

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
Facultad de Ciencias y Humanidades

**BIBLIOTECA  
DE LA  
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**

EL HELECHO ACUATICO Salvinia auriculata COMO  
INHIBIDOR DE LARVAS DE Anopheles albimanus  
(DIPTERA, CULICIDAE)

MARIA NAVAJAS NAVARRO

Guatemala  
1982

EL HELECHO ACUATICO Salvinia auriculata COMO  
INHIBIDOR DE LARVAS DE Anopheles albimanus  
(DIPTERA, CULICIDAE)

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
Facultad de Ciencias y Humanidades

EL HELECHO ACUATICO Salvinia auriculata COMO  
INHIBIDOR DE LARVAS DE Anopheles albimanus  
(DIPTERA, CULICIDAE)

MARIA NAVAJAS NAVARRO

Trabajo de investigación presentado para optar  
al grado académico de Licenciatura en Biología

Guatemala  
1982

Vo. Bo.:

(f) *Margaret A. Dix*

Dra. Margaret Dix  
Asesora

Tribunal

(f) *Michael W. Dix*

Dr. Michael Dix

(f) *Charles H. Porter*

Dr. Charles Porter

Fecha de aprobación: 9 de febrero de 1982

## AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi más profunda gratitud a la Dra. Margaret Dix por su constante asesoría, comprensión y valioso apoyo en hacer posible este trabajo.

Al Dr. Michael Dix y Dr. Charles Porter por sus acertadas críticas y sugerencias y colaboración en el Comité de Asesores.

Al Dr. Richard Collins, Dr. Richard Darsie, M.Sc. Rafael Flores, Dr. Jesse Hobbs, Lic. Bayardo Mejía, M.Sc. Mario Melgar, Lcda. Sonia Ubico y Lic. Luis Villar, por sus consejos y colaboración.

Al personal técnico del Centro de Entomología Médica por su colaboración y en particular al Sr. O. Duque y Sr. A. Sofoifa por su cooperación en la toma de datos de campo.

A los compañeros M. Gruner, C. Solís y R. Tejada por sus correcciones y sugerencias.

A Juan Escamilla por su tan constante apoyo y a todos los que de alguna forma colaboraron en la realización de este trabajo.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN	x
I. INTRODUCCION	1
II. MATERIALES Y METODOS	8
III. RESULTADOS	
A. Pruebas de sobrevivencia en el laboratorio.	16
B. Pruebas de sobrevivencia en el campo.	25
C. Estudio de lagunas naturales	25
D. Pruebas de toxicidad	30
IV. DISCUSION	32
V. CONCLUSIONES	46
VI. BIBLIOGRAFIA	48
APENDICES	
A. Método de recuento standard en placa para determinación de la <u>den</u> sidad bacteriana del agua.	51
B. Método espectrofotométrico de deter <u>minación</u> de <u>clorofila a</u> para evaluar densidades de fitoplancton.	52
C. Sobrevivencia de larvas de primer estadio de <u>Anopheles albimanus</u> bajo diferentes <u>tratamientos con Salvinia auriculata</u> , en pruebas de laborato <u>rio</u> .	54
D. Concentraciones de nitratos y fosfa <u>tos</u> de las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo.	55

	Página
E. Concentraciones de oxígeno disuelto en las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo.	56
F. pH de las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo.	57
G. Concentraciones de clorofila a del fitoplancton de las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo.	58
H. Densidad bacteriana del agua de las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo.	59

LISTA DE CUADROS

Página

1. Posibles efectos antilarvarios de Salvinia auriculata en Anopheles albimanus, evaluados en el laboratorio. 9
2. Sobrevivencia de larvas de Anopheles albimanus a través del tiempo, bajo diferentes tratamientos de laboratorio con Salvinia auriculata. 17
3. Análisis de Varianza y prueba de Homogeneidad de Varianza de Bartlett, de la sobrevivencia de larvas de Anopheles albimanus, por tiempos y bajo diferentes tratamientos con Salvinia auriculata. 20
4. Sobrevivencia de larvas de Anopheles albimanus después de 10 y 13 días, bajo diferentes tratamientos con Salvinia auriculata. Datos transformados a raíz cuadrada. 22
5. Resultados de la prueba de Comparación Múltiple de Medias de Tukey, para los datos de sobrevivencia de larvas de Anopheles albimanus, bajo diferentes tratamientos con Salvinia auriculata, después de 10 y 13 días. 23
6. Tratamientos de Salvinia auriculata con larvas de Anopheles albimanus con sobrevivencia significativamente diferente. Analizado con la prueba de Comparación Múltiple de Medias de Tukey. 24
7. Sobrevivencia de larvas de primer estadio larvario de Anopheles albimanus en las lagunas de La Herradura y San Bernardo, en jaulas con y sin recubrimiento de Salvinia auriculata. 26

	Página
8. Factores ambientales de las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo.	29
9. Densidad larvaria de <u>Anopheles albimanus</u> y <u>Aedeomyia squamipennis</u> en las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo.	31

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Diagrama de <u>Salvinia auriculata</u> .	2
2. Diseño de jaula para estimar sobrevivencia de larvas de <u>Anopheles albimanus</u> en el campo.	12
3. Jaulas para estimar sobrevivencia de larvas de <u>Anopheles albimanus</u> en el campo. Laguna de la finca San Bernardo, Dpto. de Escuintla.	12
4. Número de larvas de <u>Anopheles albimanus</u> sobrevivientes por tiempo, bajo diferentes tratamientos con <u>Salvinia auriculata</u> (A a F).	18
5. Número de larvas de <u>Anopheles albimanus</u> sobrevivientes, por tiempo, bajo diferentes tratamientos (G1 y G2).	19
6. Vista parcial de la laguna de la finca La Herradura, con la superficie recubierta con <u>Salvinia auriculata</u> .	27
7. Vista parcial de la laguna de la finca San Bernardo.	27.

## RESUMEN

Factores ambientales de dos lagunas naturales, con y sin el helecho acuático Salvinia auriculata, fueron estudiados. Los fosfatos, pH, densidad bacteriana y fitoplanctónica no fueron significativamente diferentes entre ambos estanques. En la laguna sin S. auriculata la concentración de nitratos tuvo un rango de medias de 573 a 674  $\mu\text{g l}^{-1}$  y oxígeno disuelto de 2.76 a 6.94 ppm; ambos factores significativamente mayores ( $p < 0,01$ ) que en la laguna con la planta, con rango de 104.8 a 168.7  $\mu\text{g l}^{-1}$  de nitratos y 0.2 a 0.42 ppm de oxígeno.

Se determinaron sobrevivencias a los 3, 7, 10, 13 y 17 días, de larvas de Anopheles albimanus bajo diferentes tratamientos de laboratorio con el helecho. El recubrimiento del agua con la planta fue eficiente en reducir la sobrevivencia larvaria, por lo menos después de los 10 días. Posibles efectos químicos asociados a la planta no fueron detectados. Se sugiere un efecto de barrera mecánica de las hojas sumergidas de S. auriculata y depredadores relacionados a la planta, como factores principales del efecto antilarvario.

## I. INTRODUCCION

El helecho acuático Salvinia auriculata Aublet (Salviniaceae) es una hidrofita flotante ampliamente distribuida en el mundo. Si bien la especie es nativa de Sur América, nunca ha interferido seriamente con las actividades del hombre en esa área, pero es notoria por su crecimiento explosivo en los arrozales de Ceilán y en el lago Kariba, entre Zambia y Rodesia. La planta afecta cultivos de arroz interfiriendo con la distribución e irrigación de agua (Holm et al., 1977). Este helecho, menciona Hutchinson (1975), puede impedir el paso de luz y por tanto la fotosíntesis y el intercambio atmosférico de capas inferiores de agua, alterando la productividad de los lagos.

La estructura de S. auriculata es tan especializada que su aspecto difiere bastante del de un helecho. Posee un delgado, horizontal y flotante rizoma que produce hojas (frondes) en grupos de tres; dos hojas sésiles de corto peciolo que quedan en la parte superior y una tercera con aspecto de raíz, larga y filiforme que cuelga abajo (figura 1) (Holm et al., 1977). La planta flota, según Sculthorpe (1976), porque el aire es atrapado por pelos hidrófugos que crecen en apretadas filas en el haz de las hojas aéreas. Los pelos terminan en forma de jaula (figura 1c) en donde el aire es atrapado.

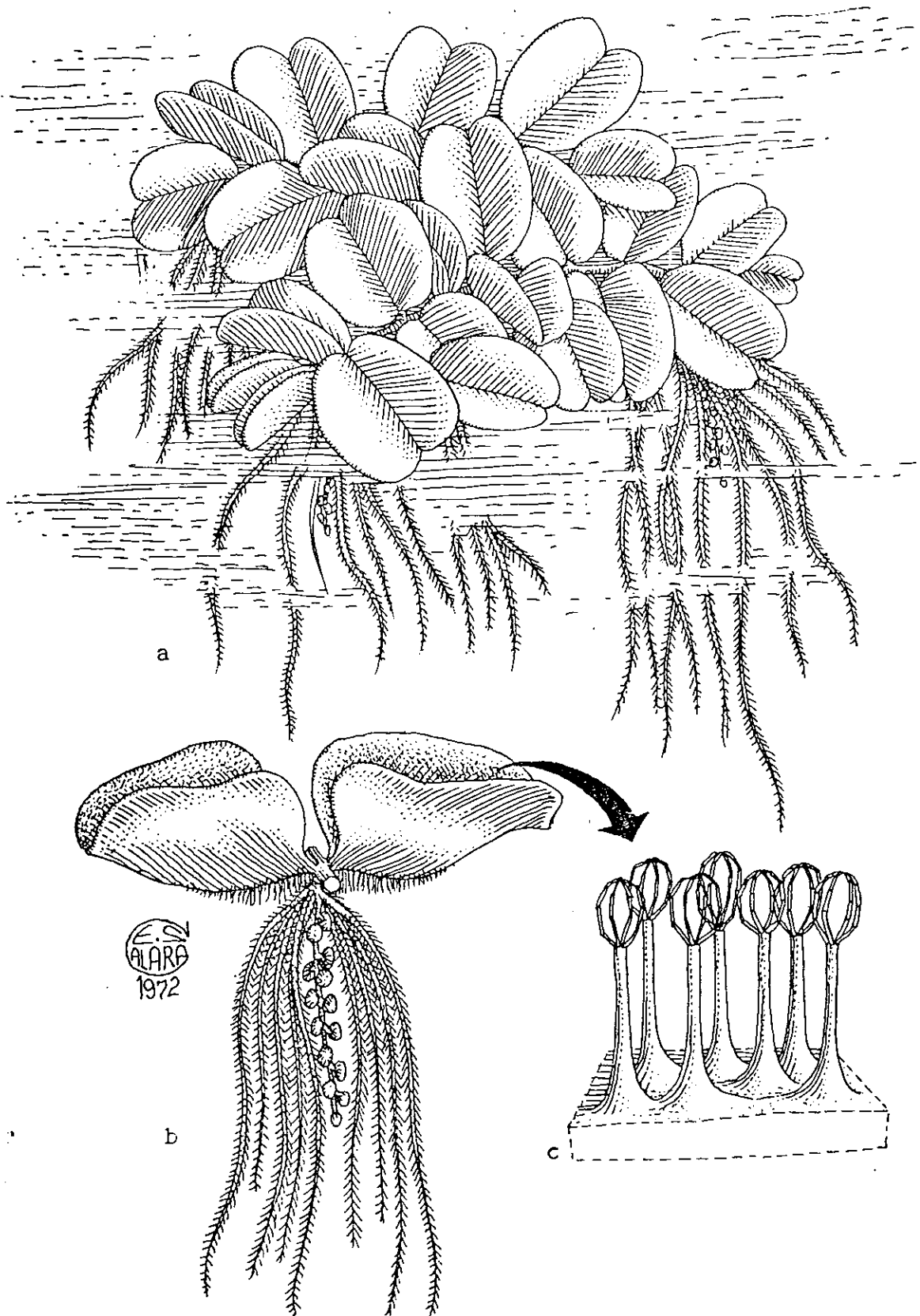


Figura 1. *Salvinia auriculata*. a, habitat; b, porción de la planta mostrando microsporangios, hojas aéreas y hojas sumergidas; c, detalle de los pelos en el haz de las hojas aéreas. (Tomado de Holm et al., 1977)

Las gotas de agua son rápidamente repelidas, porque éstas no pueden penetrar a través de los pelos ni de las burbujas de aire allí atrapadas. La hoja sumergida, de color marrón y de aspecto plumoso, está muy dividida. Esta hoja funciona como una raíz verdadera, absorbiendo agua y nutrientes y sustenta los esporocarpos, que son indehiscentes.

La presencia de numerosos pelos en forma de jaula en la superficie de las hojas aéreas, sirve para distinguir a S. auriculata de las otras especies de este género (Holm et al., 1977). Una clave de especies de Salvinia de Sur América, se describe en Mitchell y Thomas (1972), donde también se cita que estudios recientes han indicado que las plantas identificadas como S. auriculata probablemente pertenecen a un complejo de taxa relacionados.

La distribución de S. auriculata está principalmente restringida a la zona tropical; las temperaturas frías han límitado su expansión a las áreas templadas (Holm et al., 1977). El helecho es de fácil introducción a nuevos hábitats, especialmente en regiones tropicales, debido a su desarrollo explosivo. En su Memoria Anual de 1980, el Servicio de Erradicación de la Malaria (SNEM) de Guatemala, menciona una reproducción del 234% semanal para S. auriculata, en condiciones naturales.

Las interacciones entre plantas acuáticas y los estados larvarios de mosquitos, abarcan desde plantas inhibidoras de su crecimiento a relaciones tan estrechas como los estadios

juveniles de especies de Mansonia que poseen estructuras especializadas para penetrar los tejidos de las raíces y usan burbujas de aire de su interior para respirar. Bradley (1932) menciona que ciertas plantas o desechos vegetales flotantes que crecen en la superficie del agua, pueden ofrecer protección a las larvas de mosquitos de sus enemigos naturales. Entre las plantas que sirven de protección a las larvas de Anopheles, las más importantes son quizás las algas filamentosas que crecen sobre o justamente bajo la superficie del agua. Plantas flotantes como Lemna, Heterantheria y Azolla no proveen protección efectiva a las larvas de Anopheles ni tampoco ayudan a las larvas de sus depredadores, porque las hojas reposan en la superficie del agua. Parches de tales plantas, sin embargo, cuando no son demasiado densos, usualmente atrapan algas u otros materiales que favorecen el crecimiento de mosquitos. No obstante, las algas y otros materiales tienden a retener las hojas de las plantas flotantes para formar una superficie compacta que puede inhibir mecánicamente el desarrollo de Anopheles.

Se puede pensar en varios factores que pueden contribuir a las propiedades antilarvarias de ciertas plantas, entre los que cabe mencionar: mecánicos, cambios químicos en el agua, como nutrientes o contenido de oxígeno disuelto, liberación de toxinas o kairomonas, depredadores o parásitos relacionados a la planta, asequibilidad de alimento, niveles de fitoplancton y microorganismos.

Entre la clasificación de plantas enemigas al crecimiento de larvas, Covell (1931) nombra las que actúan cubriendo la superficie del agua tan espesamente que impiden la respiración de las larvas, como ocurre con Lemna y Azolla.

Estudios relacionados con las cantidades de oxígeno y dióxido de carbono disueltos en criaderos de larvas, no han encontrado, en general, correlación entre estos factores y el desarrollo larvario (Bates, 1949). El cuarto estadio larvario de Anopheles argyritarsis Robineau-Desvoidy, murió cuando la concentración de oxígeno disuelto bajó a 3-4 ppm (Unti, 1943). Sin embargo, otras especies de anofelinos sobrevivieron hasta que el nivel bajó a 1.5 ppm (Horsfall, 1972).

Respecto al pH, Woodhill (1938) encontró que a extremos que sobrepasan el rango de 4.2 a 9, el crecimiento de Culex fatigans Wiedemann es más lento. No se ha determinado si esto es un efecto directo o indirecto del desarrollo bacteriano, que es favorecido en ambientes ácidos.

\* En pruebas con extractos de la malahierba acuática Myriophyllum spicatum (Haloragaceae) que crece en el fondo de lagos, Hwang y Mulla (1980) encontraron que la planta presenta sustancias bioactivas que combinan atracción a la oviposición de mosquitos y toxicidad para sus larvas. En uno de los primeros reportes de los efectos tóxicos de los alcaloides de plantas a las larvas de mosquitos, Campbell y Sulli

van (1933) encontraron que la nicotina, la anabasina, la metil anabasina y la lupinina, mataban larvas de Culex pipiens Linnaeus, Culex territans Walker y Culex quinquefasciatus Say. En un ensayo de toxicidad con 36 plantas de 17 diferentes familias, Supavarn, Knapp y Sigafus (1974) encontraron que once de ellas resultaban en una mortalidad larvaria de Aedes aegypti (Linnaeus) de un 53% a 1000 ppm, 4% a 500 ppm y 1% a 100 ppm.

En pruebas de campo realizadas en Guatemala, Hobbs y Molina (en prep.) encontraron un marcado efecto inhibitor de S. auriculata en el crecimiento de anofelinos, con densidades significativamente más bajas en los criaderos con S. auriculata. En el laboratorio estudiaron la planta como una barrera de oviposición de An. albimanus. Sin embargo la supresión del crecimiento no se aplica a todas las especies de mosquitos, ya que se encontraron altas densidades de larvas de culícidos, principalmente Aedeomyia squamipennis (Lynch Arribalzaga) en criaderos con S. auriculata. No obstante, la eliminación de larvas de anofelinos sólo se logra cuando la totalidad de la superficie del cuerpo de agua está cubierta con la planta (SNEM, 1980).

Interesaba en particular las posibles interacciones de plantas con los estadios juveniles de An. albimanus, por ser esta especie el principal vector de malaria en la costa de Centro América. Concretamente en Guatemala el área endémica de malaria se extiende en un 74% del territorio nacional

(SNEM, 1978). Anopheles albimanus crece normalmente en o cerca de las costas en áreas húmedas, usualmente en elevaciones menores de 400 msnm. Esta especie, a pesar de ser generalmente colectada en charcas y estanques de varios tipos y en márgenes de ríos, ha sido también colectada en recipientes artificiales, agujeros de árboles y en lugares salobres (Faran, 1980).

La parte de laboratorio de este estudio está diseñada para evaluar la interferencia de S. auriculata en el desarrollo de poblaciones de estadios larvarios de An. albimanus. Se aislaron ciertas variables para estimar las causas y grado del efecto inhibitor del helecho acuático. En el campo se verificó el efecto detrimental de S. auriculata y se evaluaron factores ambientales en lagunas naturales con y sin la planta, tratando de detectar diferencias asociadas a S. auriculata.

## II. MATERIALES Y METODOS

### A. Pruebas de sobrevivencia en el laboratorio

Se determinaron varios tratamientos con S. auriculata para evaluar los efectos de la planta en la sobrevivencia de larvas de An. albimanus, diseñándose modelos que aislaran las variables (cuadro 1).

En recipientes de peltre de 19 cm de diámetro y 5 cm de profundidad, se colocaron 50 larvas de An. albimanus de primer estadio. Se usaron 600 ml de agua filtrada "Salvavidas" por recipiente y cada tres días se cambió el agua de todos ellos. La alimentación de las larvas fue con  $0.04 \pm 0.005$  gr diarios de 2/3 de polvo de alimento concentrado para perro y 1/3 de hígado molido, por recipiente, suministrado al agua en forma de suspensión. Todos los recipientes se mantuvieron bajo luz artificial "Gro-lux" durante 12 horas diarias. Se hicieron conteos, cada tres días, de las larvas vivas en cada uno de los tratamientos descritos en el cuadro 1.

En el tratamiento "D" la superficie del agua estaba cubierta al 100% con piezas de espuma de poliestireno de tamaño similar a las hojas aéreas de la planta, flotando sobre el agua. Se estimó el porcentaje de cobertura natural de S.

Cuadro 1. Posibles efectos antilarvarios de Salvinia auriculata en Anopheles albimanus, evaluados en el laboratorio.

T r a t a m i e n t o

Identificación	Recubrimiento de la superficie del agua con:	Efectos evaluados
Descripción		
A	Control (sin <u>S. auriculata</u> )	
B	100% <u>S. auriculata</u>	B, M, Q* } efecto de densidad
C	50% <u>S. auriculata</u>	B, M, Q
D	100% piezas de poliestireno	M (hojas aéreas)
E	100% hojas aéreas de <u>S. auriculata</u>	B, M, Q
F	100% hojas sumergidas de <u>S. auriculata</u>	B, M, Q
G1	100% <u>S. auriculata</u> , recipiente dividido	Q
G2	Control de G1, recipiente dividido	

\* B, Biótico; M, Mecánico; Q, Químico.

auriculata, cubriendo con la planta la superficie de un recipiente con suspensión de polvo fluorescente y observando los espacios libres entre las hojas del helecho con luz ultravioleta.

En el tratamiento "E" había recubrimiento al 100% de la superficie del agua con S. auriculata a la que se le cortaron las hojas sumergidas.

En el tratamiento "F" la superficie del agua estaba recubierta al 100% con plantas de S. auriculata colocadas entre los espacios de una tela metálica elevada de la superficie del agua, de forma que las hojas aéreas de la planta no tuvieran contacto con el agua y sí las sumergidas.

En el tratamiento "G" se usaron recipientes con dos compartimientos, cada uno con capacidad similar a los usados en los tratamientos anteriores. La separación del recipiente se realizó con tela de tul con orificios de aproximadamente 50  $\mu\text{m}$ , que prevenía el paso de larvas. Un lado con la superficie del agua recubierta con S. auriculata y el otro sin la planta, ambos con 50 larvas de primer estadio. Al compartimiento con la planta se le denominó tratamiento G1 y al control, sin el helecho, tratamiento G2.

Cada sistema se replicó tres veces. Las pruebas se realizaron en un insectario a una temperatura promedio de 27°C, mantenida por un termostato y una humedad relativa promedio del 80%.

B. Pruebas de sobrevivencia en el campo

Con el fin de confirmar en el campo los resultados que pudieran hallarse en el laboratorio, se estudió la sobrevivencia larvaria en lagunas naturales.

Se seleccionaron dos lagunas naturales con características de posibles criaderos de An. albimanus. Un estanque con la superficie completamente recubierta con S. auriculata, situado en la finca La Herradura (LH) en el Km 65.5 de la carretera al Puerto de San José. La otra laguna sin S. auriculata, situada en la finca San Bernardo (SB), en el Km 61.6 de la carretera a Mazatenango, ambas fincas en el departamento de Escuintla. Las lagunas están a una altitud de 150 msnm.

A aproximadamente un metro de la orilla, en ambas lagunas, se colocaron jaulas de polietileno (figuras 2 y 3) que permitían intercambio de agua entre el interior de las mismas y el estanque por medio de ventanas de tela de tul, con orificios de aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  y en las que se introdujeron 100 larvas de An. albimanus de primer estadio en cada una. Las jaulas estaban, en su parte superior, cerradas con la misma tela de tul para evitar oviposición y flotaban en las lagunas por medio de piezas de poliestireno. Se hicieron conteos de sobrevivencia después de 7 y 14 días. Las jaulas estaban en pares con y sin recubrimiento de la superficie del agua interior con S. auriculata. Tres pares en la laguna con S. auriculata

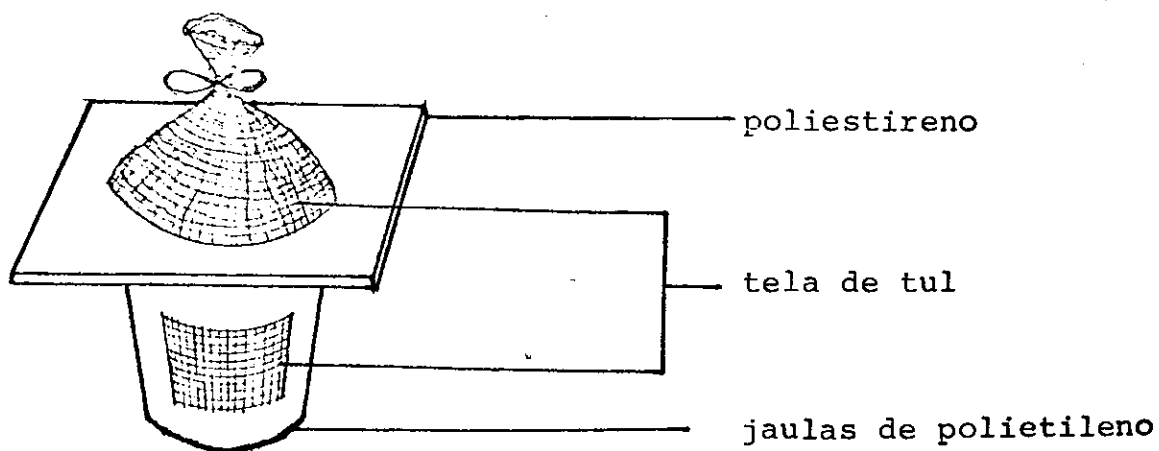


Figura 2. Diseño de jaula para estimar sobrevivencia de larvas de Anopheles albimanus en el campo.

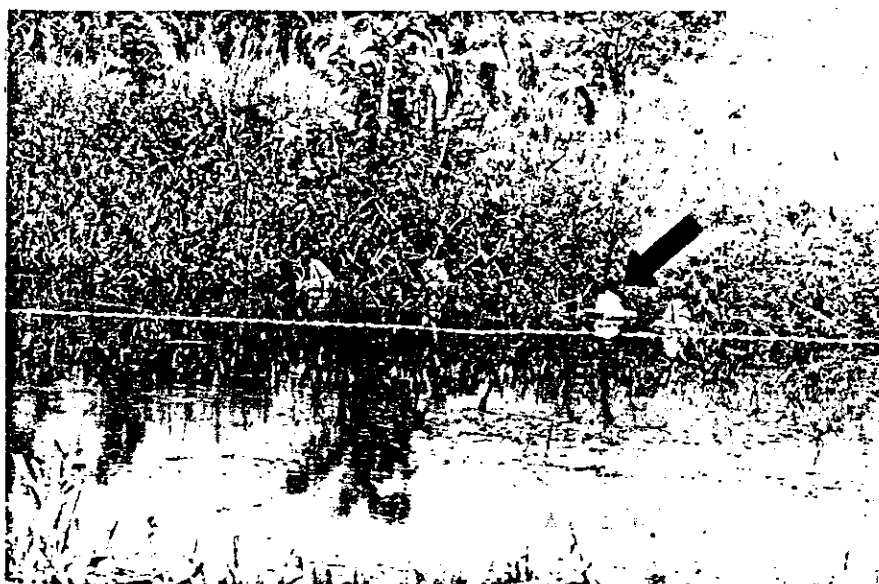


Figura 3. Jaulas para estimar sobrevivencia de larvas de Anopheles albimanus en el campo. Laguna de la finca San Bernardo, Dpto. de Escuintla.

(finca La Herradura) y tres pares en la otra sin la planta (finca San Bernardo).

C. Estudio comparativo de factores ambientales de dos lagunas naturales.

La influencia de posibles factores ambientales limitantes de la sobrevivencia de larvas de An. albimanus, fue evaluada con medición de los siguientes factores en la lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo:

1. Estimación del tamaño del criadero
2. Se tomó la temperatura del agua en la superficie, donde la profundidad del agua era de aproximadamente 50 cm. Se midió en 10 puntos en cada laguna y en dos fechas.
3. Factores químicos
  - 3.1. pH
  - 3.2. Nitratos y fosfatos: se usó la prueba de nitratos por el método de reducción de cadmio y de fosfatos por el método del ácido ascórbico. Fueron evaluados con un equipo Bausch & Lomb de análisis de agua por espectrofotometría.
  - 3.3. Oxígeno disuelto: se utilizó un medidor de oxígeno YSI modelo 51B.

Todas las mediciones se realizaron en 10 puntos en cada laguna y en tres fechas para pH, nitratos y oxígeno disuelto y en dos fechas para fosfatos.

#### 4. Factores bióticos.

4.1. Densidad bacteriana del agua: se hicieron recuentos aeróbicos en placa de acuerdo con el método descrito en American Public Health Association (1976) (apéndice A). De cada muestra se realizaron tres diluciones, cada una de las cuales se replicó tres veces. Los resultados fueron computados como Unidades Formadoras de Colonia (UFM) por mililitro.

4.2. Densidad fitoplanctónica: se evaluó por el método de determinación de clorofila a por espectrofotometría, descrito en American Public Health Association (1976) (apéndice B). Para detectar con mayor precisión las bajas concentraciones, se usó un espectrofotómetro Perkin-Elmer, UV-VIS, modelo 570.

En cada laguna se tomaron diez muestras de agua en una sola fecha.

5. Densidad de larvas de An. albimanus y Aedeomyia squamipennis: la medición consistió en muestreos cada aproximadamente 1.5 metros alrededor de cada laguna, con un recipiente plástico de 350 ml de capacidad, contando las larvas que de ambas especies contenía en cada muestreo. Las mediciones se hicieron hasta cubrir el perímetro completo de cada laguna y en tres fechas diferentes.

#### D. Pruebas de toxicidad

La posibilidad de existencia de compuestos antilarvarios en S. auriculata se evaluó estudiando la sobrevivencia de larvas de An. albimanus bajo el efecto de extractos de la planta.

En los recipientes de peltre descritos en la sección A, se introdujeron 50 larvas de primer estadio de An. albimanus en las siguientes condiciones: cuatro recipientes con extracto de Salvinia en metanol, cuatro con extracto de Salvinia en cloroformo y cuatro con extracto de Salvinia en agua, todos con una concentración de 1000 ppm y cuatro recipientes control con agua. Después de 3, 7 y 10 días, se hicieron conteos de sobrevivencia. Las larvas fueron alimentadas con la misma suspensión descrita en la sección A. Los extractos se dejaron expuestos al ambiente antes de hacer las diluciones, para que se evaporasen los residuos de metanol y cloroformo que pudieran contener. Por estimarse que los extractos estaban libres de estas sustancias, no se usó controles de ellas.

### III. RESULTADOS

#### A. Pruebas de sobrevivencia en el laboratorio

Se obtuvieron datos de sobrevivencia después de 3, 7, 10, 13 y 17 días para los diferentes tratamientos. En el cuadro 2 se tabulan los valores de las medias y desviaciones estándar y las gráficas de estos datos se presentan en las figuras 4 y 5. Los datos sin procesar se detallan en el apéndice C.

Para normalizar la distribución y a la vez estabilizar las varianzas, los datos fueron transformados, utilizándose la raíz cuadrada como transformación, por tratarse de recuentos, según sugerido en Sokal y Rohlf (1980). La efectividad de la transformación fué evaluada con la prueba de Homogeneidad de Varianzas de Bartlett con la modificación para grados de libertad menores de cinco, descrita en Pearson y Hartley (1962). Los valores de M (estadístico de Bartlett) para los conteos de 7 y 13 días no son significativos al 95% (cuadro 3) lo que indica la homogeneidad de las varianzas y la factibilidad de aplicar el análisis de varianza, que resultó significativo para ambos tiempos ( $p < 0.01$ ) (cuadro 3). Para los dos primeros períodos de 3 y 7 días, se presenta el problema de varianzas cero en el tratamiento control y en la prueba de Barlett se usa los logaritmos de las varianzas. El problema se solventó convirtiendo estas varianzas a valores tendien

Cuadro 2. Supervivencia de larvas de Anopheles albimanus a través del tiempo, bajo diferentes tratamientos de laboratorio con Salvinia auriculata. Los datos se presentan como media  $\pm$  desviación estándar.

Tiempo (días)	T r a t a m i e n t o s (1)									
	A	B	C	D	E	F	G1	G2		
0	50±0	50±0	50±0	50±0	50±0	50±0	50±0	50±0		
3	50±0	26±4.78	40±6.37	41±1.25	43±0.82	36±4.11	20±0	46±1.70		
7	50±0	14±7.41	34±5.44	32±1.25	31±2.94	14±8.18	13±2.83	37±7.59		
10	49±0.47	11±4.97	30±7.12	31±2.45	23±2.05	9±6.24	9±2.05	37±7.59		
13	48±0.47	7±2.50	25±6.60	31±2.45	17±3.30	6±5.10	5±3.30	35±9.74		
17	47±1.41	4±0.47	22±7.85	26±4.03	9±6.60	- *	- *	34±9.09		

(1) Tratamientos:

A, Control. Recubrimiento de la superficie del agua con: B, 100% S. auriculata; C, 50% S. auriculata; D, 100% piezas de poliestireno; E, S. auriculata, hojas aéreas; F, 100% S. auriculata, hojas sumergidas; G1, 100% S. auriculata en recipiente dividido; G2, Control de G1.

\* A esta fecha la totalidad de las larvas sobrevivientes habían empupado.

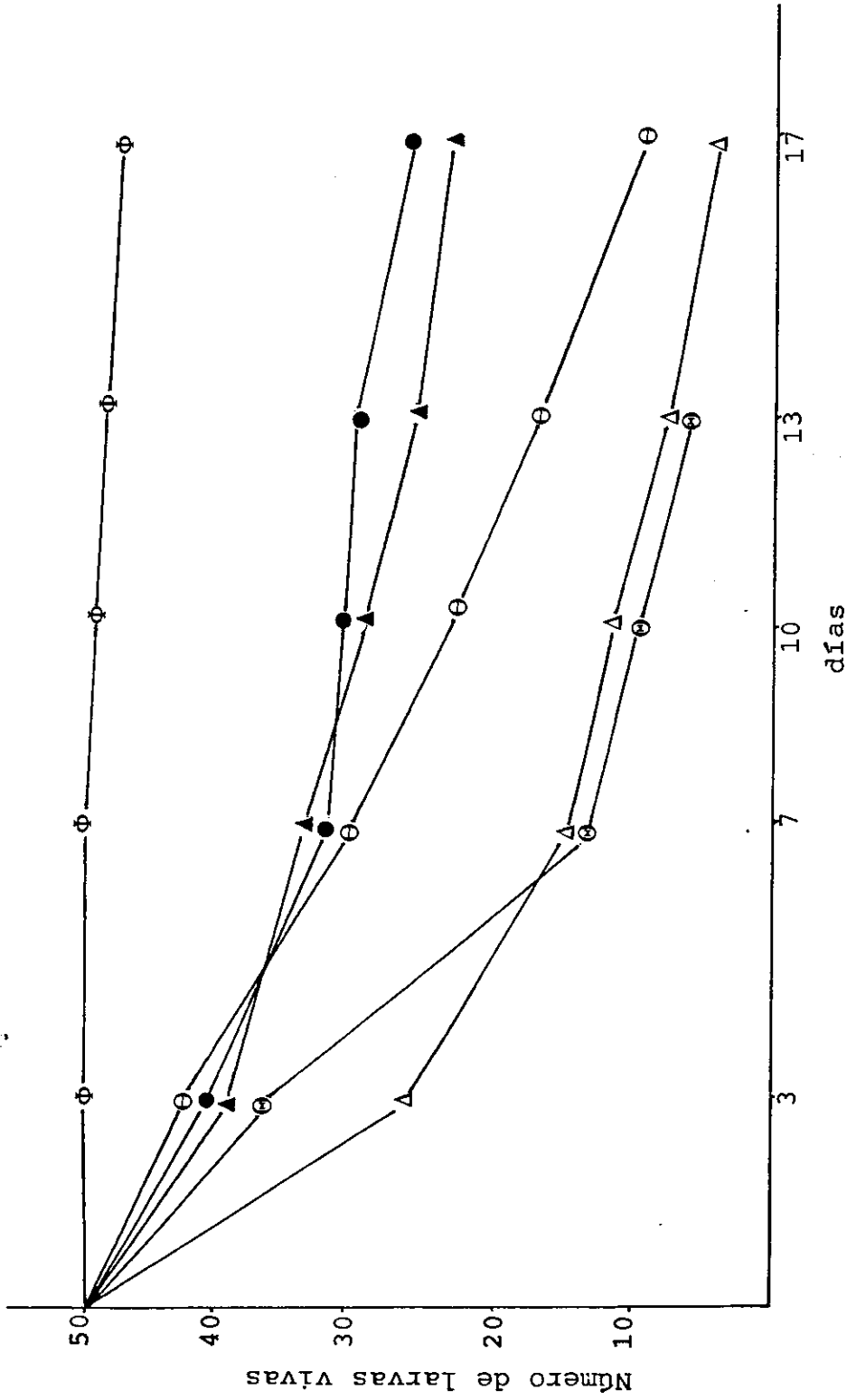


Figura 4. Número de larvas de Anopheles albimanus sobrevivientes por tiempo, bajo diferentes tratamientos: Φ control. Recubrimiento de la superficie del agua con: ▲ 100% Salvinia auriculata; ● 50% S. auriculata; ● 100% piezas de poliestireno; ⊕ 100% S. auriculata hojas aéreas; ⊕ S. auriculata, hojas sumergidas.

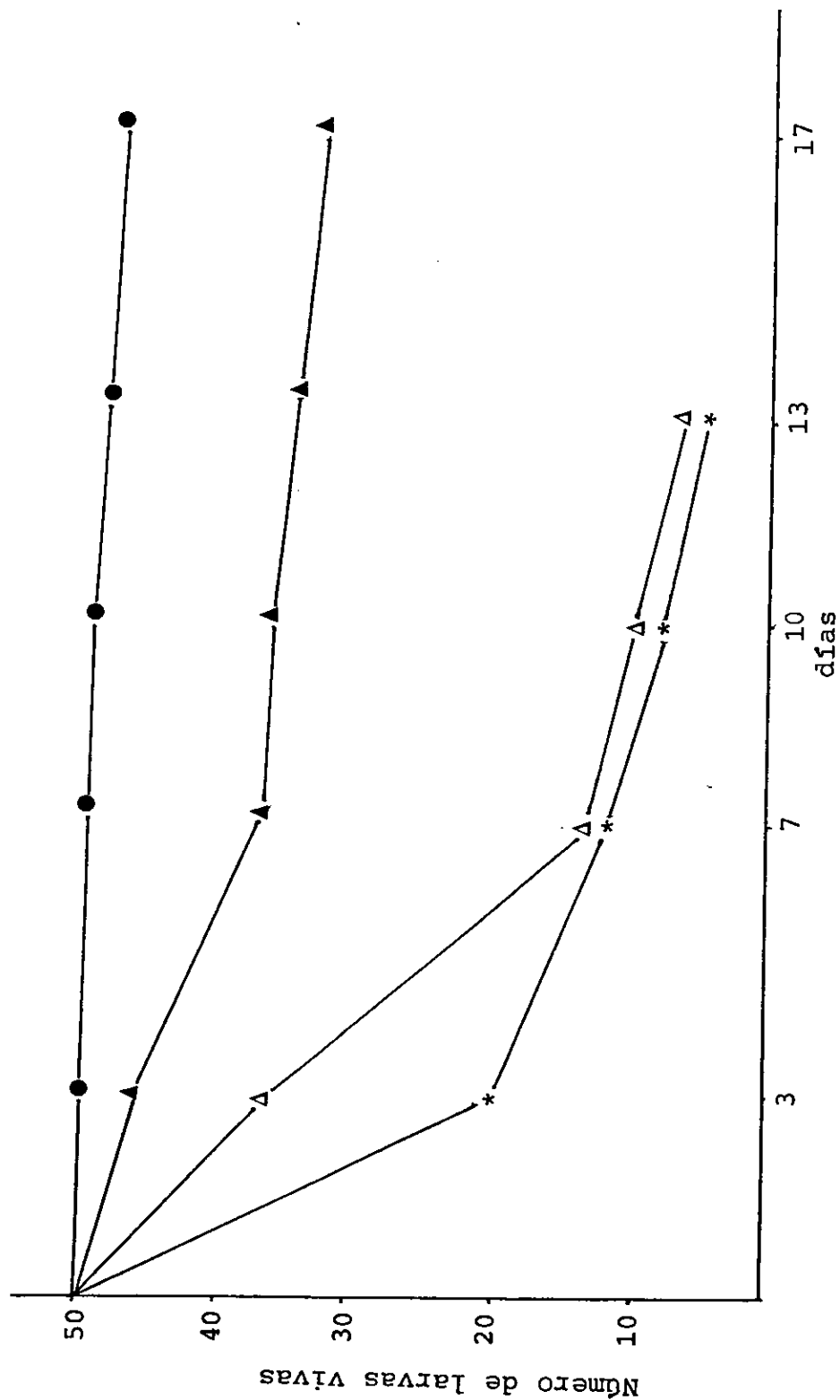


Figura 5. Número de larvas de *Anopheles albimanus* sobrevivientes por tiempo, bajo diferentes tratamientos: ● Control. Recubrimiento de la superficie del agua con: △ 100% *S. auriculata*; \* 100% *S. auriculata* en recipiente dividido; ▲ Control del recipiente dividido.

Cuadro 3. Análisis de Varianza de clasificación simple, con réplica, en trans-  
 formación raíz cuadrada y prueba de Homogeneidad de Varianza de Bartlett,  
 de la sobrevivencia de larvas de Anopheles albimanus, por tiempos y bajo  
 diferentes tratamientos con Salvinia auriculata.

Tiempo (días)	Prueba de Bartlett		Análisis de Varianza		
	M <sup>(1)</sup>	Probabilidad con k=8	gl (2)	F	Probabilidad
3	90.66	0.05 < p			
7	51.35	0.05 < p			
10	11.75	NS <sup>(3)</sup>	23	10.4908	p < 0.01
13	12.56	NS	23	15.8217	p < 0.01

(1) Estadístico de Bartlett  
 (2) Grados de libertad totales  
 (3) No significativo a 95%

tes a cero y se usaron cifras de  $10^{-10}$ . Las varianzas en ambos tiempos son heterogéneas (cuadro 3).

Al no cumplirse los supuestos del análisis de varianza y no poderse usar éste para estos datos, se desarrolló la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Marascuilo y Mc Sweeney, 1977), sensible a diferencias de medias intertratamientos. Los valores del estadístico  $H^*$  fueron de 3.6003 y 7.77 para los 3 y 7 días, respectivamente; ambos no significativos al 95%.

En resumen, se pudo evaluar el efecto de los diferentes tratamientos con S. auriculata en la sobrevivencia de larvas, para los conteos realizados a los 10 y 13 días y no para los 3 y 7 días. No se analizó el conteo de 17 días puesto que en los tratamientos F (hojas sumergidas de S. auriculata) y G1 (100% S. auriculata en recipiente dividido), a los 13 días la totalidad de individuos de An. albimanus que quedaban vivos habían empupado, con lo cual quedaba finalizada la etapa de sobrevivencia larvaria.

La razón F significativa, solo informa de una diferencia global entre grupos. Para detectar entre qué tratamientos la diferencia de valores de sobrevivencia era significativa, se desarrolló la prueba de Comparación Múltiple de Medias de Tukey, en base a los valores transformados a raíz cuadrada (cuadro 4). Entre qué pares la diferencia es significativa, se muestra en los cuadros 5 y 6.

Cuadro 4. Sobrevivencia de larvas de Anopheles albimanus después de 10 y 13 días bajo diferentes tratamientos de laboratorio con Salvinia auriculata. Los datos han sido transformados a raíz cuadrada y se dan como medias de tres réplicas.

Tratamiento *	Tiempo (días)	
	10	13
A	6.85	6.90
B	3.20	2.66
C	5.43	4.92
D	5.56	5.56
E	4.82	4.06
F	2.77	2.20
G1	2.95	2.00
G2	6.07	5.88

\* Tratamientos: A, Control. Recubrimiento de la superficie del agua con: B, 100% S. auriculata; C, 50% S. auriculata; D, 100% piezas de poliestireno; E, S. auriculata, hojas aéreas; F, 100% S. auriculata, hojas sumergidas; G1, 100% S. auriculata en recipiente dividido; G2, Control de G1.

Cuadro 5. Resultados de la prueba de Comparación Múltiple de Medias de Tukey, para los datos de sobrevivencia de larvas de Anopheles albimanus, bajo diferentes tratamientos con Salvinia auriculata, después de 10 y 13 días. Datos transformados a raíz cuadrada (cuadro 3). Se encuadran las diferencias significativas al 95%.

5.1. Tabla de diferencias de medias ordenadas  
Después de 10 días. DSH\*=2.35

	B	C	D	E	F	G1	G2
A	3.65	1.42	1.29	2.03	4.08	3.90	0.78
B		2.23	2.36	1.62	0.43	0.25	2.87
C			0.13	0.61	2.66	2.48	0.64
D				0.74	2.79	2.61	0.51
E					2.05	1.87	1.25
F						0.18	3.30
G1							3.12

5.2. Tabla de diferencias entre medias ordenadas  
Después de 13 días. DSH\*=2.27

	B	C	D	E	F	G1	G2
A	4.24	1.98	1.34	2.84	4.70	4.90	1.02
B		2.26	2.90	1.40	0.46	0.66	3.22
C			0.64	0.86	2.72	2.92	0.95
D				1.50	3.36	3.56	0.32
E					1.86	2.06	1.82
F						0.20	3.68
G1							3.88

Tratamientos: A, Control. Recubrimiento de la superficie del agua con: B, 100% S. auriculata; C, 50% S. auriculata; D, 100% piezas de poliestireño; E, 100% S. auriculata, hojas aéreas; F, 100% S. auriculata, hojas sumergidas; G1, 100% S. auriculata en recipiente dividido; G2, Control de G1.

DSH\*= Diferencia significativa honesta, Estadístico de Tukey.

Cuadro 6. Tratamientos de Salvinia auriculata con larvas de Anopheles albimanus, con sobrevivencia significativamente diferente. Analizado con la prueba de Comparación Múltiple de Medias de Tukey.

Número de resultado	Comparación entre pares de Sobrevivencia:	Significancia en los conteos a los días:	Interpretación
1	A > B	10 y 13	*
2	A > F	10 y 13	*
3	A > G1	10 y 13	Confirma resul. 1
4	B < D	10 y 13	*
5	B < G2	10 y 13	Confirma resul. 1
6	C > F	10 y 13	*
7	C > G1	10 y 13	Confirma resul. 4
8	D > F	10 y 13	*
9	D > G1	10 y 13	Confirma resul. 5
10	F < G2	10 y 13	Confirma resul. 3
11	G1 < G2	10 y 13	*
12	A > E	13	*

Tratamientos: A, Control. Recubrimiento de la superficie del agua con: B, 100% S. auriculata; C, 50% S. auriculata; D, 100% piezas de poliestireno; E, 100% S. auriculata, hojas aéreas; F, 100% S. auriculata, hojas sumergidas; G1, 100% S. auriculata en recipiente dividido; G2, Control de G1.

\* Se interpreta en la sección de Discusión.

### B. Pruebas de sobrevivencia en el campo

Se desarrolló un análisis de varianza de clasificación simple con repetición, para los resultados de sobrevivencia después de 7 días en las jaulas con S. auriculata en las dos lagunas en estudio, siendo el valor de F no significativo al 95%. La mortalidad fue del 100% en las jaulas con recubrimiento del helecho, en las dos lagunas. El cuadro 7 muestra los resultados de la sobrevivencia de larvas de An. albimanus en las lagunas de La Herradura y San Bernardo. Para los conteos de los 14 días, se computaron como sobrevivientes las larvas, pupas y adultos del interior de las jaulas. Se registraron solo los conteos de dos jaulas sin S. auriculata después de 14 días en la laguna de San Bernardo, puesto que la tercera jaula fue arrastrada por la corriente.

### C. Estudio de lagunas naturales

La laguna de la finca La Herradura es un cuerpo de agua de 0.45 m de profundidad promedio a una distancia aproximada de medio metro de la orilla, con un perímetro de 167 m, rodeado por Gramineae y Heliconeaceae y con la superficie completamente recubierta por S. auriculata (figura 6). El estanque de la finca San Bernardo tiene un perímetro de 194 m y 0.41 m de profundidad promedio, también rodeado de gramíneas pero de menor altura (figura 7).

Los datos de los factores ambientales que se evaluaron en

Cuadro 7. Sobrevivencia de larvas de primer estadio de Anopheles albimanus en las lagunas de La Herradura y San Bernardo, en jaulas con y sin recubrimiento de Salvinia auriculata. Los datos se expresan como  $\text{media} \pm \text{desviación estándar}$ .

Diseño experimental	Sobrevivencia promedio *	
	La Herradura (laguna con <u>S. auriculata</u> )	San Bernardo (laguna sin <u>S. auriculata</u> )
1. Jaulas con la superficie del agua sin <u>S. auriculata</u>		
1.1 Después de 7 días		
1.1.1 Primera fecha	23 ± 6	34 ± 6.6
1.1.2. Segunda fecha	38 ± 10.2	58 ± 14.5
1.2 Después de 14 días (+)		
1.2.1 Primera fecha	7 ± 4.1	9 ± 7.6
1.2.2 Segunda fecha	7 ± 1.7	5 ± 0 **
2. Jaulas con la superficie del agua recubierta con <u>S. auriculata</u> .		
Después de 7 días		
2.1 Primera fecha	0 ± 0	0 ± 0
2.2 Segunda fecha	0 ± 0	0 ± 0

\* Promedio de 3 jaulas con 100 larvas cada una al inicio

\*\* " " 2 " 100 " " " "

(+) Incluye sobrevivencia de larvas, pupas y adultos.



Figura 6. Vista parcial de la laguna de la finca La Herradura, con la superficie recubierta con S. auriculata.



Figura 7. Vista parcial de la laguna de la finca San Bernardo.

tres fechas (con excepción de los fosfatos, que únicamente se pudieron medir en dos fechas) fueron transformados a logaritmos y se aplicó la prueba de Homogeneidad de Varianzas de Bartlett, dando en todos los casos significativa, es decir, los datos presentan varianzas heterogéneas, por lo cual se analizaron los valores, entre lagunas, independientemente para cada fecha de muestreo con la prueba de Comparación de Medias t de Student. El análisis estadístico, medias y desviaciones estandard, se encuentran resumidos en el cuadro 8. Los datos sin procesar están detallados, para las dos lagunas, en: apéndice D, concentraciones de nitratos y fosfatos; apéndice E, concentraciones de oxígeno disuelto; apéndice F, valores de pH; apéndice G, concentraciones de clorofila a; apéndice H, densidad bacteriana.

La temperatura de la superficie del agua se tomó el 2.X.1981 a las 10 horas en la laguna de La Herradura y a las 13 horas en la de San Bernardo y respectivamente al contrario el 9.X.1981. Se promediaron los datos de los dos días para cada estanque para minimizar el efecto de la hora. Los promedios y resultados de la diferencia de medias, se detallan en el cuadro 8.

La densidad bacteriana y fitoplactónica, ambas en base a muestreos de una sola fecha y con un intervalo de una hora entre lagunas, no son significativamente diferentes entre estanques (cuadro 8).

Cuadro 8. Factores ambientales de las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo

	La Herradura (laguna con <u>S. auriculata</u> )			San Bernardo (laguna sin <u>S. auriculata</u> )			Comparación entre lagunas	
	N	$\bar{X}$	DE	N	$\bar{X}$	DE	t	Probabilidad
Nitratos N(NO <sub>3</sub> ), $\mu\text{g l}^{-1}$								
25.IX.1981	7	123.7	88.3	10	573	239.5	4.22*	< 0.001
2.X.1981	8	168.7	143.1	8	639	104.5	5.38*	< 0.001
9.X.1981	10	104.8	36.7	9	674	291.0	5.91*	< 0.001
Fosfatos P(PO <sub>4</sub> ), $\mu\text{g l}^{-1}$								
25.IX.1981	10	8.7	4.8	10	5.7	1.4	0.26*	NS
9.X.1981	10	11.8	6.7	10	6.5	1.7	1.50*	NS
Oxígeno disuelto, ppm								
25.IX.1981	10	0.42	0.43	10	6.94	0.93	20.20	< 0.001
2.X.1981	10	0.36	0.26	10	2.73	2.21	3.37	0.005 < p < 0.0
9.X.1981	10	0.20	0.12	10	2.76	1.78	4.52	0.001 < p < 0.0
pH								
25.IX.1981	10	6.82	0.55	10	7.71	0.83	2.81	0.025 < p < 0.0
2.X.1981	10	7.01	0.39	10	7.36	0.47	1.80	NS
9.X.1981	10	6.74	0.34	10	6.90	0.60	0.87	NS
Temperatura del agua en la superficie, °C	20	26.4	0.76	20	28.1	1.76	3.90	< 0.001
Densidad bacteriana del agua en la superficie, x10 <sup>4</sup> UFC** ml <sup>-1</sup>	10	2.12	2.9	8	4.35	1.4	1.94	NS
Clorofila <u>a</u> , $\mu\text{g l}^{-1}$	10	3.26	2.52	9	1.68	1.16	1.71	NS

N: número de muestras;  $\bar{X}$ : media; DE: desviación estandar; t: valores de t de Student (dos colas);

NS: no significancia estadística al 95%;

\*: datos transformados a logaritmo

\*\* : UFC= Unidades formadoras de colonias

Se calculó la densidad larvaria de An. albimanus por 1000 litros de agua de las lagunas, extrapolando estos valores de los conteos de larvas totales/litros de agua muestreada. Debido al limitado número de réplicas los datos no se pudieron analizar estadísticamente. Sin embargo se observa en el cuadro 9, una tendencia de menor densidad larvaria de An. albimanus y mayor de Aedeomyia squamipennis en la laguna de La Herradura y respectivamente al inverso para la laguna de San Bernardo.

#### D. Pruebas de toxicidad

La sobrevivencia, después de 3, 7 y 10 días, tanto para las larvas sometidas a los extractos de Salvinia como para los controles, fue del 100%.

Cuadro 9. Densidad larvaria de Anopheles albimanus y Aedeomyia squamipennis en las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo.

	* La Herradura (laguna con <u>S. auriculata</u> )			San Bernardo (laguna sin <u>S. auriculata</u> )		
	A*	B*	C*	A*	B*	C*
Número de muestras**	86	77	74	79	85	78
Litros de agua muestreados en la laguna.	30	27	26	28	30	27
Número de larvas de <u>An. albimanus</u> detectadas.	1	1	1	16	31	21
Número de larvas de <u>Aedeomyia squamipennis</u> detectadas.	16	8	10	9	4	0
Densidad de <u>An. albimanus</u> x 1000 litros de agua.	33	37	38	571	1033	1148
Densidad de <u>Aedeomyia squamipennis</u> x1000 litros de agua.	535	296	385	321	129	0

\* Fechas de muestreo: A, 25.IX.1981; B, 2.X.1981; C, 9.X.1981.

\*\* Muestras tomadas con un recipiente de 350 ml de capacidad

#### IV. DISCUSION

La comparación con lagos tropicales de los resultados de parámetros ambientales y bióticos de los estanques estudiados, es de relativa significancia debido al área reducida de éstos; la extensión repercute obviamente en las características del cuerpo de agua. De cualquier manera la comparación permite hacer algunas observaciones de interés.

El criterio de comparación utilizado para tener una estimación de los rangos de los valores hallados, fueron los estudios realizados en el lago George de Uganda por Burgis et al. (1973) y Viner y Smith (1973) y que si bien tiene una extensión de  $245 \text{ Km}^2$ , la profundidad de este lago es de 2.4 m, promedio. En Guatemala Weiss (1971) realizó un estudio completo del lago de Amatitlan, un cuerpo de agua de  $15.35 \text{ Km}^2$ , altamente eutroficado. Se comparan los valores de las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo con ambos trabajos y con estudios de lagunas en zonas templadas.

La concentración de nitrógeno en forma de nitratos en la lagunas de La Herradura, con un rango de medias de 104.8 a  $168.7 \mu\text{g l}^{-1}$ , es significativamente menor al de la laguna de San Bernardo que con un rango de 573 a  $674 \mu\text{g l}^{-1}$ , supera la

media de  $533 \mu\text{g l}^{-1}$  del lago George y está más pronunciadamente por encima del rango reportado para el lago de Amatitlan de  $10$  a  $50 \mu\text{g l}^{-1}$ . Para fósforo en forma de fosfatos, en el lago George se reporta un rango de  $2.5$  a  $215 \mu\text{g l}^{-1}$  y en el lago de Amatitlan de  $1$  a  $35 \mu\text{g l}^{-1}$ , con una media de  $15.24 \mu\text{g l}^{-1}$ . Para la laguna de Linsley, Connecticut, la media de valores obtenidos a través de 1937-1939 es de  $2 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hutchinson, 1957). Los valores encontrados, con medias de  $11.8$  a  $8.7 \mu\text{g l}^{-1}$  y de  $5.7$  a  $6.5 \mu\text{g l}^{-1}$  en la Herradura y San Bernardo, respectivamente, están dentro de los rangos reportados para fosfatos y éstos no parecen ser limitantes en las lagunas en estudio.

Los nitratos son componentes de fertilizantes agrícolas, al igual que los fosfatos y éstos últimos además de detergentes. Insumos irregulares por estos factores, pueden ser la causa de la variación interfechas encontradas en ambas lagunas. Asimismo, son comunes oscilaciones temporales en las concentraciones de estos compuestos en los cuerpos de agua.

Los compuestos inorgánicos analizados en los estanques, nitratos y fosfatos, fueron seleccionados por ser éstos los nutrientes que, más que otro factor, limitan las cantidades fitoplanctónicas que pueden desarrollarse en cualquier agua. La fuente de alimento más usual de la mayoría de larvas de mosquitos son microorganismos, particularmente bacterias, levaduras y protozoos y en general cualquier material con un tamaño

ño de partículas adecuado (Bates, 1949). Es notable el consumo de fitoplancton en la dieta de larvas de An. albimanus; el uso de sulfato de cobre como alguicida en los criaderos de la zona costera de Guatemala ha sido positivo en reducir las densidades larvarias de An. albimanus (P. Molina, com. per.).

Interesaba la densidad fitoplanctónica como potencial alimento de las larvas de An. albimanus. Los valores de clorofila a, de  $3.26 \mu\text{g l}^{-1}$  en La Herradura y de  $1.68 \mu\text{g l}^{-1}$  en San Bernardo, son bajos comparados con las altas concentraciones del lago George, con un rango de 150 a  $350 \mu\text{g l}^{-1}$  de clorofila a (Burgis et al., 1973). Pero no todos los lagos tropicales tienen estas concentraciones tan altas, por ejemplo, las concentraciones de clorofila a en las áreas abiertas del lago Victoria, en Africa del Este, raramente exceden de  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Burgis et al., 1973).

Ni los nitratos, ni los fosfatos parecen ser limitantes en los dos estanques en estudio. Los bajos niveles de clorofila a encontrados pueden estar asociados a la época de lluvia en que se hicieron las mediciones; la precipitación puede influir en la dilución de las concentraciones.

La densidad de bacterias totales es doble en el estanque de San Bernardo respecto al de La Herradura; sin embargo, la diferencia no es estadísticamente significativa y, aunque las bacterias pueden considerarse como alimento potencial de lar-

vas de mosquitos, este parámetro no puede tomarse como decisivo en este estudio, en base a los resultados hallados.

A pesar de que el desarrollo de anofelinos está en relación con la temperatura, ésta no juega un papel importante en la selección del lugar de cría por la hembra. No obstante, la temperatura del agua puede tener otros efectos en los criaderos, tanto en la flora y fauna, como contenido de oxígeno y tasa de descomposición de materia orgánica. Las temperaturas del agua encontradas en los estanques, no son, en todo caso, extremas. Se reporta para Anopheles minimus Theobald, un punto de mortalidad térmica de 42°C para el cuarto estadio, que es el menos resistente de los instares larvarios (Muirhead-Thomson, 1951).

Como era de esperar, los valores de pH están dentro de los extremos comunmente reportados para criaderos de mosquitos. Woodhill (1938) cita que el crecimiento de Culex fatigans solo se retrasa cuando el rango de pH sobrepasa los valores de 4.2 a 9. Entonces este factor no es determinante de diferencias entre los estanques en estudio.

El rango de valores de oxígeno disuelto de la laguna de San Bernardo, con 2.73 a 6.94 ppm, es algo reducido si se compara con otros estanques. Shelford (1911) estudió una serie de estanques al sur del lago Michigan, donde encontró valores de oxígeno disuelto con rangos de 4.68 a 7.44 ppm y media de 6.58 ppm, en muestras tomadas a 10-12 cm bajo la super

ficie del agua. En esta comparación hay que considerar que los cuerpos de agua tropicales, por mantener temperaturas más altas, se saturan con concentraciones de oxígeno menores a las solubles en lagos templados. Asimismo, en la capacidad de disolución de gases en agua, interviene también el tipo de sedimentos, ya que a mayor cantidad de moléculas disueltas, menor oportunidad de solución de oxígeno.

La concentración de oxígeno en la laguna de San Bernardo es significativamente mayor que en la de La Herradura, que solamente tiene un 2.5 a 5% de saturación, lo cual sugiere un ambiente inadecuado para el desarrollo larvario. Se han reportado concentraciones de oxígeno en agua que limitan la sobrevivencia de larvas de mosquitos, como 3-4 ppm para el cuarto estadio larvario de Anopheles argyritarsis (Horsfall, 1972). Un ambiente acuático con reducido contenido de oxígeno, puede afectar indirectamente el desarrollo larvario de mosquitos, como cambios ecológicos asociados a esta condición. Muestreos cuantitativos de fitoplancton en los criaderos, podría detectar especies de algas ausentes en alguna de las dos lagunas, pudiéndose pensar en algas que suministrasen nutrientes esenciales para la dieta de mosquitos. Dadd (1980) detectó varias especies de mosquitos cuyas larvas eran dependientes del ácido araquidónico en su dieta, para poderse desarrollar normalmente. Estudios nutricionales han definido y cuantificado todos los nutrientes requeridos por Culex pipiens

siendo la asparagina y el ácido araquidónico esenciales para mosquitos, pero no para otros insectos. Por el contrario, S. auriculata podría no inhibir sino que favorecer el crecimiento de ciertas especies de algas detritales para el crecimiento de larvas de Culicidae. Hwang y Mulla (1980) encontraron que las algas Rizoclonium hieroglyphicum y Chlorella ellipsoidea son tóxicas para larvas de mosquitos y retardan su desarrollo, siendo la mortalidad larvaria dependiente de la densidad del alga.

A pesar de que el ambiente cercano a la anoxicidad no solo lo puede proveer la superficie del agua completamente cubierta con el helecho, Holm et al., (1977) citan que S. auriculata recubre tan compactamente la superficie que rápidamente reduce el contenido de oxígeno debajo de la planta. Mediciones realizadas en el lago Kariba mostraron un rango de 4.4 a 6.9 ppm de oxígeno disuelto en agua abierta, pero sólo de 0.64 a 0.66 ppm, respectivamente en la superficie y a un metro debajo de la planta. La reducida concentración de oxígeno en el agua, puede ser usada por la materia orgánica en descomposición.

El recubrimiento de la superficie del agua con S. auriculata es efectivo como controlador del desarrollo de larvas de An. albimanus, según se desprende del resultado 1, cuadro 6. Apoya esta afirmación la mortalidad absoluta de larvas en la experimentación de campo con jaulas recubiertas en su agua inte

rior con el helecho. Nótese que se habla de recubrimiento completo, la interfase agua-aire parcialmente interferida con S. auriculata, no es una alternativa antilarvaria. El tratamiento C (50% de S. auriculata en la superficie) no presenta mortalidad significativamente diferente del control.

Una vez sugerido que S. auriculata tiene un efecto nocivo en el desarrollo de larvas de An. albimanus, la etapa siguiente es discernir cuál es el efecto.

Una sustancia química, toxinas u otra con propiedad antilarvaria, liberada o presente en la planta, hubiera sido detectada en el tratamiento G (recipiente dividido), ya que ésta se hubiera difundido en todo el agua del recipiente y la sobrevivencia en las dos subdivisiones hubiera sido similar.

El resultado 11, cuadro 6, sugiere que las supuestas sustancias químicas no existen, o no son difundibles, ya que la mortalidad larvaria fue mayor en la división cubierta con S. auriculata (G1).

Los valores de sobrevivencia del 100% en las pruebas con extractos del helecho, también sugieren ausencia de sustancias activas larvicidas. Sin embargo, cabe pensar en posible inactivación de las potenciales toxinas por el procesamiento de la planta, o uso de solventes inadecuados para su extracción.

Una evidencia más relacionada a la hipótesis de ausencia de sustancias tóxicas, está en las pruebas de sobrevivencia de las larvas en las jaulas de las lagunas. A pesar de que la mortalidad fue total en los dos estanques cuando la superficie del agua en las jaulas estaba recubierta con S. auriculata, el número de larvas muertas, cuando la planta estaba ausente, no era significativamente diferente entre las dos lagunas. Ya que el agua del interior de las jaulas estuvo en contacto con la del resto de la laguna, esto sugiere, de nuevo, que el efecto químico no es, o no es el principal, efecto antilarvario de S. auriculata. Sin embargo, los supuestos compuestos antilarvarios pudieran tener un efecto solamente en ciertas condiciones ambientales, como por ejemplo, a bajas concentraciones de oxígeno disuelto. Tales compuestos pudieran estar relacionados a productos de descomposición. Se evaluó únicamente la existencia de sustancias químicas libres en el agua; sin embargo las moléculas pudieran estar fijadas a la planta y ser efectivas como larvicidas solamente por contacto directo con las larvas.

Hay que considerar la posibilidad de que el efecto químico estuviera asociado a otro, se sugiere mecánico, en cuyo caso no hubiera sido detectado en el tratamiento de laboratorio "G" (recipiente dividido). Un diseño experimental triple, con una división con recubrimiento de S. auriculata, otra con piezas de poliestireno y una tercera control, podría evaluar la alternativa de efecto químico y mecánico combinado.

La simulación, por medio de piezas de poliestireno, de las hojas aéreas de S. auriculata para evaluar posible interferencia mecánica de éstas, sugiere que ésto no es un factor antilarvario. El resultado 4, cuadro 6, en donde la sobrevivencia es menor en la superficie recubierta con el helecho que con el diseño de poliestireno, lleva a esta conclusión. Igualmente del cuadro 6, resultado 2, se desprende otra conclusión: al ser significativa la diferencia de medias entre el control y el tratamiento con agua recubierta con hojas sumergidas de la planta (tratamiento F) y no entre el control y las hojas aéreas de S. auriculata (tratamiento E), se plantea que las hojas sumergidas del helecho, más que las aéreas, contribuyen a disminuir la sobrevivencia de las larvas de An. albimanus. Se apreció durante el trabajo que las hojas sumergidas de S. auriculata se desprenden en el agua, contribuyendo a que en ésta aumente el contenido de material vegetal en descomposición, lo cual puede contribuir a reducir el oxígeno en el agua. Asimismo, las hojas sumergidas de S. auriculata están muy divididas y poseen abundantes pelos (figura 1b), formando una espesa capa de aproximadamente 3 cm de grosor que pudiera interferir con la necesidad que tienen los estadios juveniles de An. albimanus de desplazarse a la superficie para obtener el oxígeno del aire. Podría pensarse en un consumo mayor de energía por parte de las larvas al aumentar el número de desplazamientos hacia la superficie, algunos

de los cuales pudieran ser sin éxito en llegar a ella, o incluso que murieran antes de conseguir el oxígeno aéreo.

Un elemento más, que no pudo considerarse en este trabajo, es la acción de depredadores asociados a S. auriculata o que aumenten cuando la planta esté presente. Como observación no cuantificada, se notó mayor número de ninfas de Odonata en el agua de la laguna de La Herradura que en la de San Bernardo. Este orden de insectos es mencionado como potencial depredador de larvas de mosquitos (Bates, 1949).

La influencia de la vegetación acuática en la presencia de depredadores de larvas de mosquitos, fue evaluada por Angerilli y Beirne (1980) en estanques artificiales cubiertos con Elodea canadensis o Utricularia minor, encontrando mayor número de depredadores en los estanques con las plantas que en los controles. De los grupos estudiados; Dytiscidae, Gerriidae, Anisoptera, Zygoptera y Notonectidae, los dos últimos fueron los más numerosos en los estanques con U. minor y Notonectidae y Dytiscidae fueron encontrados más frecuentemente asociados a E. canadensis. Angerilli (1980) estudió la posible relación entre diferentes formas de vegetación y la tasa con que los depredadores acuáticos detectan y consumen larvas de mosquitos, encontrando que la forma no afecta dicha tasa, pero que la vegetación puede ser usada por ciertos depredadores, como larvas de Dytiscidae e Hydra spp., como sustrato sobre el cual capturar larvas de mosquitos. Asimismo, el encuen

tro depredador-presa aumenta puesto que la vegetación propicia que el depredador busque sistemáticamente en las plantas.

Se sugiere un estudio de laboratorio en donde interaccionaran larvas de mosquitos y posibles depredadores naturales capturados en el campo, por ejemplo ninfas de Odonata, y se cuantificase su capacidad depredadora, estimando número de larvas consumidas por unidad de tiempo.

En resumen, el uso de una combinación apropiada de depredadores y plantas puede ayudar, en algunas situaciones, al manejo de poblaciones de mosquitos.

Aunque sin poderse probar estadísticamente, algunas conclusiones pueden desprenderse del efecto del tiempo en la sobrevivencia de larvas (figuras 4 y 5). Todos los tratamientos aparecen muy diferentes del control. Hasta los 7 días los tratamientos "C" (50% S. auriculata), "D" (100% piezas de poliestireno) y "E" (100% hojas aéreas de S. auriculata), afectan la sobrevivencia larvaria similarmente, conservándose hasta los 17 días muy cercanos los tratamientos "C" y "D" y cayendo la sobrevivencia de "E" en este tiempo. Los tratamientos "D" (100% S. auriculata) y "F" (100% hojas sumergidas de S. auriculata), actúan de forma parecida a lo largo del tiempo. Se comportan también similarmente los tratamientos "B" y "G1", ambos con recubrimiento al 100% de la superficie del agua con S. auriculata. Los primeros estadios larvarios de An. albimanus

son más susceptibles a todos los tratamientos evaluados (figuras 4 y 5).

Si bien, no se pudo analizar estadísticamente las densidades larvarias halladas en las dos lagunas en estudio, la tendencia existente de menor número de An. albimanus y mayor de A. squamipennis en La Herradura y viceversa en San Bernardo, se relaciona con el resto de resultados que llevan a la conclusión de algún efecto antilarvario para An. albimanus en presencia de S. auriculata. En cuanto a qué adaptaciones de las larvas de A. squamipennis las hace encontrar los criaderos con S. auriculata como hábitat más propicio para su desarrollo de lo que lo es para An. albimanus, cabe pensar en adaptaciones de aquellas larvas para sobrevivir a bajas concentraciones de oxígeno, con los cambios que ésto conlleva en el agua; necesidad de desplazarse a la superficie, para conseguir el oxígeno aéreo, menos frecuente o incluso inexistente, relacionado a adaptaciones morfológicas del tipo Mansonia u otros; hábitos alimenticios depredadores en vez de filtradores. Las alternativas son diversas pero la literatura existente sobre A. squamipennis es reducida. No obstante, las larvas de otras especies de este género están estrechamente adaptadas para vivir en el fondo. La respiración de Aedeomyia africana N.-L. se lleva a cabo en gran parte a través de la cutícula e incluso de las antenas (Hopkins, 1936). Aedeomyia furfurea (Enderlein) ha modificado los

sifones respiratorios, los cuales introduce en los espacios de aire de plantas acuáticas (Mattingly, 1957; van den Assem, 1959). Respecto a A. squamipennis, Hosrfall (1972) cita que las larvas han sido halladas en pantanos recubiertos con Pistia (Araceae), pero que no están unidas a las plantas. Para el género Aedeomyia, Gillett (1971) reporta que existe evidencia de que las antenas son usadas como órganos respiratorios auxiliares, consiguiendo oxígeno disuelto en agua. Dos grandes sacos aéreos, uno en la base de cada antena, sirven de reservorios y capacitan a estas larvas a permanecer sumergidas por 40 minutos o más.

Algunos estudios simples de laboratorio contribuirían a elucidar cuáles son las adaptaciones de A. squamipennis que permiten a esta especie sobrevivir en lagunas con S. auriculata. Se sugieren observaciones de comportamiento, comparativamente con An. albimanus, en relación a tiempos de permanencia en la superficie y sumergidas. Asimismo, cortar las antenas de A. squamipennis y hacer conteos de sobrevivencia en estas condiciones.

Las densidades de An. albimanus halladas en las lagunas son reducidas. El SNEM, en su Memoria Anual de 1980, reporta un índice por muestreo de 16.6 larvas/10 muestreos en donde no había el helecho y de 0.7 larvas/10 muestreos en criaderos sin S. auriculata. En este estudio se encontró de 0.13 a 0.35 larvas/10 muestreos en la laguna de La Herradura, con S. auriculata,

y en San Bernardo, sin S. auriculata, de 2 a 3.6 larvas/10 muestreos.

El método de muestreo larvario utilizado en este trabajo y de uso estándar por el SNEM, incluye ciertos factores de error que es necesario considerar. A pesar de que las larvas de An. albimanus permanecen en la superficie y es factible localizarlas por este método de muestreo, no se conoce la etología de A. squamipennis y por lo tanto no se puede garantizar que el método muestree adecuadamente las densidades larvarias de esta especie. Asimismo, la metodología en discusión no detecta posibles hábitos gregarios de las larvas.

Considerando globalmente todos los resultados obtenidos, se puede inferir que el helecho acuático S. auriculata es efectivo en inhibir el desarrollo de los estadios larvarios de An. albimanus cuando la planta recubre totalmente la superficie del agua del criadero. Se sugiere como elementos más factibles de producir este efecto: cambios ecológicos relacionados a la relativa anoxicidad del agua bajo el helecho; depredadores más abundantes en presencia de la planta; e interferencia mecánica de las hojas sumergidas de S. auriculata, con la asequebilidad de la superficie del agua, en el desplazamiento de las larvas para conseguir el oxígeno aéreo.

## V. CONCLUSIONES

1. El helecho acuático Salvinia auriculata, cuando cubre totalmente la superficie del agua, reduce la sobrevivencia de los estadios larvarios de Anopheles albimanus en el agua bajo la planta.
2. El contenido de fosfatos, pH, temperatura, clorofila a y densidad bacteriana, en las lagunas con y sin la planta, no fueron significativamente diferentes. El oxígeno disuelto fue significativamente reducido en el estanque con S. auriculata. Las concentraciones de nitratos resultaron mayores en la laguna sin el helecho, pero los valores de La Herradura, con S. auriculata, están dentro de los rangos mínimos y por lo tanto no parecen ser limitantes de la sobrevivencia larvaria.
3. Sustancias antilarvarias presentes en S. auriculata no fueron detectadas.
4. Efectos de interferencia mecánica de las hojas aéreas de S. auriculata fueron descartados, pero se sugiere esta acción para las hojas sumergidas.
5. Los primeros estadios larvarios de An. albimanus son más susceptibles a todos los tratamientos de laboratorio evaluados en este estudio.
6. Se sugiere, como factores principales del efecto antilarvario, la interferencia mecánica de las hojas sumergidas

de S. auriculata, que repercute en la asequibilidad de la superficie del agua por las larvas de An. albimanus para conseguir el oxígeno aéreo; así como un incremento de depredadores asociados a la planta.

## VII. BIBLIOGRAFIA

- American Public Health Association. 1976. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 14a. edición. Washington, D.C.
- Angerilli, N.P.D. 1980. Note on some effects of simulated aquatic plants on predation on mosquito larvae by the fathead minnow. *Mosq. News.* 40(4):652-654.
- Angerilli, N.P.D. y B.P. Beirne. 1980. Influences of aquatic plants on colonization of artificial ponds by mosquitoes and their insect predators. *Can Ent.* 112:793-796.
- van den Assem, J. 1959. Daily mortality in four species of New Guinea anophelines. *Trop. Geog. Med.* 11:223-236.
- Bates, M. 1949. *The Natural History of Mosquitoes.* Macmillan Company Publishers. New York.
- Bradley, G.H. 1932. Some factors associated with breeding of Anopheles mosquitoes. *J. Agr. Res.* 44(5):381-399.
- Burgis, M.J., J.P.E.C. Darlington, I.G. Dunn, G.G. Ganf, J. J. Gwahaba y L.H. McGowan. 1973. The biomass and distribution of organisms in Lake George, Uganda. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 184:271-298.
- Campbell, F.L. y W.W. Sullivan. 1933. The relative toxicity of nicotine, anabasine, methyl anabasine and lupinine for culicina mosquito larvae. *J. Econ. Entomol.* 26:500-509.
- Covell, G. 1931. *Malaria Control by Anti-mosquito Measures.* Spink & Co. Calcuta (citado en Bates, 1949).
- Dadd, R.H. 1980. Feeding mechanisms and nutrition of mosquitoes. *Calif. Agr.* 34(4):16.
- Faran, M.E. 1980. Mosquito studies (Diptera, Culicidae) XXXIV. A revision of the Albimanus section of the subgenus Nyssorhynchus of Anopheles. *Contrib. Amer. Entomol. Inst.* 15(7):1-125.
- Gillett, J.D. 1971. *Mosquitoes.* Weidenfeld and Nicolson. Londres.

- Hobbs, J.E. y P.A. Molina (en prep.). The influence of the aquatic fern Salvinia auriculata on the breeding of Anopheles albimanus in coastal Guatemala.
- Holm, L.R.G., D.L. Plucknett, J.V. Pancho y J.P. Herberger. 1977. *The World's Worst Weeds: Distribution and Biology*. The East-West Center by the University Press of Hawaii. Honolulu.
- Hopkins, G.H.E. 1936. London: British Museum (Natural History) (citado, sin título, en Horsfall, 1972)
- Horsfall, W.R. 1972. *Mosquitoes: their Bionomics and Relation to Disease*. Hafner Publ. Co. Nueva York.
- Hutchinson, G.E. 1957. *A Treatise on Limnology*. Vol. I. John Wiley & Sons. Nueva York.
- Hutchinson, G.E. 1975. *A Treatise on Limnology*. Vol. III. John Wiley & Sons. Nueva York.
- Hwang, Y. y M.S. Mulla. 1980. Chemicals of the future. *Calif. Agr.* 34(4):32-33.
- Marascuilo, L.A. y M. McSweeney. 1977. *Nonparametric and Distribution-Free Methods for the Social Sciences*. Brooks Cole Publishing Company. Monterey, California.
- Mattingly, P.G. 1957. *The Culicine Mosquitoes of the Indomalayan Area*. Part. I. Genus Ficalbia Theobald. British Museum (Natural History). Londres.
- Mitchell, D.S. y P.A. Thomas. 1972. *Ecology of Water Weeds in the Neotropics*. UNESCO. Paris.
- Muirhead-Thomson, R.C. 1951. *Mosquito Behaviour in Relation to Malaria Transmission and Control in the Tropics*. Edward Arnold & Co. Londres.
- Pearson, E.S. y H.O. Hartley. 1962. *Biometrika Tables for Statisticians*. Vol. I. Cambridge University Press. Cambridge.
- Sculthorpe, C. 1976. *The Biology of Vascular Plants*. Edward Arnold. Londres.
- Servicio de Erradicación de la Malaria (SNEM). 1978. *Memoria Anual*. Ministerio de Salud Pública de Guatemala. Guatemala.
- Servicio de Erradicación de la Malaria (SNEM). 1980. *Memoria Anual*. Ministerio de Salud Pública de Guatemala. Guatemala.

- Shelford, V.E. 1911. Ecological succession. I. Stream fishes and the method of physiographic analysis. Biol. Bull. 21:9-35.
- Sokal, R.R. y F.J. Rohlf. 1980. Bioestadística. Editorial Reverté. Barcelona.
- Supavarn, P., F.W. Knapp y R. Sigafus. 1974. Biologically active plant extracts for control of mosquito larvae. Mosq. News 34(4):398-402.
- Unti, O. 1943. Oxigenio dos focos de Anopheles de Sao Paulo. Arch. Hig. Saúde. Púb. Sau Paulo. 8:83-102.
- Viner, A.B. y I.R. Smith. 1973. Geographical, historical and physical aspects of Lake George. Proc. R. Soc. Lond. B. 184:235-270.
- Weiss, C.M. 1971. Water quality investigations Guatemala, lake Amatitlan 1969-1970. Chapel Hill, N.C. ESE Pub. No. 281.
- Woodhill, A.R. 1938. Salinity tolerance and pH range of Culex fatigans with notes on the anal papillae of salt water mosquitoes. Proc. Linn. Soc. N.S.W. 63:273-281.

## APENDICE A

Método de recuento estandar en placa para la determinación de la densidad bacteriana del agua. Resumido de American Public Health Association (1976)

El procedimiento de recuento estandar en placa provee un método estandarizado para determinar la densidad de bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas en el agua.

Procedimiento

Las muestras de agua fueron recogidas de los estanques en botellas estériles, transportadas en refrigeración y analizadas después de 5 horas de su recolección.

Con todo el material a utilizar previamente esterilizado:

1. Se mezcló cada muestra con 25 movimientos completos en semicírculo de las botellas.
2. Con botellas de dilución, se diluyó cada muestra de agua a una relación de 1:100, 1:1000 y 1:10000.
3. Con cada dilución se inocularon cajas de Petri con agar estandar de conteo en placa, a 44-46°C. Tres cajas por dilución y usándose un control por dilución.
4. Una vez solidificado el agar, se incubó a  $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , durante 48 horas.

Conteos

Con un contador de colonias Quebec, se registraron todas las colonias existentes a las diluciones de 1:1000 y 1:10000, reportándose los valores como unidades formadoras de colonias (UFC)/ml. No se leyeron las cajas de Petri con 1:100 de dilución por exceso de crecimiento.

## APENDICE B

Método espectrofotométrico de determinación de clorofila a, para evaluar densidades de fitoplancton. Tomado de American Public Health Association (1976)

Los pigmentos se extraen del fitoplancton por medio de acetona y con un espectrofotómetro se determina la densidad óptica del extracto. Si la extracción de pigmentos no se puede realizar inmediatamente, las muestras pueden almacenarse congeladas en la oscuridad por 30 días.

Procedimiento

1. Se concentró la muestra por filtrado, con una membrana de  $0.45 \mu\text{m}$  de porosidad y 47 mm de diámetro. Se añadió 0.2 ml de una suspensión de carbonato de magnesio durante la fase final de filtrado.
2. La muestra se puso en un "macerador de tejidos" de tipo vidrio/vidrio, cubriéndola con 2-3 ml de una solución de acetona acuosa (90 partes de acetona grado analítico y 10 partes de agua en v/v). Se maceró la muestra.
3. La muestra se transfirió a tubos de centrifuga con tapón de rosca y se llevó el volumen a 5 ml, con la solución de acetona acuosa. El solvente fue usado escasamente para evitar la dilución excesiva de los pigmentos. Se almacenaron las muestras durante una noche a  $4^{\circ}\text{C}$  en la oscuridad.
4. El extracto fue clarificado por centrifugación de los tubos, cerrados, a 500G durante 20 minutos. El extracto clarificado fue decantado a un tubo de centrifuga de 15 ml y se midió el volumen del extracto.
5. El extracto clarificado fue transferido a una cubeta de 1 cm y se determinó la densidad óptica (DO) a 750, 663, 645 y 630 nm (si la densidad óptica fuera menor de 0.2 a 663 nm, deben seleccionarse cubetas más largas).

### Cálculos

La densidad óptica registrada a 663, 645 y 630 nm, se usó para la determinación de clorofila a, b y c, respectivamente (la lectura de DO a 750 nm sirve como corrección de turbidez, este valor debe sustraerse de cada uno de los valores de DO a las otras longitudes de onda, antes de usarlas en las ecuaciones).

1. Las concentraciones de las clorofilas se calculan introduciendo los valores de las densidades ópticas, en las ecuaciones siguientes:

$$1.1 \quad C_{\underline{a}} = 11.64 \text{ DO}_{663} - 2.16 \text{ DO}_{645} + 0.10 \text{ DO}_{630}$$

$$1.2 \quad C_{\underline{b}} = 20.97 \text{ DO}_{645} - 3.94 \text{ DO}_{663} - 3.66 \text{ DO}_{630}$$

$$1.3 \quad C_{\underline{c}} = 54.22 \text{ DO}_{630} - 14.81 \text{ DO}_{645} - 5.53 \text{ DO}_{663}$$

$C_{\underline{a}}$ ,  $C_{\underline{b}}$  y  $C_{\underline{c}}$  = Concentraciones de clorofila a, b y c, respectivamente, en el extracto, en mg/l.

$\text{DO}_{663}$ ,  $\text{DO}_{645}$  y  $\text{DO}_{630}$  = Densidad óptica (con un trayecto de luz de 1 cm) a las respectivas longitudes de onda.

2. Cuando la concentración de pigmento en el extracto fue determinada, se calculó la cantidad de pigmento por unidad de volumen de muestra, como sigue:

$$\text{Clorofila } \underline{a}, \text{ mg/m}^3 = \frac{C_{\underline{a}} \times \text{volumen del extracto, l}}{\text{volumen de la muestra, m}^3}$$

La lectura de la DO a 750 nm fue omitida porque la solución de pigmento fue clarificada por centrifugación a 500G durante 20 minutos y la trayectoria de luz estaba limitada a 1 cm.

## APRENDICE C

Sobrevivencia de larvas de primer estadio de Anopheles albimanus bajo diferentes tratamientos con Salvinia auriculata en pruebas de laboratorio. Se dan tres réplicas por tiempo.

Tiempo (días)	Tratamiento (1)							
	A	B	C	D	E	F	G1	G2
3	50	19	44	41	44	37	20	44
	50	28	31	39	42	31	20	45
	50	30	45	42	43	41	20	48
7	50	4	36	31	27	3	9	27
	50	21	27	34	34	22	15	40
	50	18	40	32	32	18	15	45
10	49	4	34	31	26	1	12	27
	48	15	20	34	21	16	5	40
	49	14	36	28	23	11	10	45
13	47	4	34	31	16	1	1	22
	48	8	20	34	13	13	4	39
	48	10	20	28	21	4	9	45
17	45	4	32	24	4	*	*	22
	48	3	20	32	4	*	*	36
	48	4	13	23	18	*	*	44

(1) Tratamientos: A, Control. Recubrimiento de la superficie del agua con: B, 100% S. auriculata; C, 50% S. auriculata; D, 100% piezas de poliestireno; E, 100% S. auriculata, hojas aéreas; F, 100% S. auriculata, hojas sumergidas; G1, 100% S. auriculata en recipiente dividido; G2, Control de G1.

\* A esta fecha la totalidad de las larvas sobrevivientes habían empupado.

## APENDICE D

Concentraciones de nitratos y fosfatos  
de las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo.

Laguna	N(NO <sub>3</sub> ) $\mu\text{g l}^{-1}$			P(PO <sub>4</sub> ) $\mu\text{g l}^{-1}$	
	25.IX.81	2.X.81	9.X.81	25.IX.81	9.X.81
La Herradura					
Muestra:					
1	140	530	89	20.3	11.7
2	270	20	100	7.0	1.0
3	80	140	110	7.7	28.3
4	11	110	150	5.7	8.7
5	200	170	110	3.0	12.7
6	150	110	30	5.3	11.7
7	15	160	150	5.3	11.7
8	-	110	70	4.7	8.7
9	-	-	89	6.3	11.7
10	-	-	150	8.7	11.7
San Bernardo					
Muestra:					
1	700	780	280	5.7	5.7
2	430	670	850	5.7	5.7
3	430	460	60	5.7	5.7
4	440	600	850	5.7	5.7
5	780	730	710	5.3	9.7
6	60	500	820	8.7	6.3
7	910	705	620	6.3	6.3
8	600	670	920	5.7	5.3
9	530	-	960	5.3	5.3
10	850	-	-	3.0	9.7

APENDICE E

Concentraciones de oxígeno disuelto en las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo.

Laguna	Oxígeno disuelto ppm		
	25.IX.81	2.X.81	9.X.81
La Herradura			
Muestra:			
1	1.10	0.40	0.30
2	0.10	1.00	0.20
3	0.10	0.40	0.20
4	0.10	0.20	0.10
5	0.08	0.20	0.40
6	0.20	0.20	0.10
7	0.25	0.25	0.10
8	0.25	0.60	0.10
9	1.00	0.20	0.10
10	1.00	0.20	0.40
San Bernardo			
Muestra:			
1	6.20	6.00	3.80
2	8.20	1.40	0.20
3	8.00	0.80	2.20
4	7.35	1.00	4.20
5	7.20	1.60	2.20
6	7.00	2.30	0.80
7	6.30	2.40	4.80
8	7.15	5.90	4.80
9	5.00	5.50	4.00
10	7.00	0.40	0.60

## APENDICE F

pH de las lagunas de las fincas La  
Herradura y San Bernardo.

Laguna	p H		
	25.IX.81	2.X.81	9.X.81
La Herradura			
Muestra:			
1	6.6	6.2	7.4
2	6.4	7.0	6.7
3	6.4	6.4	6.4
4	6.3	7.0	6.4
5	6.2	7.2	6.8
6	6.6	7.2	6.8
7	7.2	7.2	6.2
8	7.2	7.2	6.9
9	7.7	7.3	6.8
10	7.6	7.4	7.0
San Bernardo			
Muestra:			
1	6.4	6.8	6.4
2	6.5	6.7	6.3
3	7.5	7.0	6.2
4	7.4	7.1	6.6
5	8.0	7.2	7.0
6	8.2	7.5	7.1
7	8.4	7.6	6.8
8	8.7	7.7	7.8
9	8.7	8.0	6.8
10	7.3	8.0	8.0

## APENDICE G

Concentraciones de clorofila a del  
fitoplancton de las lagunas de las  
fincas La Herradura y San Bernardo  
de fecha 9.X.1981

---

Laguna	clorofila <u>a</u> ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )
--------	---

---

## La Herradura

## Muestra:

1	1.08
2	2.22
3	2.35
4	5.96
5	5.62
6	2.16
7	0.52
8	1.70
9	2.62
10	8.37

## San Bernardo

## Muestra:

1	3.88
2	3.36
3	1.80
4	1.23
5	0.89
6	1.20
7	1.46
8	0.75
9	0.58

---

APENDICE H

Densidad bacteriana\* del agua de las lagunas de las fincas La Herradura y San Bernardo de fecha 9.X.1981

---

Laguna	UFC**/ml ( $\times 10^4$ )
La Herradura	
Muestra:	
1	1.55
2	0.20
3	3.45
4	9.90
5	2.70
6	1.35
7	0.65
8	0.40
9	0.81
10	0.21
San Bernardo	
Muestra:	
1	4.45
2	3.80
3	5.45
4	5.32
5	3.64
6	1.59
7	4.71
8	5.85

---

\* Bacterias heterotróficas aeróbicas y anaeróbicas facultativas. Recuento aeróbico en placa.

\*\* Unidades formadoras de colonias

