos de descargas de aguas residuales o en zonas específicas de la laguna, optimizando su efectividad en la remediación del agua.

Restauración de la calidad del agua mediante filtración natural: se recomienda la implementación de sistemas de filtración natural que incluya microorganismos efectivos en la reducción de nutrientes. Esto no solo mejoraría la calidad visual del agua, sino que también contribuiría a la reducción de la proliferación de fitoplancton. (Arriaga y Sanches, 2021). Un sistema de filtración naturales son los vermifiltros, una tecnología que utiliza lombrices de tierra para descomponer y filtrar materia orgánica presente en el agua. Los vermifiltros ayudan a reducir la DBO y los sólidos suspendidos en el agua, lo cual es crucial en lagos eutrofizados; (Kumar et al., 2015; Arora et al., 2014).

Implementar humedales: antes de implementar humedales en la laguna se debe realizar estudios de la cuenca hidrográfica ya que sería útil para entender las fuentes de contaminación y los flujos de agua subterránea y superficial a parte de la contaminación que existe alrededor de la laguna. Una vez realizado el estudio, diseñar humedales artificiales. La implementación de humedales depende de los contaminantes presentes en la laguna como nutrientes, sólidos suspendido y materia orgánica, después de eso de diseña el humedal que deben ocupar una fracción de la laguna, especialmente en áreas con alta concentración de contaminantes o cerca de los puntos de entrada de aguas residuales como menciona Cisterna y Pérez, (2019).

Bioestimulación de microorganismos nativos: dada la capacidad de los microorganismos autóctonos para degradar nutrientes y contaminantes, se propone enriquecer el medio ambiente de la laguna mediante la adición controlada de nutrientes específicos, como fuentes de carbono, nitrógeno o fosforo, que estimulen el crecimiento y la

actividad metabólica de estos organismos. Esta técnica conocida como bioestimulación, optimiza el desempeño de los microorganismos nativos sin alterar el equilibrio ecológico, ya que se aprovechan las poblaciones bacterianas ya adaptadas al ecosistema (Delgadillo, 2024). Esto representa una solución innovadora y ecológica para mejorar la calidad del agua.

Técnicas de biomanipulación y fitorremediación: el uso de estas técnicas representa una alternativa sostenible y eficaz para mejorar la calidad del agua y controlar las poblaciones de fitoplancton. La biomanipulación consiste en la introducción de organismos vivos, como peces, invertebrados y microorganismos, para regular las dinámicas ecológicas del ecosistema acuático. (Mendoza y Soto, 2022). Por ejemplo, la introducción de peces zooplantívoros puede ayudar a reducir el exceso de zooplancton, lo que a su vez limita el crecimiento descontrolado de fitoplancton y previene fenómenos como la eutrofización como se muestra en el estudio de Astudillo (2018). Por otro lado, la fitorremediación se basa en el uso de plantas acuáticas y semiacuáticas para eliminar, transferir, estabilizar o destruir contaminantes presentes en el agua. (Montenegro et al., 2021). Estas plantas absorben nutrientes como nitrógeno y fósforo, reduciendo su acumulación y previniendo la proliferación de algas. Además, algunas especies, como los lirios de agua y los juncos, tienen la capacidad de absorber metales pesados y otros contaminantes, contribuyendo a la descontaminación del agua de manera natural (Morales y Paucara, 2021). Estas técnicas no solo son efectivas desde el punto de vista ambiental, sino que también son económicamente viables y promueve la restauración ecológica sin el uso de químicos agresivos. Como mencionan Gómez, (2017) y Sheekh et al., (2021), la combinación de biomanipulación y fitorremediación puede ser una estrategia integral para recuperar cuerpos de agua degradados, restaurar su biodiversidad y mejorar su funcionalidad ecológica.

Adicionalmente, se recomienda contar con el apoyo de las comunidades locales, ya que su participación es esencial para mejorar la calidad del agua a través de la educación ambiental. Entre estas acciones propuestas se incluyen la organización de campañas de limpieza participativas, la instalación de contenedores en puntos estratégicos alrededor de la laguna y la reforestación con especies nativas en la microcuenca para reducir la erosión y restaurar el equilibrio ecológico. Asimismo, se sugiere establecer cercas vivas y barreras vegetales para evitar el ingreso de agroquímicos y sedimentos, junto con la implementación de programas de educación ambiental que promuevan prácticas sostenibles, como el manejo adecuado de residuos y conservación de los recursos hídricos (Aragón, 2024). Estas iniciativas, basadas en la naturaleza y la colaboración comunitaria, no solo contribuirán a la recuperación de la laguna, sino que también fortalecerán el vínculo entre comunidades y su entorno, fomentando un desarrollo sostenible y resiliente.

Implementar estrategias para reducir el impacto de actividades antropogénicas, como un mejor manejo de aguas residuales, control del uso de fertilizantes y reforestación en las zonas de influencia de la laguna.

Realizar pruebas piloto de bioaumentación en condiciones *in situ*, evaluando su efectividad en el ecosistema real y considerando factores ecológicos y ambientales que podrían influir en su éxito.

Promover la implementación de soluciones basada en la naturaleza a través de la bioaumentación, bioestimulación y fitorremediación complementadas con educación ambiental y la participación de la comunidad en la conservación de Yahuarcocha.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Albargue, D., Díaz-Borrego, L., Marín, J., & Morales, E. (2016). Efecto de la bioestimulación y bioaumentación sobre la remoción de contaminantes en agua del puerto de Isla de Toas. *Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela*, 31(3), 17-26.
- Arriaga Cruzado, P., & Sánchez Lazo, S. V. (2021). Eficiencia de un sistema de filtración en el tratamiento de efluentes para reducir los compuestos nitrogenados y fosforados de la laguna Ricuricocha, Tarapoto 2021.
- Arora, S., Rajpal, A., Bhargava, R., Pruthi, V., Bhatia, A., & Kazmi, A. A. (2014). Antibacterial and enzymatic activity of microbial community during wastewater treatment by pilot scale vermifiltration system. *Bioresource Technology*, 166, 132–141. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2014.05.041>
- Andrade, J. C., Mafla, S., Riofrío, K., Hernández, J., Tobes, I., & Lara-Basantes, C. (2024a). Hydrocarbon tolerance evaluation of the microbiota associated with the *Roystonea oleracea* palm from Santay Island (Ecuador). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1434(1), 012005. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1434/1/012005>
- Andrade, J. C., Mafla, S., Ávila, E., & Hernández, J. (2024b). Characterization of microbial communities from the rhizosphere of the royal palm (*Roystonea oleracea*) in a RAMSAR wetland in Ecuador. In S. Abiodun, A. H. Iliyasu, A. Naga Raju, & M. Maddela (Eds.), *Soil microbiome in green technology sustainability* (pp. 463-481). Springer.

- Astudillo Sánchez, J. E. (2018). *Pastoreo del mesozooplankton sobre el fitoplancton en el lago Yahuarcocha, provincia Imbabura* (Bachelor's thesis).
- Aragón Yela, S. (2024). políticas públicas para la conservación y protección de la laguna de Yahuarcocha. 13. derecho, participación, gobernanza, regímenes políticos e institucionalidad.
- Benites, A. M. J., & Méndez, J. F. R. (2023). Biorremediación de agua y suelo contaminados por residuos orgánicos de petróleo en Iquitos. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(5), 7936-7968.
- Bunce, J. T., Ndam, E., Ofiteru, I. D., Moore, A., & Graham, D. W. (2018). A review of phosphorus removal technologies and their applicability to small-scale domestic wastewater treatment systems. *Frontiers in Environmental Science*, 6, 8. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00008>
- Caballero, S. F. C. (2022). Biorremediación: un proceso eficaz para la descontaminación de ecosistemas. *Revista Neuronum*, 8(3), 47-50.
- CGE, S. (2021) Principios para la restauración de los ecosistemas como guía para el Decenio de las Naciones Unidas 2021-2030. <https://www.decadeonrestoration.org/es>
- Chao, C., Lv, T., Wang, L., Li, Y., Han, C., Yu, W., ... & Liu, C. (2022). The spatiotemporal characteristics of water quality and phytoplankton community in a shallow eutrophic lake: Implications for submerged vegetation restoration. *Science of the Total Environment*, 821, 153460.
- Chislock, M. F., Doster, E., Zitomer, R. A., & Wilson, A. E. (2013). Eutrophication: causes, consequences, and controls in aquatic ecosystems. *Nature Education*

Knowledge, 4(4),10.

<https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/eutrophication-causes-consequences-and-controls-in-aquatic-102364466/>

Cisterna Osorio, PE, & Pérez Bustamante, L. (2019). PROPOSAL FOR ARTIFICIAL WETLANDS, PROMOTERS OF BIODIVERSITY, WHICH PURIFY CONTAMINATED WATERS FOR THE RECOVERY OF URBAN LAGOONS IN CONCEPCIÓN. *Sustainable Habitat Journal*, 9 (1), 20-31.

Dionisi, H. M., Lozada, M., & Olivera, N. L. (2012). Bioprospection of marine microorganisms: biotechnological applications and methods. *Revista argentina de microbiología*, 44(1), 49-60.

Delgadillo Coronado, P. M. (2024). Efecto de la bioestimulación de consorcios microbianos en la capacidad degradativa del petróleo crudo Ayacucho 2019. *repositorio UNSCH*.
<https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/54008846-a9e8-4f11-95b4-abe7c1800540/content>

Duwig, C., Archundia, D., Lehenbre, F., Spadini, L., Morel, M. C., Uzu, G., ... & Martins, J. M. F. (2014). Impacts of anthropogenic activities on the contamination of a sub watershed of Lake Titicaca. Are antibiotics a concern in the Bolivian Altiplano? *Procedia Earth and Planetary Science*, 10, 370-375.

El NORTE. 2024. Yahuarcocha: control y limpieza de la laguna
<https://elnorte.ec/yahuarcocha-control-y-limpieza-de-la-laguna/>

Farinango Becerra, P. A. (2023). La protección del derecho a la existencia de la laguna de Yahuarcocha del cantón Ibarra. Desarrollo social y el comportamiento humano.

- García-Galindo, L. A., Capera-Rivas, A., & Mayorquín, N. (2020.). Alternativas microbiológicas para la remediación de suelos y aguas contaminados con fertilizantes nitrogenados. Microbiological alternatives for the remediation of soil and water contaminated with nitrogen fertilizers. *Scientia et Technica Año XXV*, 25(01).
- Goswami, M., Chakraborty, P., Mukherjee, K., Mitra, G., Bhattacharyya, P., Dey, S., & Tribedi, P. (2018). Bioaugmentation and biostimulation: a potential strategy for environmental remediation. *J Microbiol Exp*, 6(5), 223-231.
- Guerra, C. M. D. L., Steinitz-Kannan, M., & Vilarrúbia, T. V. (2023). Floración de *Planktothrix agardhii* en Yahuarcocha, una laguna altoandina hipertrófica. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 44(1). <https://remcb-puce.edu.ec/remcb/article/view/958/707>
- Gómez Rosero, T. G (2017). BIORREMEDIACIÓN DE LAGOS TROPICALES EUTROFIZADOS: ESTUDIO DEL LAGO SAN PABLO (ECUADOR).
- Hach Company (2019). Nitrate. DOC316.53.01066. Cadmium Reduction Method Method 8039 0.3 to 30.0 mg/L NO₃-N (HR) Powder Pillows or AccuVac® Ampuls Table 2 Instrument-specific information for AccuVac Ampuls Instrument Adapter Sample cell. <file:///E:/descargas/DOC316.53.01066.pdf>
- Hach Company (2017). Phosphorus, Total USEPA 1 PhosVer® 3 with Acid Persulfate Digestion Method Method 8190 0.06 to 3.50 mg/L PO₄³⁻-(0.02 to 1.10 mg/L P) Test 'N Tube™ Vials. <file:///E:/descargas/DOC316.53.01121.pdf>
- Hong, P., Wu, X., Shu, Y., Wang, C., Tian, C., Wu, H., & Xiao, B. (2020). Bioaugmentation treatment of nitrogen-rich wastewater with a denitrifier with biofilm-formation and

- nitrogen-removal capacities in a sequencing batch biofilm reactor. *Bioresource Technology*, 303, 122905. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2020.122905>
- Heredia, C., Guédron, S., Point, D., Perrot, V., Campillo, S., Verin, C., ... & Achá, D. (2022). Anthropogenic eutrophication of Lake Titicaca (Bolivia) revealed by carbon and nitrogen stable isotopes fingerprinting. *Science of the Total Environment*, 845, 157286. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157286>
- Hernández-Alomia, F., Ballesteros, I., & Castillejo, P. (2022). Bioremediation potential of glyphosate-degrading microorganisms in eutrophicated Ecuadorian water bodies. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(3), 1550-1558. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.11.013>
- Kumar, T., Bhargava, R., Prasad, K. S. H., & Pruthi, V. (2015). Evaluation of vermifiltration process using natural ingredients for effective wastewater treatment. *Ecological Engineering*, 75, 370–377. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLENG.2014.11.044>
- Laughinghouse, H. D., Smyth, A., Havens, K., & Frazer, T. (2022). Repensando el papel del nitrógeno y fósforo en la eutrofización de los ecosistemas acuáticos. *EDIS*, 2022(2). <https://doi.org/10.32473/edis-sg191-2022>.
- Moreno Franco, D. M., Quintero M. J., & Cuevas, A. L. (2010.). *Métodos para identificar, diagnosticar y evaluar el grado de eutrofia*. <http://lakewatch.ifas.ufl.edu/>
- Morales Cornejo, V. y Paucara Huamani, Y. L. (2021). Fitorremediación con Plantas Acuáticas en Aguas Contaminadas con Metales Pesados: Revisión Sistemática. *Calidad y gestión de los Recursos Naturales*.

- Marrero-Coto, J., Amores-Sánchez, I., & Coto-Pérez, O. (2012). Fitorremediación, una tecnología que involucra a plantas y microorganismos en el saneamiento ambiental. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 46(3), 52-61.
- MAATE. (16 de junio del 2021). Se fortalecen las acciones para la preservación de la Laguna de Yahuarcocha <https://www.ambiente.gob.ec/se-fortalecen-las-acciones-para-la-preservacion-de-la-laguna-de-yahuarcocha/>
- Méndez Landázuri, O. D. (2022). *Evaluación del estado actual de eutrofización de la laguna de Yahuarcocha* (Doctoral dissertation, PUCE Ibarra). <https://repositorio.puce.edu.ec/handle/123456789/42680>
- Montenegro, S. P., Pulido, S. Y., & Vallejo, L. F. C. (2021). Prácticas de biorremediación en suelos y aguas. *Notas de Campus*.
- Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. (s.f.). Soluciones basadas en la naturaleza. Centro Nacional de Educación Ambiental (CENEAM). <https://www.miteco.gob.es/es/ceneam/recursos/pag-web/soluciones-basadas-naturaleza.html>
- Mendoza Castillo, J. S. y Soto Zelaya, R. O. (2022). Técnicas de biodegradación de grasas y aceites en aguas residuales. Calidad y gestión de los recursos naturales. Universidad César Vallejo. *Repositorio digital institucional* <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/101098>
- Muñoz Oré, M. J. (2021). Evaluación de los parámetros indicadores de eutrofización en las aguas del río chillón de los años 2012 –2015.

Narciso-Ortiz, L., Tec-Caamal, EN, Aguirre-García, GJ, & Lizardi-Jiménez, MA (2023).

Bioreactors for bioremediation of polluted water. In *the Current Status of Marine Water Microbiology* (pp. 345-364). Singapore: Springer Nature.

NORAMATIVA ECUATORIANA (2018). Norma de calidad ambiental y de descarga de

efluentes: recurso agua libro vi anexo 1

<https://faolex.fao.org/docs/pdf/ecu112180.pdf> y

<https://www.cip.org.ec/attachments/article/1579/PROPUESTA%20ANEXO%201.pdf>

Pérez, Z. F., & Ortiz, R. B. U. (2022). Bioprospección bacteriana en sedimento del Río Chiquito, en León, Nicaragua durante época seca y lluviosa. *Revista Torreón Universitario*, 11(32).

Quijije Frías, J. D. (2022). Factores responsables de la eutrofización en ecosistemas lacustres

tropicales. Obtenido de Universidad Técnica de Machala.

<https://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/19790/1/ECUACA-2022-IAC-DE00026.pdf>

Quispe-Choque, K. G., & Valderrama-Valencia, M. R. E. (2024). Bacterias extremótrofas y

extremófilas resistentes a radiación UV-B aisladas de la laguna de Salinas, un humedal altoandino del Perú. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 95, e955312-e955312.

Riofrío Robalino, K. T. (2023). Evaluación del nivel de tolerancia a hidrocarburos de la

microbiota de *Roystonea oleracea* en la isla Santay caracterización, conservación y manejo del hábitat de la biodiversidad.

- Sheikholeslami, R., & Hall, J. W. (2023). Global patterns and key drivers of stream nitrogen concentration: A machine learning approach. *Science of the Total Environment*, 868, 161623. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969723002383>
- Sheekh, M., Abdel-Daim, M. M., Okba, M., Gharib, S., Soliman, A., & El-Kassas, H. (2021). Green technology for bioremediation of the eutrophication phenomenon in aquatic ecosystems: a review. *African Journal of Aquatic Science*, 46(3), 274–292. <https://doi.org/10.2989/16085914.2020.1860892>
- Santambrosio, E., Ortega, M., y Garibaldi, P. (2009). Siembra y recuento de microorganismos. Obtenido de Universidad Tecnológica Nacional: https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_ano/biotecnologia/practicoIII.pdf
- Tyagi, M., da Fonseca, M. M. R., & de Carvalho, C. C. (2011). Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation*, 22, 231-241.
- UNESCO (2024). Decenio de las Naciones Unidas sobre la Restauración de los Ecosistemas. <https://www.unesco.org/es/ecosystems-restoration-decade>
- Van Colen, W., Portilla, K., Oña, T., Wyseure, G., Goethals, P., Velarde, E., & Muylaert, K. (2017). Limnology of the neotropical high elevation shallow lake Yahuarcocha (Ecuador) and challenges for managing eutrophication using biomanipulation. *Limnológica*, 67, 37-44.
- Xie, Z.; Li, W.; Yang, K.; Wang, X.; Xiong, S.; Zhang, X. (2024). Bacterial and Archaeal Communities in Erhai Lake Sediments: Abundance and Metabolic Insight into a

Plateau Lake at the Edge of Eutrophication. *Microorganisms* 2024, 12, 1617.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms12081617>

Yang, C., Yang, P., Geng, J., Yin, H., & Chen, K. (2020). Sediment internal nutrient loading in the most polluted area of a shallow eutrophic lake (Lake Chaohu, China) and its contribution to lake eutrophication. *Environmental Pollution*, 262, 114292.

Zhu, K.; Wu, Y.; Li, C.; Xu, J.; Zhang, M. (2020). Ecosystem-Based Restoration to Mitigate Eutrophication: A Case Study in a Shallow Lake. *Water* 2020, 12, 2141.
<https://doi.org/10.3390/w12082141>

8. ANEXOS

Tabla 4. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de fuentes complejas de carbono M2, M3 M4.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	17.48	2	8.742	F (2, 57) = 49.16	P<0.0001
Residual (within columns)	10.14	57	0.1778		
Total	27.62	59			

Tabla 5. *Análisis de Tukey en el consumo de fuentes complejas de carbono M2, M3, M4.*

Tukey's múltiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
M2 vs. M3	1.119	0.7977 to 1.440	Yes	****	<0.0001	A-B
M2 vs. M4	-0.0513	-0.3722 to 0.2696	No	ns	0.9218	A-C
M3 vs. M4	-1.17	-1.491 to -0.8490	Yes	****	<0.0001	B-C

Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
2.916	1.797	1.119	0.1334	20	20	11.86
2.916	2.967	-0.0513	0.1334	20	20	0.544
1.797	2.967	-1.17	0.1334	20	20	12.41

Tabla 6. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de fuentes complejas de carbono cepa 1, 2, 3.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	1.742	2	0.8711	F (2, 57) = 9.476	P=0.0003
Residual (within columns)	5.240	57	0.09192		
Total	6.982	59			

Tabla 7. *Análisis de Tukey en el consumo de fuentes complejas de carbono Cepa 1, 2, 3.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below thres hold?	Summary	Adjusted P Value
Cepa 1 vs. Cepa 2	-0.3776	-0.6083 to -0.1468	Yes	***	0.0007
Cepa 1 vs. Cepa 3	-0.3429	-0.5736 to -0.1122	Yes	**	0.0020
Cepa 2 vs. Cepa 3	0.03465	-0.1961 to 0.2654	No	ns	0.9306
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1-n2	q
2.554	2.931	-0.3776	0.09588	20	5.569
2.554	2.897	-0.3429	0.09588	20	5.058
2.931	2.897	0.03465	0.09588	20	0.5111

Tabla 8. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de fuentes complejas de carbono cepa 4, 5, 6.

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	0.7347	2	0.3674	F (2, 57) = 7.647	P=0.0011
Residual (within columns)	2.738	57	0.04804		
Total	3.473	59			

Tabla 9. Análisis de Tukey en el consumo de fuentes complejas de carbono Cepa 4, 5, 6.

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
Cepa 4 vs. Cepa 5	-0.2454	-0.4122 to -0.07860	Yes	**	0.0023	A-B
Cepa 4 vs. Cepa 6	-0.023	-0.1898 to 0.1438	No	ns	0.9412	A-C
Cepa 5 vs. Cepa 6	0.2224	0.05560 to 0.3892	Yes	**	0.0061	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
2.727	2.973	-0.2454	0.06931	20	20	5.007
2.727	2.75	-0.023	0.06931	20	20	0.4693
2.973	2.75	0.2224	0.06931	20	20	4.538

Tabla 10. Análisis de varianza ANOVA en el consumo de aminoácidos M2, M3 M4.

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	47.67	2	23.83	F (2, 87) = 252.6	P<0.0001
Residual (within columns)	8.210	87	0.09437		
Total	55.88	89			

Tabla 11. *Análisis de Tukey en el consumo de aminoácidos M2, M3, M4.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
M2 vs. M3	1.628	1.439 to 1.817	Yes	****	<0.0001	A-B
M2 vs. M4	0.1855	-0.003664 to 0.3746	No	ns	0.0558	A-C
M3 vs. M4	-1.443	-1.632 to -1.254	Yes	****	<0.0001	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
3.237	1.609	1.628	0.07932	30	30	29.03
3.237	3.052	0.1855	0.07932	30	30	3.307
1.609	3.052	-1.443	0.07932	30	30	25.72

Tabla 12. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de aminoácidos Cepa 1, 2, 3.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	0.203	2	0.1015	F (2, 87) = 3.070	P=0.0515
Residual (within columns)	2.876	87	0.03305		
Total	3.079	89			

Tabla 13. *Análisis de Tukey en el consumo de aminoácidos Cepa 1, 2, 3.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
Cepa 1 vs. Cepa 2	-0.03287	-0.1448 to 0.07906	No	ns	0.764	A-B
Cepa 1 vs. Cepa 3	-0.1131	-0.2250 to -0.001136	Yes	*	0.0472	A-C

Cepa 2 vs. Cepa 3	- 0.0802	- 0.1921 to 0. 03173	No	ns	0.2078	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
2.946	2.979	-0.03287	0.04694	30	30	0.99 02
2.946	3.059	-0.1131	0.04694	30	30	3.40 6
2.979	3.059	-0.0802	0.04694	30	30	2.41 6

Tabla 14. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de aminoácidos Cepa 4, 5, 6.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	0.1637	2	0.08187	F (2, 87) = 2.476	P=0.0899
Residual (within columns)	2.876	87	0.03306		
Total	3.04	89			

Tabla 15. *Análisis de Tukey en el consumo de aminoácidos Cepa 4, 5, 6.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
Cepa 4 vs. Cepa 5	- 0.05093	- 0.1629 to 0. 06101	No	ns	0.5259	A-B
Cepa 4 vs. Cepa 6	0.05353	- 0.05841 to 0. .1655	No	ns	0.4921	A-C
Cepa 5 vs. Cepa 6	0.1045	- 0.007473 to 0.2164	No	ns	0.0725	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
3.03	3.081	-0.05093	0.04695	30	30	1.5 34
3.03	2.976	0.05353	0.04695	30	30	1.6 13

3.081	2.976	0.1045	0.04695	30	30	3.147
-------	-------	--------	---------	----	----	-------

Tabla 16. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de carbohidratos M2, M3 M4.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	51.05	2	25.53	F (2, 102) = 164.2	P<0.0001
Residual (within columns)	15.85	102	0.1554		
Total	66.91	104			

Tabla 17. *Análisis de Tukey en el consumo de carbohidratos M2, M3, M4.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below thres hold?	Summary	Adjusted P Value	
M2 vs. M3	1.544	1.320 to 1.769	Yes	****	<0.0001	A-B
M2 vs. M4	0.1406	-0.08358 to 0.3647	No	ns	0.2992	A-C
M3 vs. M4	-1.404	-1.628 to -1.180	Yes	****	<0.0001	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
3.201	1.656	1.544	0.09424	35	35	23.18
3.201	3.06	0.1406	0.09424	35	35	2.109
1.656	3.06	-1.404	0.09424	35	35	21.07

Tabla 18. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de carbohidratos Cepa 1, 2, 3.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	2.408	2	1.204	F (2, 102) = 4.590	P=0.0123
Residual (within columns)	26.76	102	0.2623		

Total	29.17	104			
-------	-------	-----	--	--	--

Tabla 19. *Análisis de Tukey en el consumo de carbohidratos Cepa 1, 2, 3.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
Cepa 1 vs. Cepa 2	0.2551	-0.03611 to 0.5463	No	ns	0.0983	A-B
Cepa 1 vs. Cepa 3	-0.1057	-0.3969 to 0.1855	No	ns	0.6645	A-C
Cepa 2 vs. Cepa 3	-0.3608	-0.6520 to -0.06960	Yes	*	0.011	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
2.966	2.711	0.2551	0.1224	35	35	2.946
2.966	3.072	-0.1057	0.1224	35	35	1.221
2.711	3.072	-0.3608	0.1224	35	35	4.168

Tabla 20. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de carbohidratos Cepa 4, 5, 6.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	0.1559	2	0.07794	F (2, 102) = 1.461	P=0.2368
Residual (within columns)	5.441	102	0.05334		
Total	5.597	104			

Tabla 21. *Análisis de Tukey en el consumo de carbohidratos Cepa 4, 5, 6.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
Cepa 4 vs. Cepa 5	-0.05594	-0.1873 to 0.07537	No	ns	0.5702	A-B

Cepa 4 vs. Cepa 6	0.0378 6	- 0.09346 to 0.1692	No	ns	0.7724	A-C
Cepa 5 vs. Cepa 6	0.0938	- 0.03751 to 0.2251	No	ns	0.2105	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
3.07	3.126	-0.05594	0.05521	35	35	1.43 3
3.07	3.032	0.03786	0.05521	35	35	0.96 97
3.126	3.032	0.0938	0.05521	35	35	2.40 3

Tabla 22. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de ácidos carboxílicos M2, M3 M4.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	73.09	2	36.54	F (2, 147) = 28 5.9	P<0.000 1
Residual (within columns)	18.79	147	0.1278		
Total	91.88	149			

Tabla 23. *Análisis de Tukey en el consumo de ácidos carboxílicos M2, M3, M4.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
M2 vs. M3	1.558	1.389 to 1.728	Yes	****	<0.0001	A-B
M2 vs. M4	0.1697	0.0003849 to 0.3390	Yes	*	0.0493	A-C
M3 vs. M4	-1.389	-1.558 to -1.219	Yes	****	<0.0001	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
3.175	1.617	1.558	0.07151	50	50	30. 82
3.175	3.006	0.1697	0.07151	50	50	3.3 56

1.617	3.006	-1.389	0.07151	50	50	27.46
-------	-------	--------	---------	----	----	-------

Tabla 24. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de ácidos carboxílicos Cepa 1, 2, 3.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	0.7093	2	0.3547	F (2, 147) = 5.563	P=0.0047
Residual (within columns)	9.372	147	0.06376		
Total	10.08	149			

Tabla 25. *Análisis de Tukey en el consumo de ácidos carboxílicos Cepa 1, 2, 3.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
Cepa 1 vs. Cepa 2	0.06834	-0.05123 to 0.1879	No	ns	0.3682	A-B
Cepa 1 vs. Cepa 3	-0.09916	-0.2187 to 0.02041	No	ns	0.125	A-C
Cepa 2 vs. Cepa 3	-0.1675	-0.2871 to -0.04793	Yes	**	0.0033	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
2.895	2.827	0.06834	0.0505	50	50	1.914
2.895	2.994	-0.09916	0.0505	50	50	2.777
2.827	2.994	-0.1675	0.0505	50	50	4.691

Tabla 26. *Análisis de varianza ANOVA en el ácidos carboxílicos Cepa 4, 5, 6.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	0.7093	2	0.3547	F (2, 147) = 5.563	P=0.0047

Residual (within columns)	9.372	147	0.06376		
Total	10.08	149			

Tabla 27. *Análisis de Tukey en el consumo de ácidos carboxílicos Cepa 4, 5, 6.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
Cepa 4 vs. Cepa 5	0.06834	-0.05123 to 0.1879	No	ns	0.3682	A-B
Cepa 4 vs. Cepa 6	-0.09916	-0.2187 to 0.02041	No	ns	0.125	A-C
Cepa 5 vs. Cepa 6	-0.1675	-0.2871 to -0.04793	Yes	**	0.0033	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
2.895	2.827	0.06834	0.0505	50	50	1.914
2.895	2.994	-0.09916	0.0505	50	50	2.777
2.827	2.994	-0.1675	0.0505	50	50	4.691

Tabla 28. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de aminos M2, M3, M4.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	13.73	2	6.863	F (2, 27) = 52.57	P<0.0001
Residual (within columns)	3.525	27	0.1305		
Total	17.25	29			

Tabla 29. *Análisis de Tukey en el consumo de aminos M2, M3, M4.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
-----------------------------------	------------	--------------------	------------------	---------	------------------	--

M2 vs. M3	1.558	1.157 to 1.958	Yes	****	<0.0001	A-B
M2 vs. M4	0.2896	-0.1110 to 0.6902	No	ns	0.1912	A-C
M3 vs. M4	-1.268	-1.669 to -0.8674	Yes	****	<0.0001	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
3.171	1.613	1.558	0.1616	10	10	13.63
3.171	2.881	0.2896	0.1616	10	10	2.535
1.613	2.881	-1.268	0.1616	10	10	11.1

Tabla 30. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de aminos Cepa 1, 2, 3.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	0.6212	2	0.3106	F (2, 27) = 5.779	P=0.0081
Residual (within columns)	1.451	27	0.05375		
Total	2.073	29			

Tabla 31. *Análisis de Tukey en el consumo de aminos Cepa 1, 2, 3.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
Cepa 2 vs. Cepa 1	-0.2396	-0.4967 to 0.01747	No	ns	0.0713	B-A
Cepa 3 vs. Cepa 1	-0.3437	-0.6008 to -0.08663	Yes	**	0.0072	C-A
Cepa 3 vs. Cepa 2	-0.1041	-0.3612 to 0.1530	No	ns	0.5807	C-B
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q

2.8	3.04	-0.2396	0.1037	10	10	3.268
2.696	3.04	-0.3437	0.1037	10	10	4.688
2.696	2.8	-0.1041	0.1037	10	10	1.42

Tabla 32. *Análisis de varianza ANOVA en el aminos Cepa 4, 5, 6.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	0.05646	2	0.02823	F (2, 27) = 0.3755	P=0.6905
Residual (within columns)	2.03	27	0.07519		
Total	2.086	29			

Tabla 33. *Análisis de Tukey en el consumo de aminos Cepa 4, 5, 6.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
Cepa 4 vs. Cepa 5	-0.0235	-0.3275 to 0.2805	No	ns	0.98	A-B
Cepa 4 vs. Cepa 6	-0.1015	-0.4055 to 0.2025	No	ns	0.6894	A-C
Cepa 5 vs. Cepa 6	-0.078	-0.3820 to 0.2260	No	ns	0.8017	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
2.828	2.851	-0.0235	0.1226	10	10	0.271
2.828	2.929	-0.1015	0.1226	10	10	1.171
2.851	2.929	-0.078	0.1226	10	10	0.8996

Tabla 34. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de carbón-fosfato M2, M3 M4.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	16.33	2	8.165	F (2, 27) = 82.34	P<0.0001
Residual (within columns)	2.677	27	0.09916		
Total	19.01	29			

Tabla 35. *Análisis de Tukey en el consumo de carbón-fosfato M2, M3, M4.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
M2 vs. M3	1.619	1.270 to 1.969	Yes	****	<0.0001	A-B
M2 vs. M4	0.115	-0.2342 to 0.4642	No	ns	0.6961	A-C
M3 vs. M4	-1.504	-1.854 to -1.155	Yes	****	<0.0001	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
3.072	1.453	1.619	0.1408	10	10	16.26
3.072	2.957	0.115	0.1408	10	10	1.155
1.453	2.957	-1.504	0.1408	10	10	15.11

Tabla 36. *Análisis de varianza ANOVA en el consumo de carbón-fosfato Cepa 1, 2, 3.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	0.5757	2	0.2878	F (2, 27) = 14.56	P<0.0001
Residual (within columns)	0.5336	27	0.01976		
Total	1.109	29			

Tabla 37. *Análisis de Tukey en el consumo de carbón-fosfato Cepa 1, 2, 3.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
Cepa 1 vs. Cepa 2	0.2682	0.1123 to 0.4241	Yes	***	0.0006	A-B
Cepa 1 vs. Cepa 3	-0.0459	-0.2018 to 0.1100	No	ns	0.748	A-C
Cepa 2 vs. Cepa 3	-0.3141	-0.4700 to -0.1582	Yes	****	<0.0001	B-C
Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
3.008	2.739	0.2682	0.06287	10	10	6.033
3.008	3.054	-0.0459	0.06287	10	10	1.033
2.739	3.054	-0.3141	0.06287	10	10	7.066

Tabla 38. *Análisis de varianza ANOVA en el carbón-fosfato Cepa 4, 5, 6.*

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	0.4125	2	0.2063	F (2, 27) = 14.54	P<0.0001
Residual (within columns)	0.383	27	0.01418		
Total	0.7955	29			

Tabla 39. *Análisis de Tukey en el consumo de carbón-fosfato Cepa 4, 5, 6.*

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
Cepa 4 vs. Cepa 5	0.198	0.06594 to 0.3301	Yes	**	0.0026	A-B
Cepa 4 vs. Cepa 6	-0.0812	-0.2133 to 0.05086	No	ns	0.2956	A-C
Cepa 5 vs. Cepa 6	-0.2792	-0.4113 to -0.1471	Yes	****	<0.0001	B-C

Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q
3.007	2.809	0.198	0.05326	10	10	5.257
3.007	3.088	-0.0812	0.05326	10	10	2.156
2.809	3.088	-0.2792	0.05326	10	10	7.413

ANEXOS COMPLEMENTARIOS

Anexo A. Recolección de muestras de agua en la laguna de Yahuarcocha en los diferentes puntos seleccionados.



Anexo B. *Medición de pH y Temperatura de las muestras de agua eutrofizada*



Anexo C. *Medición de iones nitratos y fosfatos con el espectrofotómetro*



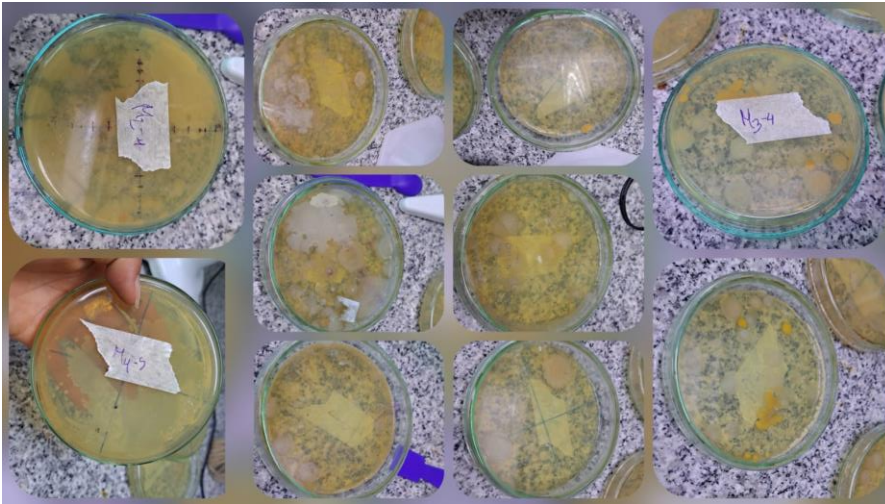
Anexo D. Medios de cultivo



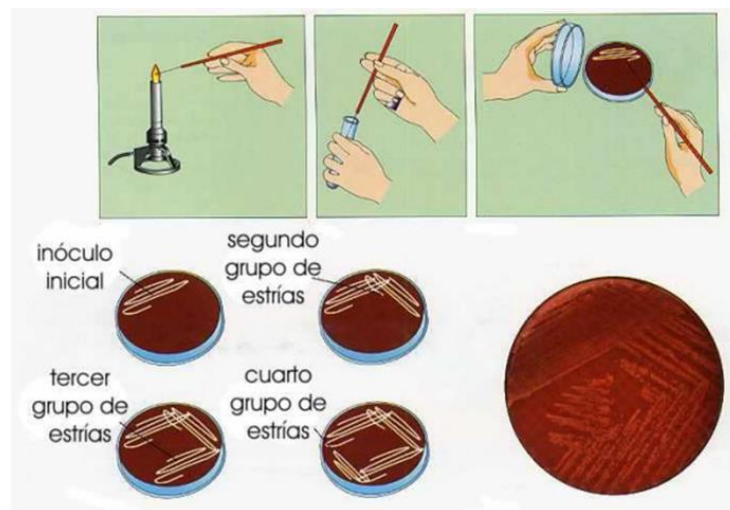
Anexo E. Filtrado de muestras de suelo isla Santay y diluciones



Anexo F. Crecimiento de microorganismos

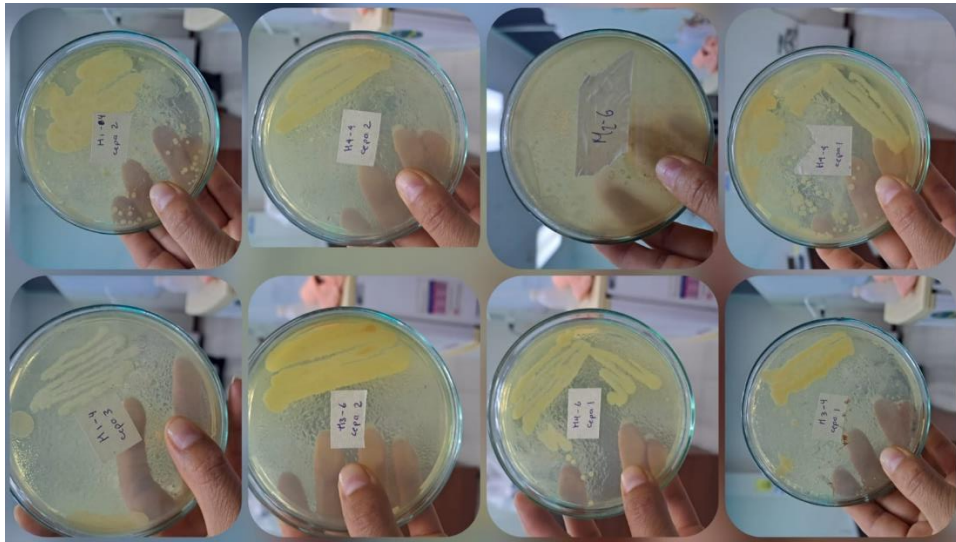


Anexo G. Técnica de inoculación de 4 estrías en cajas Petri



Fuente: Santambrosio et al., (2009).

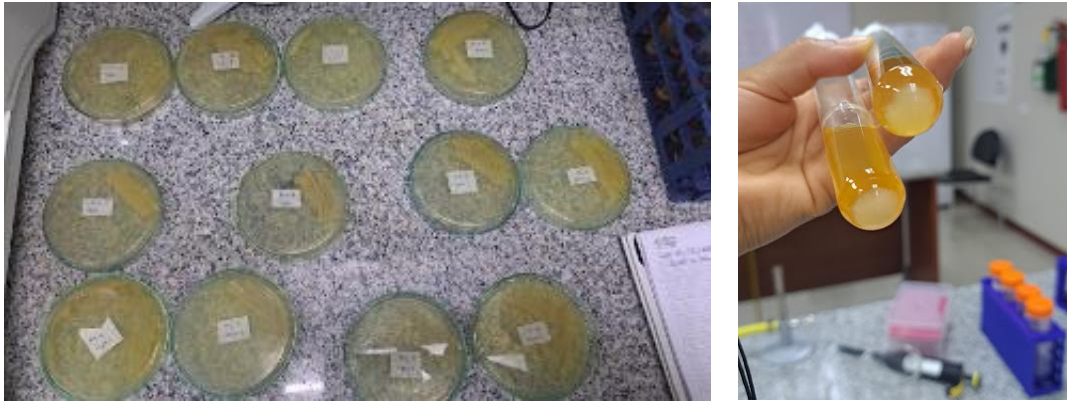
Anexo H. Crecimiento de cultivos puros



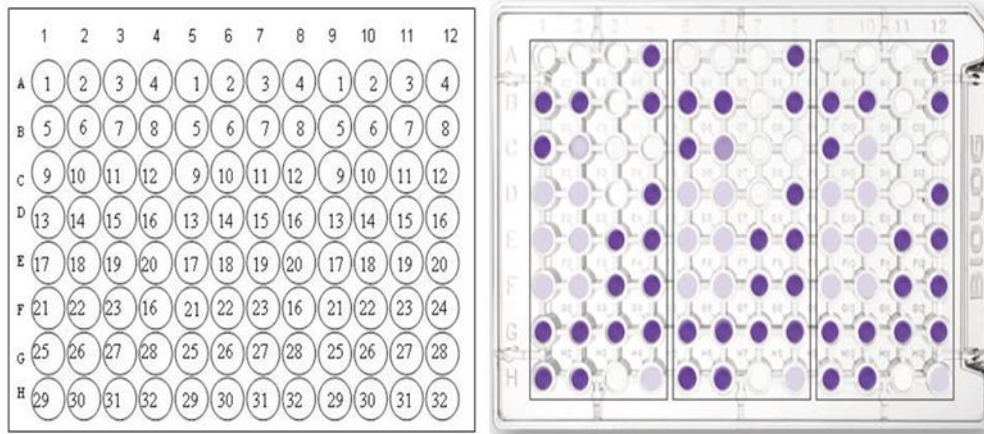
Anexo I. Crecimiento microbiano en caldo nutritivo M1, M2, M3, M4



Anexo J. *Cepas representativas para posteriormente inocularlos en caldo nutritivo*



Anexo K. *Representacion de la distribucion de las repeticiones de una placa de Ecoplate®*



Anexo L. Clasificación de fuentes de carbono en los pocillos de las microplacas de EcoPlate®

Biolog EcoPlate	1	2	3	4
A	Water	β -methyl-D-glucoside	D-galactonic acid γ -lactone	L-arginine
B	Pyruvic acid methyl ester	D-xylose	D-galacturonic acid	L-asparagine
C	Tween 40	D-erythritol	2-hydroxy benzoic acid	L-phenylalanine
D	Tween 80	D-mannitol	4-hydroxy benzoic acid	L-serine
E	α -cyclodextrin	N-acetyl-D-glucosamine	γ -hydroxy butyric acid	L-threonine
F	Glycogen	D-glucosamic acid	Itaconic acid	Glycyl-L-glutamic acid
G	D-cellobiose	Glucose-1-phosphate	α -ketobutyric acid	Phenylethyl-amine
H	α -D-lactose	DL- α -glycerol phosphate	D-malic Acid	Putrescine

	Amines		Carboxylic acids
	Carbohydrates		Amino acids
	Complex carbon sources		Phosphate-carbon

Anexo M. Incubación en microplacas de EcoPlate®



Anexo N. *Espectrofotómetro visible para microplacas Epoch y programa Gen 5*



Anexo O. *Inoculación de cepas representativas (12 cepas) en muestras compuestas de agua eutrofizada*



Anexo P. Muestras de agua compuesta con tratamiento



Anexo Q. Muestras de agua compuesta con tratamiento trascurrido cinco días y realización de medición



ANEXOS DE LAS ACTIVIDADES DE IMPACTO AMBIENTAL POR PUNTOS ALREDEDOR DE LA LAGUNA

Anexo 1. Punto 1: estación de bomberos, autódromo



Anexo 2. Punto 2: desechos sólidos en miradores y fincas



Anexo 3. Punto 3: espacios recreativos, población y terrenos para sembríos



Anexo 4. Punto 4: espacio de recreación, pastoreos, pesca y descargas de aguas residuales



Anexo 5. Punto 5: población activa, actividades de recreación y domesticas



Anexo 6. Punto 6: Construcción de reservorio, invernaderos y zona agrícola

