

**INCIDENCIA DE LA CONTAMINACION DE LA CUENCA ALTA DEL RÍO
BOGOTÁ EN LA SIMETRIA DE LAS FRÚSTULAS DE LAS DIATOMEAS
PRESENTES EN EL SUSTRATO ROCOSO**

**DIANA CAROLINA CUBILLOS ARÉVALO
JESSICA TATIANA DELGADO PERDIGON**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMAS
DIVISION DE INGENIERIAS
FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL
BOGOTA
2016**

**INCIDENCIA DE LA CONTAMINACIÓN DE LA CUENCA ALTA DEL RÍO
BOGOTÁ EN LA SIMETRÍA DE LAS FRÚSTULAS DE LAS DIATOMEAS
PRESENTES EN EL SUSTRATO ROCOSO**

**DIANA CAROLINA CUBILLOS ARÉVALO
JESSICA TATIANA DELGADO PERDIGON**

**Trabajo de Grado en la modalidad de Solución de un problema de Ingeniería
para optar al título de Ingeniero Ambiental**

**Director
RAFAEL GABRIEL BARRAGAN GONZALES
BIOLOGO MARINO, M.SC. MICROBIOLOGÍA**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMAS
DIVISION DE INGENIERIAS
FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL
BOGOTA**

2016

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Bogotá DC, 9 de Marzo de 2016

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos en primer lugar a Dios que nos puso en este lugar y en este momento, le agradecemos principalmente por el apoyo que hemos recibido de nuestras familias especialmente nuestros padres y hermanas. En segundo lugar agradecemos a todas las personas que hicieron parte de nuestra formación profesional especialmente al Ingeniero Ronald Jackson y demás profesores que nos dieron las herramientas para culminar un con éxito este proyecto. No podíamos dejar de lado a nuestros amigos que hicieron el camino más fácil y estuvieron siempre apoyándonos.

Y por último, y no por eso menos importante, infinitas gracias a nuestro director y amigo Rafael Barragán por confiar en nosotras, compartir todos sus conocimientos, por su paciencia y sobre todo por la forma como se apropió de este proyecto.

Agradezco a mi colega y amiga por su esfuerzo y compromiso y espero el camino este siempre lleno de bendiciones para ella.

Tabla de contenido

1. RESUMEN.....	12
2. ABSTRAC.....	13
3. INTRODUCCION.....	14
4. OBJETIVOS.....	16
4.1. OBJETIVO GENERAL	16
4.2. OBJETIVOS ESPESIFICOS	16
5. MARCO REFERENCIAL	17
5.1. MARCO CONTEXTUAL.....	17
5.2. marco teórico	18
5.2.1. diatomeas	18
5.2.2. características del frústulo	19
5.2.3. Distribución Comunitaria.....	20
5.2.4. Bioindicadores ambientales.....	21
5.2.5. las diatomeas como bioindicador.....	21
5.2.6. estudios de variación morfológica.....	22
5.2.7. software para el análisis de imagen.....	23
5.3. marco institucional.....	23
5.3.1. universidad santo tomas.....	23
5.3.2. corporación autónoma regional de Cundinamarca (car).....	24
5.3.3. instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales (ideam).....	24
5.4. marco legal.....	24
6. DESARROLLO CENTRAL.....	26
6.1. búsqueda, revisión y análisis de la información secundaria existente.	27
6.2. visita y prueba piloto en la quebrada la vieja, Bogotá.	27
6.3. determinación de los puntos de muestreo en la cuenca alta del rio bogotá. 27	
6.4. muestreo de sustrato rocoso en la cuenca alta del río Bogotá.....	29
6.5. ensayo cromo vi ($Cr + 6$).....	29
6.6. procesamiento en laboratorio de las muestras.....	31

6.7.	definición de morfotipos	32
6.8.	adaptación de las herramientas del paquete <i>geomorph</i> para el análisis de imagen	32
6.9.	formulación de índices en Excel.....	36
7.	RESULTADOS	36
7.2.	REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LAS DIATOMEAS.....	37
7.4.	determinación del eje de simetría por morfotipo	39
7.5.	RESULTADOS ETAPA D - ANÁLISIS DE RESULTADOS DEL MUESTREO 41	
7.5.1.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO MÉTODO ANOVA	41
7.5.2.	ANÁLISIS POR COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)	44
7.5.3.	método alométrico	47
7.5.4.	método gráfico	49
7.6.	análisis de los resultados del experimento	58
7.6.1.	ANÁLISIS POR COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)	58
7.6.2.	método gráfico	63
1.1.	Análisis comparativo a partir de frecuencias de diatomeas con tumores .	71
2.	CONCLUSIONES	74
3.	RECOMENDACIONES.....	75
4.	GLOSARIO	76
5.	BIBLIOGRAFÍA.....	79
6.	ANÉXOS.....	81

Índice de tablas

Tabla 1. Simetría bilateral	20
Tabla 2. Legislación aplicable al proyecto	25
Tabla 3. Control de concentraciones.....	31
Tabla 4. Ejes centrales para cada morfotipo	40
Tabla 5. Análisis ANOVA Morfotipo 1 VS MORFOTIPO 1 CORREGIDO	41
Tabla 6. Comparacion anovas por morfotipo.....	43
Tabla 7. Log (Tamaño) por alometria para morfotipos	48
Tabla 8. Varianza entre individuos por morfotipo	54
Tabla 9. Indices de concentracion vs morfotipo	71
Tabla 10. Índices morfotipo vs estación de muestreo	72

Índice de ilustraciones

Ilustración 1. Mapa de la cuenca alta del río Bogotá.....	17
Ilustración 2. Organelos de las diatomeas	18
Ilustración 3. Partes de un frústulo	19
Ilustración 4. Estructura del frústulo	20
Ilustración 5. Representación gráfica del Análisis Procrustes	22
Ilustración 6. ESQUEMA DE LA METODOLOGÍA APLICADA.....	26
Ilustración 7. Estaciones muestreo río bogotá.....	29
Ilustración 8. Flujograma de la digestión de las muestras.....	31
Ilustración 9. ejes y planos de simetría	32
Ilustración 10. código para la digitalización de las diatomeas	33
Ilustración 11. diatomea digitalizada	33
Ilustración 12. código de digitalización finalizado	34
Ilustración 13. Procrustes	34
Ilustración 14. procrustes y mallas por valvas, y tablas anova.....	35
Ilustración 15. gráfico del análisis de componentes principales	35
Ilustración 16. Orden de secuencia de los puntos para digitalizar organismos que pertenezcan al morfotipo 1	42

Índice de gráficos

Grafico 1. PCA estaciones	45
Grafico 2. PCA morfotipos.....	46
Grafico 3. PCA presencia de tumores	47
Grafico 4. RELACIÓN FORMA VS TAMAÑO PARA MORFOTIPOS.....	48
Grafico 5. Procrustes Morfotipo 1- Muestreo.....	49
Grafico 6. Componentes de forma morfotipo 1 del muestreo	49
Grafico 7. Procrustes Morfotipo 2 - Muestreo.....	50
Grafico 8. Componentes de forma Morfotipo 2 muestreo.....	50
Grafico 9. Procrustes Morfotipo 3 - Muestreo.....	51
Grafico 10. Componente de forma Morfotipo 3 muestreo	51
Grafico 11. Procrustes Morfotipo 4 - Muestreo.....	52
Grafico 12. Componente de forma Morfotipo 4 muestreo	52
Grafico 13. Procrustes Morfotipo 5 - Muestreo.....	53
Grafico 14. Componente de forma Morfotipo 5 muestreo	53
Grafico 15.Comparación entre individuo sano contra individuo con tumores	55
Grafico 16. Forma frente a altura de la estación de muestreo.....	56
Grafico 17. Análisis PCA estación frente a tumor.....	57
Grafico 18. Análisis PCA morfotipo contra tumor	58
Grafico 19. PCA CONCENTRACIONES $Cr + 6$ EXPERIMENTO	59
Grafico 20. PCA DÍAS CR VI EXPERIMENTO.....	60
Grafico 21. PCA VARIACIÓN EN LOS MORFOTIPOS DEL EXPERIMENTO	61
Grafico 22. PCA variación células sanas contra células con tumor.....	62
Grafico 23. Procrustes morfotipo 1 experimento	63
Grafico 24. Componente de forma Morfotipo 1 experimento.....	63

Grafico 25. PROCRUSTES MORFOTIPO 2 EXPERIMENTO	64
Grafico 26. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 2 EXPERIMENTO.....	64
Grafico 27. Procrustes Morfotipo 3 experimento	65
Grafico 28.COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 3 EXPERIMENTO.....	65
Grafico 29. Procrustes morfotipo 4 experimento	66
Grafico 30. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 4 EXPERIMENTO.....	66
Grafico 31. PROCRUSTES MORFOTIPO 5 EXPERIMENTO	67
Grafico 32. Componente de forma Morfotipo 5 experimento.....	67
Grafico 33. PROCRUSTES MORFOTIPO 6 EXPERIMENTO	68
Grafico 34. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 6 EXPERIMENTO.....	68
Grafico 35. PROCRUSTES MORFOTIPO 7 EXPERIMENTO	69
Grafico 36. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 7 EXPERIMENTO.....	69
Grafico 37. PROCRUSTES MORFOTIPO 8 EXPERIMENTO	70
Grafico 38. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 8 EXPERIMENTO.....	70
Grafico 39.Índices de muestreo por estación indicando cada cocentracion (ppm)	72

Índice de anexos

ANEXO 1. Valores de contaminación reportados por la car 2012-2015.....	81
ANEXO 2. Metodologías de digestión de las muestras	84
ANEXO 3. Formatos de campo para el muestreo	85
ANEXO 4. Registro fotográfico muestreo	89
ANEXO 5. Registro fotográfico laboratorio	92
ANEXO 6. Códigos para el análisis estadístico.....	94

1. RESUMEN

Para la elaboración de este documento, se realizó una revisión en la literatura sobre la contaminación en la cuenca alta del río Bogotá, en los cuales se establecen las diferentes causas de la degradación ambiental de este recurso hídrico, debido a los malos manejos de vertimientos de aguas residuales por parte de diferentes sectores económicos, especialmente del sector industrial de curtiembres, que está ubicado en los municipios de Villapinzón y Chocontá.

Este proyecto va encaminado a ofrecer una opción fácil y confiable para la determinación de la contaminación en cortos lapsos de tiempo analizando los cambios en los frústulos de las diatomeas como factor de bioindicación.

Para la determinación de ello, se llevó a cabo un muestreo en 4 puntos diferentes de la cuenca alta del río Bogotá, en los cuales se recolectaron diatomeas del sustrato rocoso de cada punto; a su vez, se realizó un experimento donde se tomaron diatomeas incubadas en agua de humedal confinado enriquecido con un patrón de Cr^{+6} a 10, 50 y 100 mg/l de concentración que fueron evaluados cada tres días, para valorar la incidencia de la presencia de cromo en la variación de los frústulos de las diatomeas, posteriormente se dividieron en diferentes morfotipos, para su análisis por medio del software estadístico R, a través de la adaptación de los instrumentos del paquete *geomorph*, el cual brinda la posibilidad de interpretar los datos con diferentes métodos estadísticos como son, las tablas ANOVA, el análisis de componentes principales, el método gráfico y de alometría.

Aplicando las herramientas de morfometría de este paquete se determinó que, por medio del análisis estadístico de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés), se puede detectar la presencia de tumores en los frústulos de las diatomeas, sin embargo normalizando el patrón de digitalización es posible mejorar el nivel de detalle en la dispersión de los datos. Es importante mencionar que con el método gráfico las variaciones en los frústulos se hacen evidentes para el observador, sin embargo este método es muy subjetivo para ser válido.

Palabras clave: frústulos, *geomorph*, Río Bogotá, variaciones, morfometría.

2. ABSTRAC

For the development of this document, a review about the contamination in the upper basin of the Bogota River was conducted. During the studies the main environmental issues were established, showing the causes of the deterioration and degradation of the hydric resources. Among some the inadequate manipulation of the water discharges, by different economic sectors, especially the leather manufactures, located on the areas of Villapinzón and Chocontá.

This project was design with the purpose of present reliable data that analyzes in a short period of time the changes occurred in the frustules of diatoms as a bio indicator factor. In other to do so a sampling was made in 4 different points in the river basin, taking rocky substrate diatoms. Equally another experiment was conducted, taking diatoms and incubated them in enriched wetland's water with the following concentration Cr VI a 10, 50 y 100 mg/l during a three days period, to assess the impact of the presence of chromium in the variation frustules diatoms, subsequently split into different morphs for analysis using the R statistical software, through the adaptation of instruments Geomorph package, which It provides the possibility y to interpret data with different statistical methods such as the ANOVA tables, principal component analysis, graphic and allometric method. Applying the tools of morphometry of this package was determined by means of statistical principal component analysis (PCA), can detect the presence of tumors in frustules diatoms, however normalized pattern scanning is possible to improve the level of detail in the dispersion of the data. It is noteworthy that with the graphical method variations in frustules become apparent to the observer, however this method is very subjective to be worth

Keywords: frustules, Geomorph, Rio Bogota, variations, morphometry.

3. INTRODUCCION

El río Bogotá muestra una de las estructuras económicas más importantes de la región y de las más diversas del país, donde claramente se observa una estrecha relación entre el desarrollo económico y el uso primario de los recursos naturales destacando las actividades agrícolas, mineras y de procesos de transformación industrial [1]

La cuenca alta del río Bogotá, recibe vertimientos de aguas residuales de 21 municipios que tienen una población urbana de 350.000 habitantes aproximadamente [1].

La calidad del agua del río en su cuenca alta se ve afectada por los vertimientos de aguas residuales domésticas de municipios que aún no cuentan con sistema de tratamiento (por ejemplo Villapinzón), por la carga residual municipal de los efluentes de las Plantas de aguas Residuales – PTAR existentes (Chocontá, Sesquilé y otros), por los vertimientos de las industrias y la contaminación no puntual proveniente de las actividades agropecuarias [2].

El río Bogotá desde su primer tramo (nacimiento – Villapinzón), ha venido presentando niveles en ascenso de contaminación biológica, química y física, debido a las descargas de distintos tributarios [3].

En el primer tramo del río Bogotá se presentan cargas orgánicas inferiores a 10 ton O_2 /día [3], sin embargo se presenta un ascenso en el tramo Cajicá – Chía, debido a las descargas domésticas e industriales del sector, presentando picos significativos en tramos cortos del río. Por ejemplo en el tramo aguas abajo de Villa Pinzón hasta cerca de la desembocadura del río Tejar, la DBO_5 promedio es de 6 mg/l [3]. El valor de la DBO_5 promedio en la estación del puente de la Virgen es de 13,9 mg/l, esto debido a las descargas de diferentes actividades económicas e industriales [3].

Los principales metales que se presentan en el río son, el cromo y plomo especialmente en zonas como Villapinzón, donde hay una alta incidencia de industrias de curtiembres [3].

En el estudio de (Artuz, Martínez y Morales) [4], se hace énfasis en la incidencia de la contaminación del río Bogotá por la industria curtiembre, donde se hace un recuento del número de las industrias cercanas al río en todo su trayecto hasta su desembocadura en el Magdalena, pero se hace una especial mención de las curtiembres situadas en Villapinzón, por su importante aporte de contaminantes al río, ya que durante sus actividades se generan vertimientos tóxicos que desembocan directamente al río Bogotá, deteriorando el medio ambiente y la calidad de vida de las personas, esto por un mal manejo de los residuos y las malas administraciones de los municipios [4].

(Wilson y Quintero) [5], hicieron un prediagnóstico toxicológico de la cuenca alta del río Bogotá, en el cual se compararon los promedios a 10 años de las concentraciones de metales pesados como cadmio, cromo, hierro, manganeso y plomo, expuestos en un estudio de la corporación autónoma regional de Cundinamarca CAR con las concentraciones permisibles establecidas en el Decreto 1594/84 y con los valores permisibles a nivel internacional, de lo cual se concluyó que todos los metales anteriormente mencionados menos el cromo sobrepasan los límites permisibles, sin embargo los autores mencionan la oxidación como la causa de las bajas concentraciones de cromo [5].

Por su parte, (Segura) [6], en su estudio sobre la contaminación de la cuenca alta del río Bogotá, realizó una revisión bibliográfica sobre las causas de la contaminación del río, resaltando las consecuencias en la salud humana por la presencia de metales pesados como el plomo y el cromo en el agua del río, ya que esta es utilizada para el riego de diferentes cultivos cercanos [6].

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Relacionar la incidencia de la contaminación de la cuenca alta del río Bogotá con la simetría de las frústulas de las Diatomeas presentes en el sustrato rocoso.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar los morfotipos de las diatomeas más abundantes de sustrato rocoso en zonas con diferentes niveles de contaminación en la cuenca alta del río Bogotá.
- Recopilar información secundaria disponible sobre la calidad del agua desde el punto de vista físico y químico en diferentes niveles geográficos de la cuenca alta del río Bogotá
- Adaptar un software para la determinación de las variables en los frústulos de las diatomeas
- Determinar el uso de las variaciones en la simetría de los frústulos de las diatomeas como indicadores de contaminación

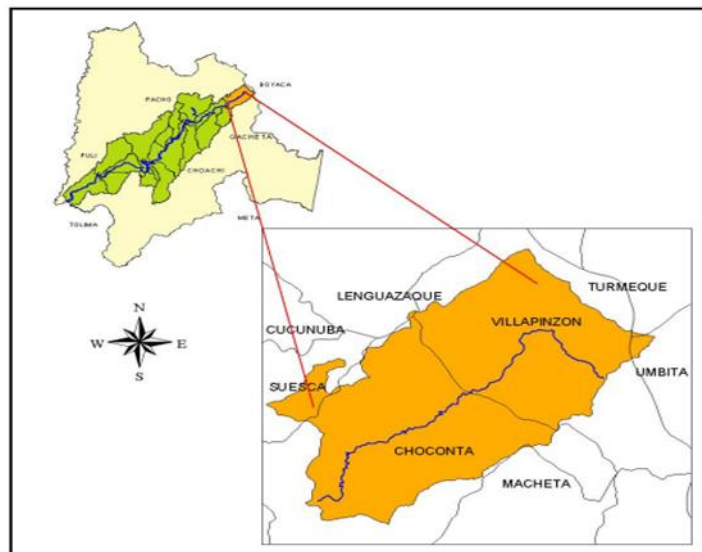
5. MARCO REFERENCIAL

5.1. MARCO CONTEXTUAL

La cuenca alta del río Bogotá se caracteriza por presentar un relieve robustamente ondulado que pasa a ser predominantemente quebrado en un poco más de la mitad de su extensión territorial, que se encuentran en la zona de la Sabana de Bogotá principalmente en áreas montañosas en altitudes de los 2600 msnm [7]. En menor medida se encuentran relieves inclinados y ondulados, cerca del 26.6% del territorio y una pequeña fracción del mismo corresponde a relieves escarpados a muy escarpados sobre todo en zonas de falla geológica y en la partes altas de las montañas [7].

Cuenta también con una de las estructuras económicas más diversas del país, ligada directamente al uso de recursos naturales, predominantemente para uso agrícola y de procesos de transformación industrial, donde se destaca el cultivo de flores que representa cerca del 80% de la producción nacional y los procesos de curtido de pieles; sin embargo es posible encontrar también actividades mineras e incluso explotación ganadera y cría de ganado lechero [8].

ILUSTRACIÓN 1. Mapa De La Cuenca Alta Del Río Bogotá



Fuente: [9]

De hecho para el 2006 según la CAR en Colombia existían cerca de 737 curtiembres donde tan solo 4 empresas procesaban cerca del 25% del producto nacional total es decir un promedio de 3,5 millones de pieles al año. Del total de estas industrias casi 180 de ellas están ubicadas en la cuenca alta del río y están clasificadas como pequeñas o medianas empresas [4].

5.2. MARCO TEÓRICO

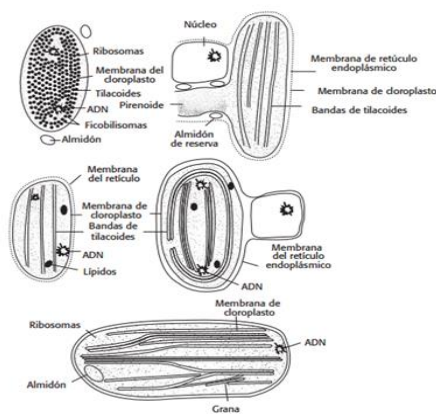
5.2.1. DIATOMEAS

Las diatomeas son algas Fitoplanctónicas que cuentan con un número doble de cromosomas, es decir son diploides; son de tamaño variable y su carácter cosmopolita permite que pueden encontrarse en todo el mundo siempre que existan condiciones de humedad sin restricción de ambientes dulces o marinos, se las puede hallar bien flotando o adheridas a algún sustrato [10].

Estos organismos unicelulares y multicelulares cuentan con una pared externa llamada frústulo, altamente estructurada, compuesta por sílice y carbonato de calcio, que es un nutriente bio-limitante; Este frústulo, o pared silíceo consta de dos partes que encajan perfectamente, llamadas epitheca e hipoteca [11]. En principio el organismo toma del medio ácido ortosilícico, que progresivamente almacena al interior de la célula transformándolo en sílice amorfa hidratada (ópalo); posterior a ello, las vesículas serán las encargadas de distribuir la sílice hacia la pared celular determinando así las características morfológicas que tendrá la diatomea [11].

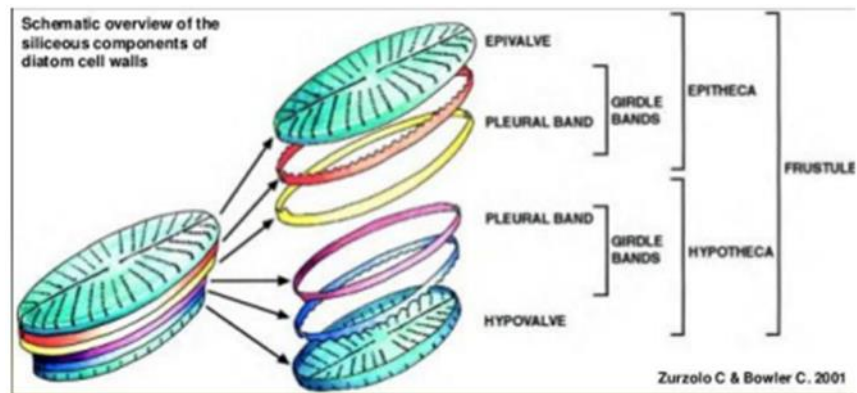
En su estructura interna las diatomeas presentan órganos sexuales llamados gametangios masculinos o espermas con dos flagelos con diferencias en su morfología, uno de ellos liso y el otro con mastigonemas, es decir pequeñas prolongaciones en forma de firbillas que salen de los flagelos y se encuentran enrollados en el cíngulo. Poseen también cloroplastos rodeados de doble membrana, dos membranas de retículo endoplasmático y tilacoides aglomerados en tres bandas con masa proteínica central conocida como pirenoide [12].

ILUSTRACIÓN 2. Organelos De Las Diatomeas



Fuente: [13].

ILUSTRACIÓN 3. PARTES DE UN FRÚSTULO



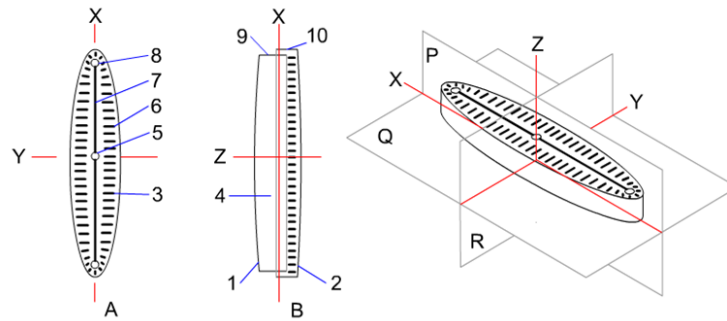
Fuente: [14].

Si la distribución de la sílice inicia en una zona central y crece de manera concéntrica, se formara una diatomea con simetría radial a partir del “tejido” de puentes laterales, y será este patrón lo que permitirá que se creen estructuras complejas que darán paso a una gran diversidad de morfologías que son estudiadas para separar las diferentes especies de diatomeas [12].

5.2.2. CARACTERÍSTICAS DEL FRÚSTULO

El frústulo consiste en una pared silíceá que cubre la diatomea y está constituida por varias ornamentaciones dependiendo de la especie, así por ejemplo se pueden encontrar células con áreas elevadas de la valva que pueden o no sobrepasar esta, conocidas como elevaciones o setas respectivamente. También poseen poros (lóculos) conocidos como areolas que en ocasiones se presentan ordenados en filas formando estrías, estos lóculos están a su vez cubiertos por una capa fina llamada velum que al estar agujereada regularmente se conoce como cribrum, además están conectados por perforaciones conocidas como forámenes. Ahora bien, también se pueden encontrar diatomeas que no tienen areolas en el eje apical comúnmente encontradas en las que carecen de rafe, que es una apertura que se da a lo largo del mismo eje [15].

ILUSTRACIÓN 4. ESTRUCTURA DEL FRÚSTULO



A. Vista valvar, B. Vista pleural. X. Eje apical, Y. Eje transapical, Z. Eje pervalvar. 1. Hipovalva o hipoetca, 2. Epivalva o epiteca, 3. Cara Valvar, 4. Cara pleural, 5. Nódulo central, 6. Estrias, 7. Rafe, 8. Nódulo polar, 9. Hipocíngulo, 10. Episíngulo (9-10: cíngulo)

Fuente: [15].

TABLA 1. SIMETRÍA BILATERAL

Planos de simetría	Ejes de simetría
Plano apical (P)	Eje apical (X)
Ejes X (apical)	Plano P (apical)
Eje z (pervalvar)	Plano Q (valvar)

Fuente: [15]

5.2.3. DISTRIBUCIÓN COMUNITARIA

Dentro de la división Ochrophyta se encuentran las diatomeas que se llaman así por el color ocre o dorado con el que suelen encontrarse muchos de los organismos de este grupo. Han sido organismos estudiados por muchos años gracias a la facilidad que tiene para reproducirse en ambientes marino costeros y de agua dulce también, es por ello que, actualmente existen más de 20.000 especies reconocidas mundialmente y sin embargo el estudio de estos organismos aún presenta varias

dificultades para la clasificación de los mismos por la amplia variedad y el descubrimiento continuo de nuevas especies [14].

En Colombia, las diatomeas han sido ampliamente usadas para conocer condiciones fuera de los límites permitidos, para conocer condiciones físico químicas actuales e incluso como objeto de estudio taxonómico bajo condiciones de laboratorio y también como especies biodiadoras de cuerpos de agua, como detallan (Díaz y Rivera)[16], en su estudio de 20 ríos de la cuenca alta y media del Río Bogotá [16].

Actualmente, se encuentran varias publicaciones que refieren trabajos taxonómicos realizados a lo largo de todo el país que tienen en común que más del 20% de las diatomeas encontradas son especies nuevas de bajo carácter cosmopolita [17].

5.2.4. BIOINDICADORES AMBIENTALES

Se conoce como bioindicador al individuo de diferentes especies que reúnen un conjunto de características de tolerancia y específicamente de sensibilidad que permiten que puedan ser usadas para registrar cambios en el medio bien sea por cambios específicos en algunas características de los organismos o por ausencia de los mismos [18].

Para que un organismo pueda ser considerado como bioindicador debe haber sido estudiado en muchos aspectos, por ejemplo su distribución comunitaria bajo condiciones ideales para su crecimiento y sus variaciones naturales, así como su ciclo de vida y su estacionalidad de modo que sea posible establecer comparaciones antes y después de una perturbación ambiental [18].

5.2.5. LAS DIATOMEAS COMO BIOINDICADOR

Entre los diferentes organismos que se pueden usar como herramienta bioindicadora, las diatomeas son preferidas por ser un grupo autótrofo dominante de fácil identificación. Además en este amplio grupo se encuentran especies que pueden ser muy sensibles a ciertos cambios ambientales, además su muestreo es sencillo y rápido y pueden llevar registros por tiempos muy largos [19].

En el estudio realizado por (Quiroz y Rivera) [16], se muestra la relación entre las diferentes variables físicas y químicas, de veinte ríos de la cuenca alta del río Bogotá, con la comunidad de Diatomeas allí encontradas. A partir de las observaciones realizadas de los componentes en el río, se estableció que la conductividad, el pH, el amonio, la turbidez, el fósforo total, el dióxido de carbono y la velocidad de la corriente fueron las variables que determinaron los patrones físicos y químicos de los ríos. Mediante un Análisis de Correspondencia Canónica se estableció que el pH, el fósforo reactivo soluble, el nitrógeno total y la

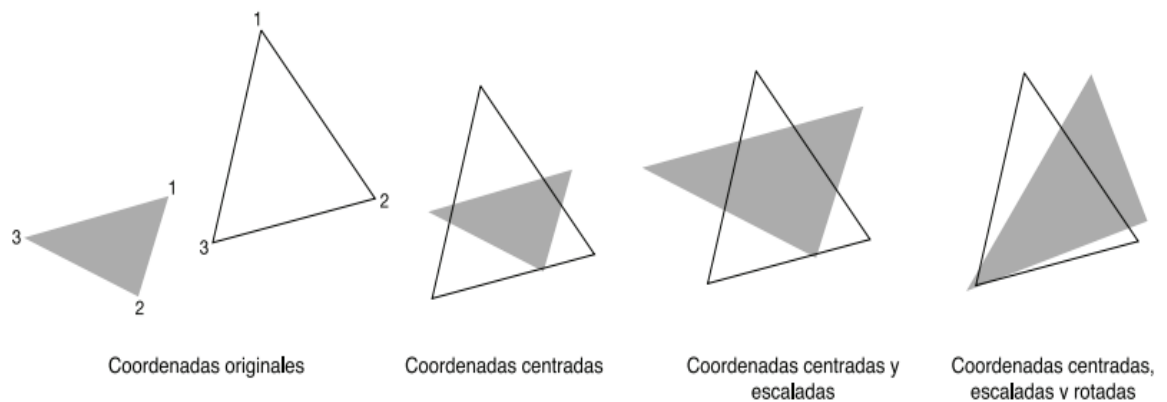
conductividad fueron las variables que determinaron la abundancia o escases de las comunidades de diatomeas [16].

5.2.6. ESTUDIOS DE VARIACIÓN MORFOLÓGICA

Los estudios de variación morfológica han estado siempre ligados a la antropología, donde siempre se busca obtener información acerca de la forma y el tamaño de una estructura que han sido históricamente definidos bajo las propiedades de “ancho”, “alto” y “fondo”[20]. Durante los últimos años ha ganado gran importancia el uso del Análisis Procrustes en el campo de la antropología biológica, este se define como un método para estudiar coordenadas cartesianas de puntos anatómicos, y su principal objetivo es determinar si la representación de dos conjuntos de puntos muestra diferentes relaciones entre ellos, para ello se pueden efectuar varias operaciones que no alteran el conjunto de datos y pueden ayudar a mejorar su análisis, por ejemplo [20]:

- Desplazamiento de todos los datos a una distancia consolidada o en determinada dirección.
- Cambio de escala uniforme, dilatación o contracción del conjunto de puntos con relación al centroide.
- Rotación o reflexión de todos los puntos alrededor de un eje

ILUSTRACIÓN 5. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL ANÁLISIS PROCRUSTES



Fuente: [20]

Para ello es importante iniciar definiendo el concepto de landmark que es el conjunto de puntos geométrica o anatómicamente definidos que son análogos entre estructuras, agrupados estos así [20]:

- Tipo 1: son aquellos puntos que cuentan con mayor evidencia biológica de su homología.

- Tipo 2: no se encuentra evidencia histológica para los puntos pero son sustentados con evidencia geométrica.
- Tipo 3: puntos que tiene por lo menos una coordenada indeterminada, para este caso se refiere más a características de una región del total de la estructura y está supeditada a la interpretación geométrica o biológica que se haga, por el grado de incertidumbre que hay en esta clasificación es conocido también como “semilandmak”.

5.2.7. SOFTWARE PARA EL ANÁLISIS DE IMAGEN

Para el análisis de imagen se usó el software R, con el paquete GEOMORPH que permite leer, manipular y digitalizar los puntos realizados previamente sobre las fotos para evitar el error humano, generar variables de la forma a través de análisis de puntos, curvas y superficies; realizar y analizar representaciones gráficas de las formas y los patrones de variación de forma.

R es un software público con lenguaje abierto muy popular por la cantidad de contribuciones que se pueden hacer al mismo, en éste se pueden operar múltiples herramientas estadísticas, test e incluso correr modelos, además ofrece una gran variedad de técnicas gráficas y manejo de imágenes tanto en 2D como 3D [21].

Específicamente, para esta investigación se usó el paquete Geomorph, que proporcionan rutinas para todas las etapas de análisis de morfometría geométrica basada en el punto de referencia, incluyendo: puntos de referencia de digitalización en dos y tres dimensiones; de lectura y punto de referencia manipulando los datos de los archivos; la generación de variables de la forma a través de análisis de Procrustes para puntos, curvas y superficies; la realización de análisis estadísticos de variación de la forma y la covariación, y proporciona representaciones gráficas de formas y patrones de variación de la forma [22].

5.3. MARCO INSTITUCIONAL

5.3.1. UNIVERSIDAD SANTO TOMAS

La Universidad Santo Tomás (USTA) fue fundada el 13 de junio de 1580 por la Orden de Predicadores (padres dominicos), lo que le otorga el título de primer claustro universitario de Colombia [23].

Actualmente la universidad cuenta con 5 sedes a lo largo del país, a saber: Bogotá, Medellín, Villavicencio, Bucaramanga y Tunja. Además de ello cuenta con acreditación de alta calidad en muchos de sus programas académicos como Comunicación Social, Psicología, Cultura Física, por mencionar algunos; y específicamente en la división de ingenierías, los programas con acreditación de

alta calidad son: ingeniería Civil, Electrónica, Mecánica y de Telecomunicaciones[23].

Esta investigación busca complementar los conocimientos en al área de calidad del agua, dejando bases para el desarrollo de nuevas investigaciones no solo a nivel institucional sino con miras al desarrollo del conocimiento de estos organismos a nivel nacional [23].

5.3.2. CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DE CUNDINAMARCA (CAR)

La CAR es el ente encargado de ejercer como máxima autoridad ambiental en su jurisdicción, dentro de la cual se encuentran la cuenca alta del Rio Bogotá delimitada por este mismo con el Acuerdo 58 de 1987 donde se estableció la zonificación de los tres tramos del río; para este estudio se tuvo en cuenta la cuenca alta, definida desde el nacimiento del rio en Páramo de Guacheneque hasta el Puente de La Virgen en el municipio de Cota, con un recorrido de 170 km [24].

5.3.3. INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES (IDEAM)

El IDEAM es una institución pública de apoyo técnico y científico al Sistema Nacional Ambiental, que genera conocimiento, produce información confiable, consistente y oportuna, sobre el estado y las dinámicas de los recursos naturales y del medio ambiente, que facilite la definición y ajustes de las políticas ambientales y la toma de decisiones por parte de los sectores público, privado y la ciudadanía en general.” [25].

Para dar apoyo técnico-científico a los organismos que forman el Sistema Nacional Ambiental (SINA), la Ley 99/ creó el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (Ideam) como establecimiento público adscrito al Ministerio del Medio Ambiente. Inició sus labores el 1° de marzo de 1995 integrando algunas de las funciones del Himat (Instituto Colombiano de Hidrología, Meteorología y Adecuación de Tierras), de Ingeominas (Instituto de Investigaciones en Geociencias, Minería y Química), del Instituto Geográfico Agustín Codazzi y del Inderena (Instituto Nacional de los Recursos Naturales y del Ambiente) [25].

El IDEAM fue creado bajo la ley 99 de 1993, se organizó y estableció a través del decreto 1277 de 1994 y se adoptaron los estatutos bajo el decreto 2241 de 1995 [25].

5.4. MARCO LEGAL

En la siguiente tabla se resumen los documentos normativos que se relacionan con el desarrollo del presente trabajo.

TABLA 2. LEGISLACIÓN APLICABLE AL PROYECTO

DOCUMENTO	RESUMEN
Decreto-Ley 2811 de 1974	En cual se estipula el Código Nacional de Recursos Naturales Renovables y Protección al Medio Ambiente y se dictan disposiciones sobre el cuidado del recurso acuático en cualquiera de sus formas.
Decreto 1541 de 1978	En el cual se hacen todas las disposiciones para uso de aguas no marítimas y las características bajo las cuales se otorgan concesiones para el uso de las mismas.
Decreto 1594 de 1984, artículos 20 y 21	Que se refiere a uso del agua y residuos líquidos y hace especial énfasis en sustancias de interés sanitario y usuario de interés sanitario.
Decreto 2857 de 1981	Se dictan todas las disposiciones para la definición de Cuenca Hidrográfica, el ordenamiento y aprovechamiento de la misma.
Decreto 1076 de 2015	Que es el Decreto Único Reglamentario del sector Ambiente y Desarrollo Sostenible y se refiere específicamente a la protección y aprovechamiento de las aguas.
Decreto 3930 de 2010	Por medio del cual se dictan las disposiciones relacionadas con el uso del recurso hídrico su ordenamiento y los vertimientos sobre estas.

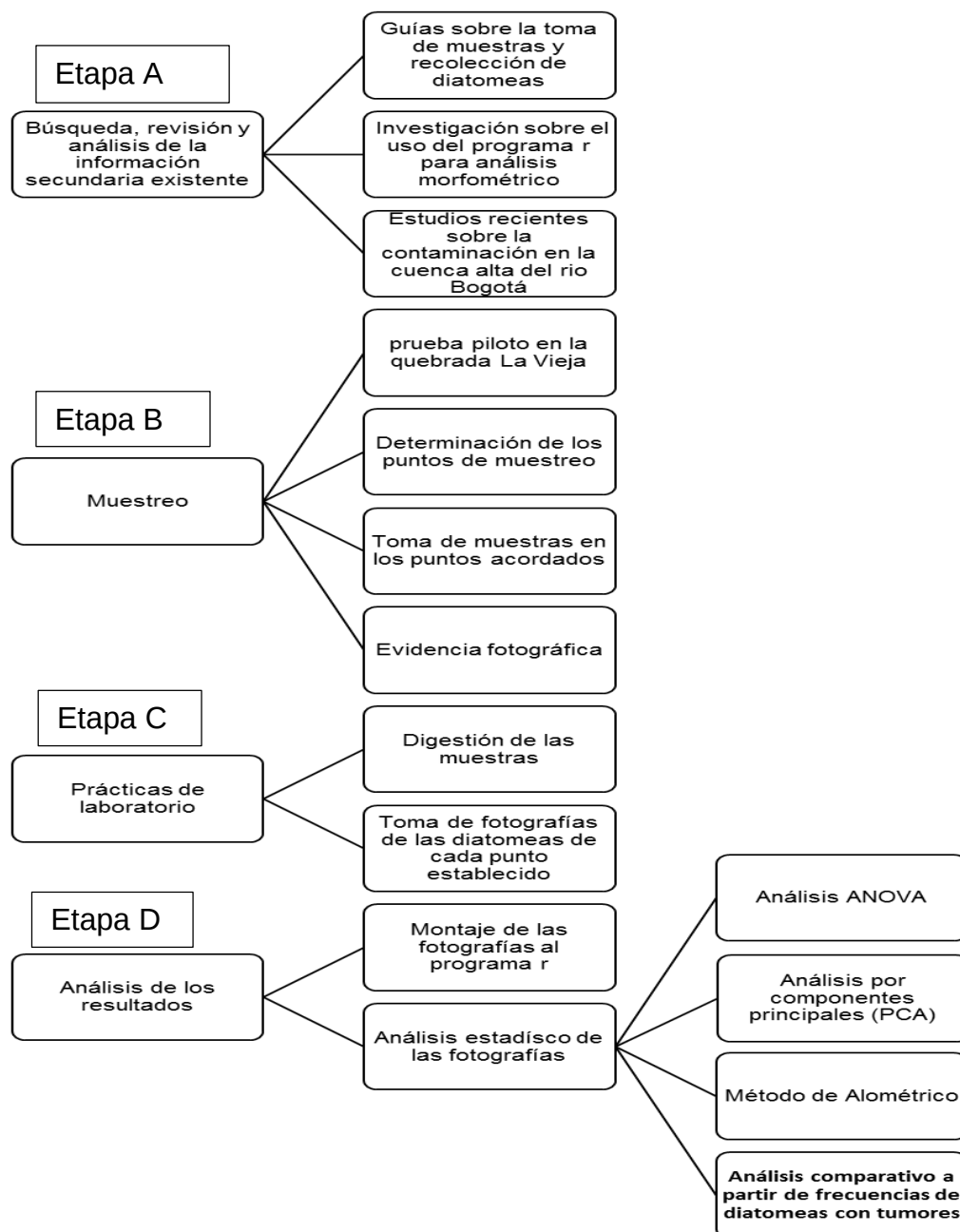
Fuente: Elaboración propia

6. DESARROLLO CENTRAL

La metodología usada para la determinación de la influencia de la contaminación de la cuenca alta y medio del río Bogotá sobre los frústulo de las diatomeas de sustrato rocoso se desarrolló en varias etapas como se muestra a continuación

Diagrama de flujo de la metodología:

ILUSTRACIÓN 6. ESQUEMA DE LA METODOLOGÍA APLICADA



Fuente: elaboración propia

6.1. BÚSQUEDA, REVISIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN SECUNDARIA EXISTENTE.

La información sobre contaminación de la cuenca alta del río Bogotá no es sencilla de conseguir, sin embargo se obtuvieron datos suministrados por la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca que indican que en las tres estaciones que se muestran a continuación no se encontraron concentraciones de Cromo VI por encima de 0.020ppm [24].

6.2. VISITA Y PRUEBA PILOTO EN LA QUEBRADA LA VIEJA, BOGOTÁ.

Se realizó una prueba piloto en la quebrada La Vieja, ubicada en la localidad de Chapinero, con el fin de determinar cuál era el mejor sustrato para hacer el muestreo y con el fin de estandarizar el proceso de digestión de las muestras. En esta prueba se tomaron muestras en un punto de la quebrada tanto en sustrato rocoso como en lodoso, las muestras fueron conservadas y tratadas en laboratorio bajo dos protocolos de digestión debidamente especificados en el Anexo 2.

6.3. DETERMINACIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREO EN LA CUENCA ALTA DEL RÍO BOGOTÁ.

Después de revisar los documentos que dan cuenta del monitoreo de calidad del agua a lo largo de la cuenca alta del Río Bogotá proporcionados por la Subdirección de Desarrollo Sostenible de la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca, se determinaron 4 puntos de muestreo los cuales se seleccionaron de la siguiente manera:

ESTACION A:

la primera estación de muestreo está ubicada aguas abajo del pozo de La Nutria y se encuentra dentro del área de reserva forestal del páramo, en esta estación hay vegetación abundante y no se observa contaminación directa al cuerpo de agua de hecho por ser un área protegida el acceso a la misma no es sencillo.

En cuanto a las características del río se observan rocas de gran tamaño y el agua se encuentra a baja temperatura, es completamente incolora y no hay presencia de olores.

ESTACION B

Esta estación está ubicada en la zona rural del municipio de Villapinzón, a su alrededor se observa el asentamiento de algunas familias campesinas que tienen pequeños cultivos de papa especialmente y algunas vacas lecheras, de hecho en este punto se encontró un pequeño vertimiento de grasas de una empresa familiar que produce quesos.

En este punto la temperatura del agua ha aumentado un poco y el aspecto de la misma es más turbia, el grado de sombra sobre el río es menor porque al rededor se encuentran solo pastizales.

ESTACION C:

Esta estación está ubicada justo después del punto de descarga de aproximadamente unas 15 fábricas artesanales dedicadas al curtido de cueros, aguas arriba de la estación C se observan vertimientos directos al río.

En este punto el agua es mucho más turbia y en la superficie se observan amplias capas de grasas, en la ronda del río se encontraron basuras y se perciben olores desagradables.

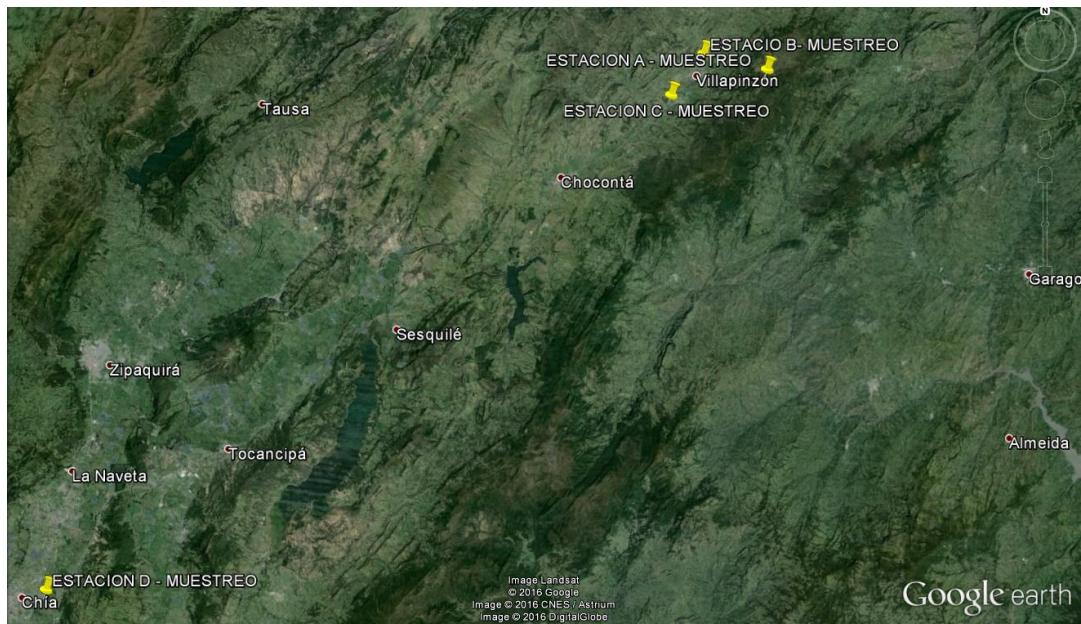
ESTACION D:

Esta fue la última estación que estuvo ubicada a pocos metros de la carretera que del municipio de Chía conduce a Bogotá, en este punto el río tiene un caudal más amplio y a su alrededor se observan pastos de poca altura, presencia de ganado y basuras.

En este punto el agua es muy turbia de un color verde grisáceo y se perciben olores desagradables además de ello la temperatura del agua es mucho mayor con relación a la primera estación.

Además su fácil acceso y cercanía con los puntos establecidos por la CAR, como muestra la ilustración 7 que cumplieran con las siguientes condiciones: se seleccionaron tramos de mínimo 10 veces el ancho del cuerpo de agua, de uniformidad física y de disponibilidad abundante de sustrato rocoso. Se realizó una descripción detallada del lugar de muestro con los siguientes datos: localización, ancho, profundidad, tipo de sustrato, presencia de macrófitos, grado de sombra, entre otros datos de interés de la zona que se encuentran como anexo 3, adicionalmente se hizo registro fotográfico del lugar.

ILUSTRACIÓN 7. ESTACIONES MUESTREO RIO BOGOTÁ



Fuente: Elaboración propia

6.4. MUESTREO DE SUSTRATO ROCOSO EN LA CUENCA ALTA DEL RÍO BOGOTÁ

Se seleccionaron entre 3 y 5 sustratos rocosos: cantos rodados (6-25 cm) o bloques (>25 cm) con un área promedio de 15 cm cuadrados. Se recogieron en dirección aguas arriba de la corriente.

Se extrajeron rocas que se encontraban en una zona eufótica a una profundidad mínima de 20 cm y lejos de impactos como puentes, paso de ganado o desagües.

Se realizó el cepillado de la parte superior de las rocas y se enjuagó con ayuda del frasco lavador que contiene etanol (96%). Se enjuagó el cepillo en el etanol para transferir las diatomeas removidas y con ayuda del frasco lavador se terminó de remover el biofilm. Luego se etiquetaron las muestras y se conservaron, para ello se usó formaldehído tamponado, se conservaron en frío (4°C) el registro fotográfico del muestreo se encuentra en el Anexo 4. Es importante resaltar que las muestras son combinadas, lo que quiere decir que no se diferencian por cantos rodados.

6.5. ENSAYO CROMO VI (Cr^{+6})

Se realizó un ensayo con Cr^{+6} , basados en la investigación realizada por (Alaya y Iannacone) y motivado por la literatura encontrada que refiere importantes cambios en las diatomeas cuando están en contacto con esta sustancia, sin embargo ninguno de los artículos revisados hacía énfasis en cambios de morfología de estos microorganismos, este ensayo se realizó con el fin de establecer si las diatomeas

son sensibles a concentraciones mayores o iguales a las establecidas en la norma y a la determinación de los individuos más sensibles.

La preparación del patrón de Cr^{+6} se realizó a partir del compuesto como se muestra a continuación:

Fórmula $K_2Cr_2O_7$ Peso molecular: 294.19 g

0.5g de Cr/L

$$f = \frac{PM\ Cr}{PM\ K_2Cr_2O_7} = \frac{m\ Cr}{m\ sal}$$

$$\frac{52}{294.19} = \frac{0.5}{x\ sal}$$

$$x\ sal = \frac{294.19}{52} * 0.5$$

$$= 2.83\ g\ sal\ dicromato\ de\ potasio$$

Diluciones

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$C_1 = 1000$$

$$V_1 = x$$

$$C_2 = \frac{100\ mg}{L}$$

$$1000 * V_1 = 100 \frac{mg}{L} * 1000\ ml$$

$$V_1 = 10\ ml$$

$$Toma\ 1 = 10\ ml\ (1000) = vol\ 0.01\ ml$$

$$Toma\ 2 = 5\ ml\ (1000) = vol\ 0.05\ ml$$

$$Toma\ 3 = 100\ ml\ (1000) = vol\ 0.1\ ml$$

Para este ensayo se tomaron diatomeas incubadas en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Santo Tomas, las cuales fueron expuestas a diferentes concentraciones de Cr^{+6} , a saber 10 ppm, 50 ppm y 100 ppm. En cada caso se agregó 1 ml de agua con diatomeas, se realizaron 3 repeticiones de cada ensayo, las muestras fueron revisadas cada 3 días como se muestra a continuación en la tabla 3 y en el Anexo 5 se observa el registro fotográfico del experimento.

TABLA 3. CONTROL DE CONCENTRACIONES

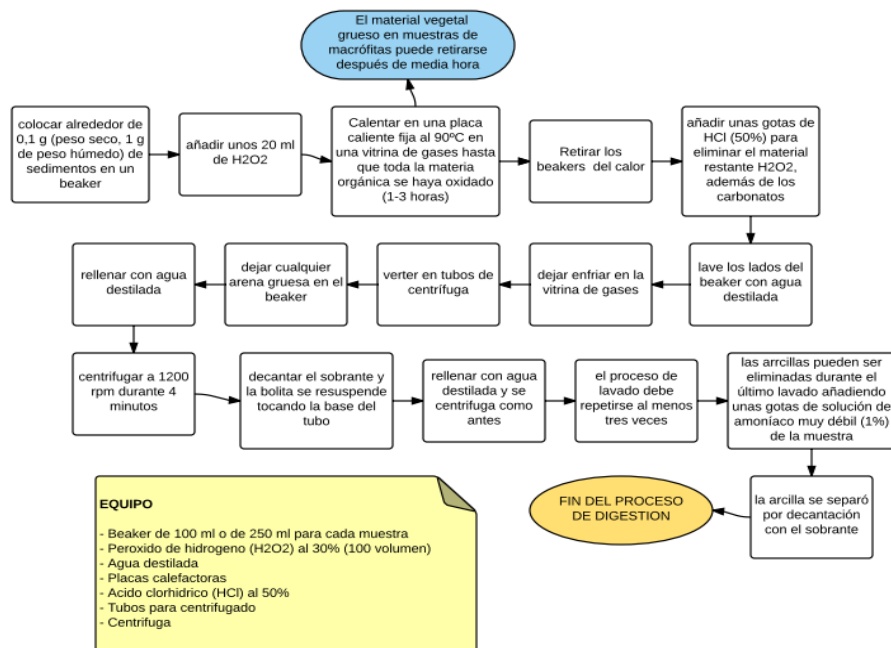
FECHA	MUESTRA	CONCENTRACION (ml Cr^{+6})
Martes 17 de noviembre	Día 1	10 ppm, 50 ppm y 100 ppm
Viernes 20 de noviembre	Día 2	10 ppm, 50 ppm y 100 ppm
Lunes 23 de noviembre	Día 3	10 ppm, 50 ppm y 100 ppm

Fuente: Elaboración Propia

6.6. PROCESAMIENTO EN LABORATORIO DE LAS MUESTRAS

Las muestras tomadas fueron sometidas, inicialmente a un proceso de digestión con el fin de eliminar materia orgánica y minerales que dificulten la identificación de las diatomeas. Para ello se siguió el diagrama de flujo que se presenta continuación:

ILUSTRACIÓN 8. FLUJOGRAMA DE LA DIGESTIÓN DE LAS MUESTRAS



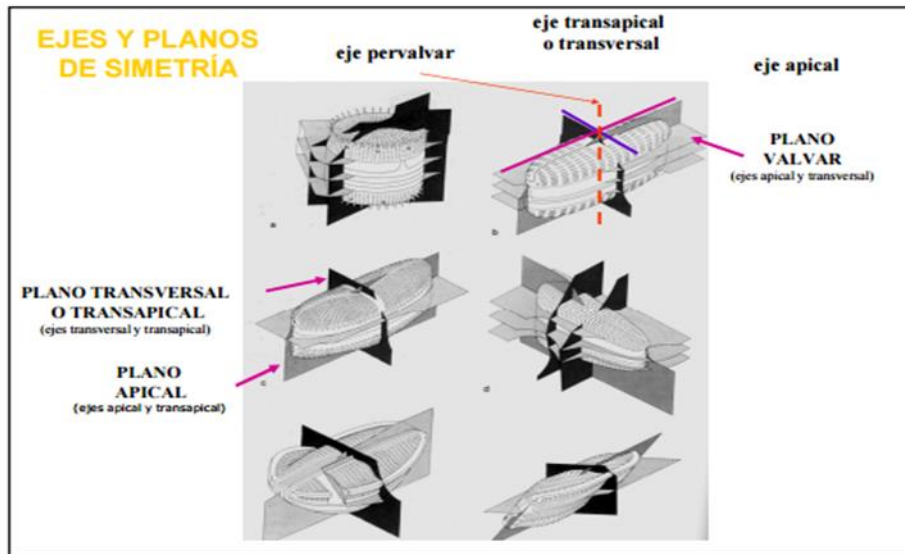
Fuente: [26]

Seguidamente se colocó una gota de la muestra en lámina, se calentó hasta secar, se colocó un cubre-objetos y cada lámina estaba debidamente rotulada.

6.7. DEFINICIÓN DE MORFOTIPOS

La definición de los ejes y los planos de simetría se hizo bien de forma pervalvar o de forma transapical de acuerdo al morfotipo encontrado de modo que facilitara su estudio:

ILUSTRACIÓN 9. EJES Y PLANOS DE SIMETRÍA



Fuente: [14]

Las diatomeas encontradas en el muestreo se clasificaron en 5 morfotipos y las diatomeas encontradas en el acuario se clasificaron en 8, de acuerdo con sus características tanto biológicas como geométricas, principalmente con el fin de aumentar la probabilidad de encontrar variaciones en los frústulos de los organismos debido a la contaminación.

6.8. ADAPTACIÓN DE LAS HERRAMIENTAS DEL PAQUETE *GEOMOPRH* PARA EL ANÁLISIS DE IMAGEN

Para cada morfotipo se creó una carpeta que contenía todas las imágenes que a ella correspondía, cada foto esta nombrada de modo que sea posible identificar en que estación se tomó y a que morfotipo pertenece o, para el caso del experimento la concentración y la cantidad de días que estuvo expuesta la muestra.

Para dar inicio a la digitalización se cargan los paquetes "rgl", "ape" y "geomoprh" y posterior a ello se carga la carpeta que contiene las imágenes así:

ILUSTRACIÓN 10. CÓDIGO PARA LA DIGITALIZACIÓN DE LAS DIATOMEAS

```
R Console

R es un proyecto colaborativo con muchos contribuyentes.
Escriba 'contributors()' para obtener más información y
'citation()' para saber cómo citar R o paquetes de R en publicaciones.

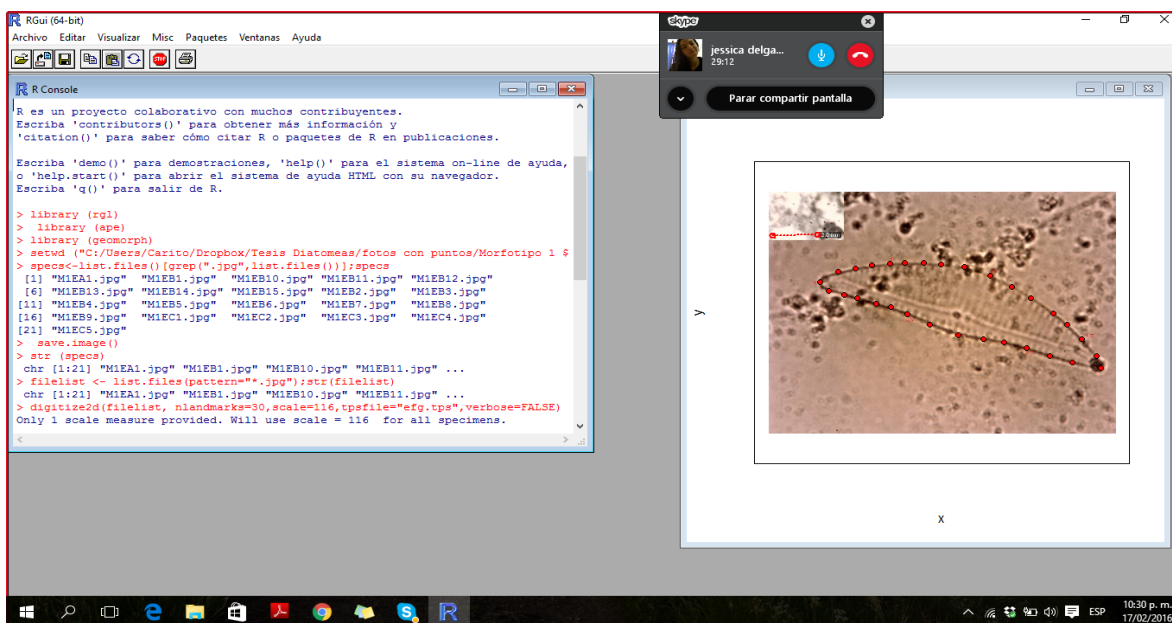
Escriba 'demo()' para demostraciones, 'help()' para el sistema on-line de ayuda,
o 'help.start()' para abrir el sistema de ayuda HTML con su navegador.
Escriba 'q()' para salir de R.

> library (rgl)
> library (ape)
> library (geomorph)
> setwd ("C:/Users/Carito/Dropbox/Tesis Diatomeas/fotos con puntos/Morfotipo 1 &
> specs<-list.files() [grep(".jpg",list.files())];specs
[1] "M1EA1.jpg" "M1EB1.jpg" "M1EB10.jpg" "M1EB11.jpg" "M1EB12.jpg"
[6] "M1EB13.jpg" "M1EB14.jpg" "M1EB15.jpg" "M1EB2.jpg" "M1EB3.jpg"
[11] "M1EB4.jpg" "M1EB5.jpg" "M1EB6.jpg" "M1EB7.jpg" "M1EB8.jpg"
[16] "M1EB9.jpg" "M1EC1.jpg" "M1EC2.jpg" "M1EC3.jpg" "M1EC4.jpg"
[21] "M1EC5.jpg"
> save.image()
> str (specs)
chr [1:21] "M1EA1.jpg" "M1EB1.jpg" "M1EB10.jpg" "M1EB11.jpg" ...
> filelist <- list.files(pattern="*.jpg");str(filelist)
chr [1:21] "M1EA1.jpg" "M1EB1.jpg" "M1EB10.jpg" "M1EB11.jpg" ...
> digitize2d(filelist, nlandmarks=30,scale=116,tpsfile="efg.tps",verbose=FALSE)
Only 1 scale measure provided. Will use scale = 116 for all specimens.
```

Fuente: elaboración propia, software estadístico R

Enseguida cargara la primera imagen y se debe definir en primer lugar la escala y posterior a ello se podrá iniciar la digitalización de los puntos, es importante tener en cuenta que estos se deben digitalizar de acuerdo a lo establecido teniendo en cuenta el eje de simetría de la diatomea

ILUSTRACIÓN 11. DIATOMEA DIGITALIZADA



Fuente: elaboración propia, software estadístico R

ILUSTRACIÓN 12. CÓDIGO DE DIGITALIZACIÓN FINALIZADO

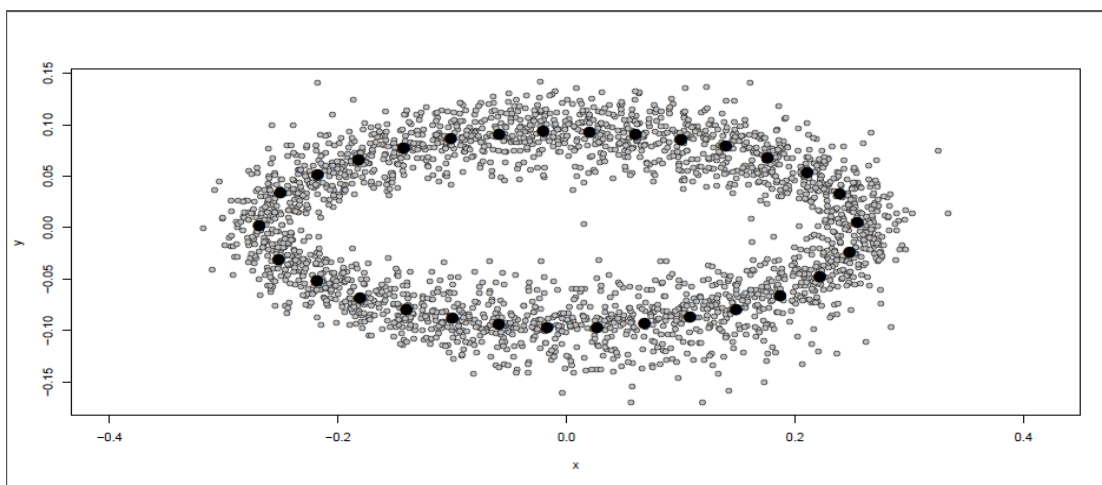
```
R Console
Y
Select landmarks 1:30
Continue to next specimen (y/n)?
Y
Digitizing specimen 25 in filelist
Set scale = 116
Keep scale (y/n)?
Y
Select landmarks 1:30
Continue to next specimen (y/n)?
Y
Digitizing specimen 26 in filelist
Set scale = 116
Keep scale (y/n)?
Y
Select landmarks 1:30
Continue to next specimen (y/n)?
Y
Digitizing specimen 27 in filelist
Set scale = 116
Keep scale (y/n)?
Y
Select landmarks 1:30
Continue to next specimen (y/n)?
|
```

Fuente: elaboración propia, software estadístico R

Cuando se digitaliza el último individuo se genera un archivo tps, el cual contiene la información de cada punto digitalizado, como el número de puntos, de lados y el número de puntos con sus correspondientes coordenadas.

Para realizar un análisis de asimetría direccional y fluctuante para objetos con simetría bilateral y el análisis estadístico se utilizan funciones como *Procrustes* la cual gira una configuración de máxima similitud con otra configuración.

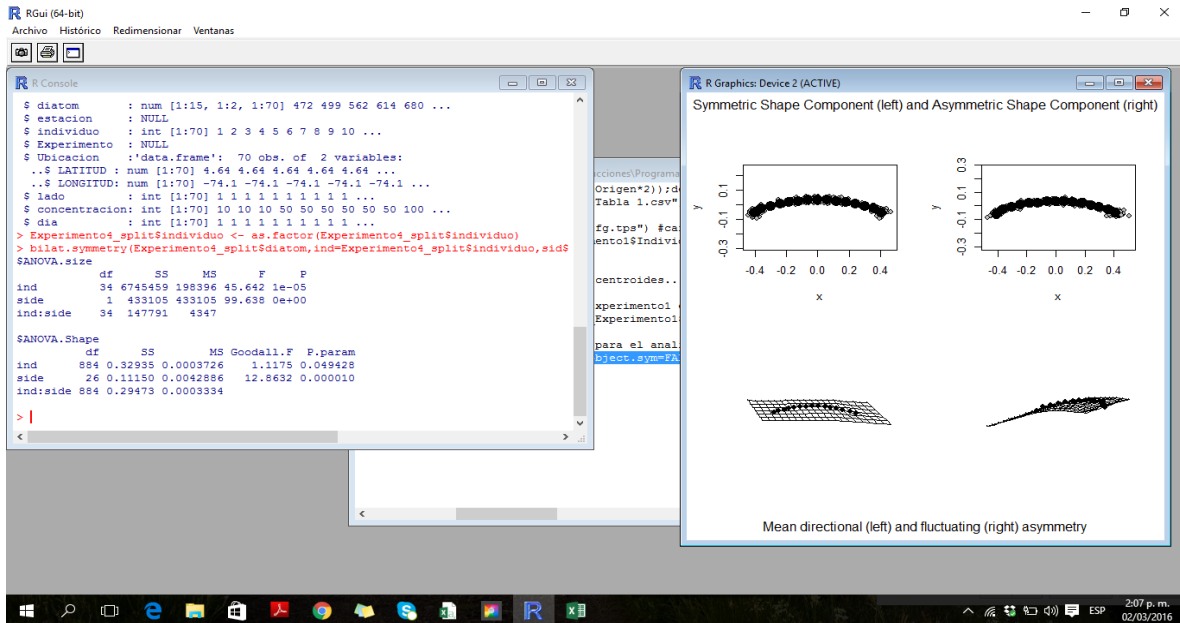
ILUSTRACIÓN 13. PROCRUSTES



Fuente: elaboración propia, software estadístico R

Después de esta se requiere una función llamada `bilat.symmetry` la cual realiza un análisis de asimetría direccional y fluctuante para objetos con simetría bilateral

ILUSTRACIÓN 14. PROCRUSTES Y MALLAS POR VALVAS, Y TABLAS ANOVA

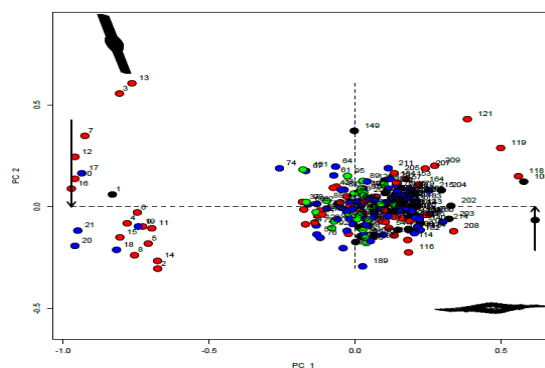


Fuente: elaboración propia, software estadístico R

Posterior a esto se utiliza la siguiente función `procD.lm {geomorph}` la cual realiza el Procrusto ANOVA con los procedimientos de permutación para evaluar hipótesis estadísticas que describen los patrones de variación de la forma y la covariación para un conjunto de coordenadas alineados llamados Procrusto.

La función `plotTangentSpace` traza un conjunto de muestras alineadas en el espacio tangente a lo largo de sus ejes principales

ILUSTRACIÓN 15. GRÁFICO DEL ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES



Fuente: elaboración propia, software estadístico R

6.9. FORMULACIÓN DE ÍNDICES EN EXCEL

Para comparar los datos obtenidos tanto en el muestreo como en el experimento se elaboró una tabla de Excel que comparo la cantidad total de diatomeas sobre la cantidad de células con tumor esperando de esta manera encontrar una similitud entre las concentraciones de Cr^{+6} del experimento y las probables concentraciones en el río, para contrastar esto de forma más sencilla se elaboró una gráfica que muestra claros resultados como se ve en la gráfica 26.

7. RESULTADOS

RESULTADOS ETAPA A

7.1. REVISION Y ANÁLISIS DE LA INFORMACION SECUENDARIA EXISTENTE

La CAR es el ente encargado del monitoreo de la calidad del agua de la cuenca alta del Río Bogotá, sin embargo en los documentos facilitados por la entidad se encuentra que durante el año 2012 no se monitorearon metales pesados que tienen amplia relación con las actividades económicas que se desarrollan a lo largo de la cuenca alta del río, y para el caso de Cromo Total solo hay reporte del primer semestre de 2012 y está por debajo del límite de sensibilidad. Durante el 2013 solamente el Níquel reportó valores en promedio de 3.42 mgNi/L(ppb) hasta el municipio de Villapinzón ya que en la última estación, ubicada antes de la Quebrada La Quincha se reporta un valor de 8.89 mgNi/L(ppb). Durante el 2014 los valores registrados no superaron el límite de sensibilidad pero se reportaron valores para sólidos totales y DQO. En el siguiente año el muestreo se realizó en el mes de marzo y de nuevo todos los valores se ubicaron por debajo del límite de sensibilidad, como se muestra en el anexo 1.

Los estudios de contaminación no entregan valores significativos para cromo VI es decir el valor reportado siempre está por debajo de la norma y por el otro lado se encontró una recopilación de estudios, compilada por (Montoya, Sala, Vouilloud, Aguirre y Plata) [17], en el cual se describe una amplia variedad de especies de todo el país y se encuentra que hay una importante falta de información de la zona sur del país y que la mayoría de diatomeas reportadas son detectables con microscopio óptico[17].

A pesar de la gran variedad de diatomeas registradas hoy en día no existe para Colombia ningún estudio hecho a partir de morfotipos ni usando herramientas de análisis de imagen. Sin embargo esta técnica ya es aplicada en otros organismos tales como conchas y alas de mosquito, en el primero de ellos se establecen la forma como se deben distribuir los puntos para que al plotear la imagen esta conserve fielmente la morfometría de la concha y en el segundo estudio se presenta la forma adecuada como deben ser comparadas las alas de los mosquitos, todas

las herramientas allí encontradas sirvieron de base para la construcción del código que usamos para trabajar con las diatomeas.

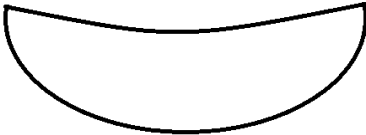
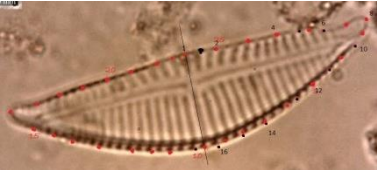
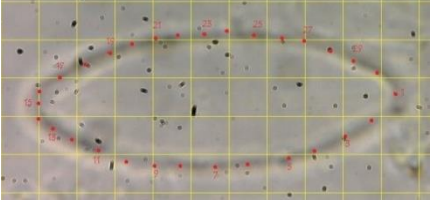
7.2. REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LAS DIATOMEAS

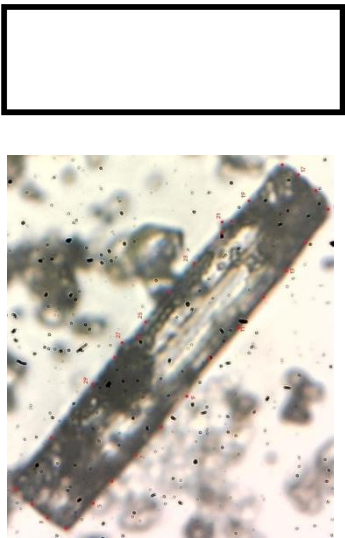
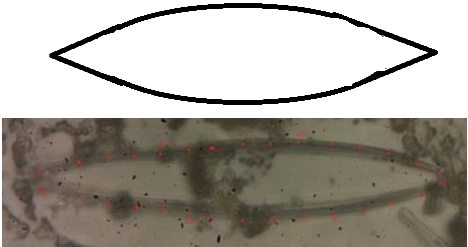
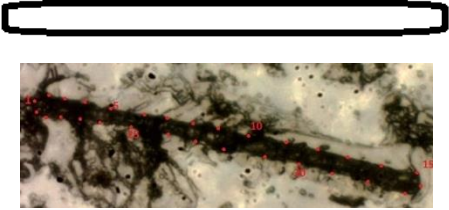
El registro fotográfico para el muestreo contó con un total de 215 fotos divididas en 5 morfotipos, cada foto debidamente identificada con número de foto, morfotipo y estación a la que corresponde.

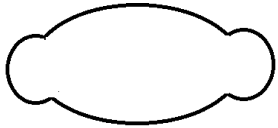
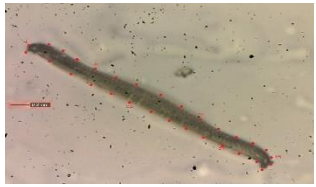
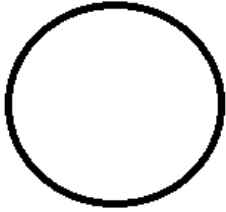
Para el ensayo con Cr^{+6} se tomaron un total de 307 fotos divididas en 8 morfotipos que están registradas con número de foto, morfotipo, concentración y cantidad de días a la que estuvo expuesta la célula identificada.

RESULTADOS ETAPA B

7.3. DETERMINACIÓN DE MORFOTIPOS

Morfotipo	Características	Imagen referencia
Morfotipo 1	Superficie alargada con uno de los lados curvos y el otro tendiente a línea recta, similar a media luna.	 
Morfotipo 2	Superficies con forma ovalada, con terminaciones curvas en los dos extremos.	 

Morfotipo	Características	Imagen referencia
Morfotipo 3	Superficies rectangulares con bordes definidos tendientes a formar ángulos rectos.	 Diagrama de un rectángulo y una imagen microscópica de un cristal rectangular.
Morfotipo 4	Superficies ovalas con puntas en ángulo.	 Diagrama de una forma ovalada con puntas y una imagen microscópica de un cristal ovalado.
Morfotipo 5	Superficies alargadas como bastones con bordes curvos.	 Diagrama de un rectángulo alargado y una imagen microscópica de un cristal alargado.

Morfotipo	Características	Imagen referencia
MORFOTIPO 6 (EXPERIMENTO)	Superficies ovaladas con extremos redondos	 
MORFOTIPO 7 (EXPERIMENTO)	Superficies alargadas con protuberancias en el centro y extremos	 
MOROFOTIPO 8 (EXPERIMENTO)	Superficies totalmente redondas	 

Las imágenes anteriormente observadas fueron tomadas con la cámara DinoCapture 2.0 con versión del software 1.4.1.

7.4. DETERMINACIÓN DEL EJE DE SIMETRÍA POR MORFOTIPO

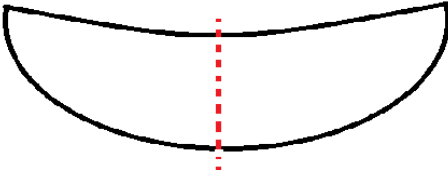
Para el estudio de las imágenes a partir del software R con la herramienta geomorph se definieron varios parámetros así:

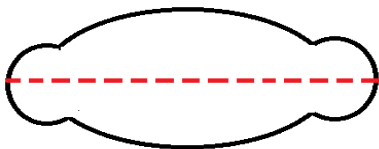
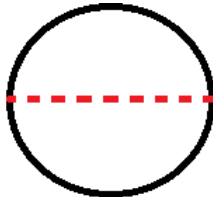
- Por las características de las fotos se definió que cada imagen debería llevar 30 puntos para abarcar un área considerable donde fuera posible referenciar

con precisión los lugares donde se encontraran tumores y así obtener una base de datos robusta que ofrezca un análisis confiable. Al momento de digitalizar los puntos previamente hechos, se debe hacer con el mismo orden para todos los individuos, es decir que si se empieza a digitalizar en sentido de las manecillas del reloj, se debe digitalizar todos los individuos de esta manera.

- Se definió también el eje central de cada morfotipo para que la distribución de los puntos fuera lo más homogénea posible así:

TABLA 4. EJES CENTRALES PARA CADA MOROFOTIPO

Morfotipo	Eje central
Morfotipo 1	
Morfotipo 2	
Morfotipo 3	
Morfotipo 4	
Morfotipo 5	

Morfotipo 6 (experimento)	
Morfotipo 7 (experimento)	
Morfotipo 8 (experimento)	

Fuente: Elaboración propia

RESULTADOS ETAPA D

7.5. ANÁLISIS DE RESULTADOS DEL MUESTREO

7.5.1. ANÁLISIS ESTADISTICO MÉTODO ANOVA

Como primera herramienta se usaron las tablas ANOVA que ofrecen un análisis de varianza de efecto aleatorios para este caso relacionando el tamaño y la forma con el conjunto de individuos y los lados de cada célula.

TABLA 5. ANÁLISIS ANOVA MORFOTIPO 1 VS MORFOTIPO 1 CORREGIDO

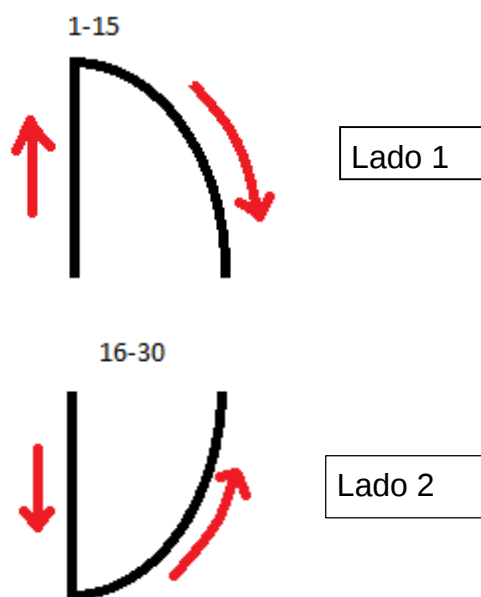
	ANOVA TAMAÑO	
	M1	M1 CORREGIDO
Individuo	0,00001	0,00001
Lado	0,0065719	0,27106

	ANOVA FORMA	
	M1	M1 CORREGIDO
Individuo	1,00E-05	1
Lado	7,56E-08	0,98817

Fuente: Elaboración Propia

De acuerdo a la tabla 5, el análisis de la varianza, según su tamaño y forma por individuos y lado son significativas, esto se puede deber a que los individuos pertenecientes a este morfotipo tienen una gran versatilidad en cuanto a su tamaño. Con relación a la forma, se puede concluir que los individuos no fueron bien escogidos para este morfotipo que hay tal variación que se necesita dividir el morfotipo en submorfotipos para establecer una semejanza entre este grupo. Otra explicación a los resultados, es que la diferencia sea dada por la forma de digitalización, ya que los individuos presentes en este morfotipo tienen un eje de simetría diferente a las algas pertenecientes a los otros grupos, es por esto que se recomienda establecer una forma de digitalización distinta a la convencional como se refiere a la siguiente ilustración.

ILUSTRACIÓN 16. ORDEN DE SECUENCIA DE LOS PUNTOS PARA DIGITALIZAR ORGANISMOS QUE PERTENEZCAN AL MORFOTIPO 1



Fuente: Elaboración Propia

Debido a los resultados obtenidos en la tabla 5, donde se observó una varianza significativa entre individuos en cuanto a forma y tamaño, se estableció que la forma misma del individuo no se puede digitalizar igual a los individuos pertenecientes a otros morfotipos, ya que la función toma el “lado 2” de la diatomea lo refleja y lo compara con el “lado 1”, por esto se establece que para la digitalización de los individuos pertenecientes al morfotipo 1, se debe seguir el orden que se especifica en la ilustración 9, en la cual se representa una diatomea perteneciente a este morfotipo.

De acuerdo a lo anterior se hizo la corrección de la tabla ANOVA, la cual se presenta a en la tabla 5.

Debido a la corrección efectuada en la digitalización se puede observar el cambio en los datos en cuanto a la forma y tamaño. En este caso la tabla 5, en la columna derecha, muestra una clara diferencia entre el tamaño de los individuos, pero una gran semejanza entre la forma de estos, lo que quiere decir que los individuos claramente pertenecen al morfotipo 1 y que las diferencias entre sus lados no son significativa.

TABLA 6. COMPARACION ANOVAS POR MORFOTIPO

ANOVA TAMAÑO					
	M1	M2	M3	M4	M5
Individuo	0,00001	0,00001	0,00001	0,00001	0,00001
Lado	0,27106	0,075105	0,10653	0,686	0,84104

ANOVA FORMA					
	M1	M2	M3	M4	M5
Individuo	1	1,90E-07	0,00001	0,10903	0,9994
Lado	0,98817	0,00001	0,16291	0,9243	0,0001

Fuente: Elaboración Propia

La tabla ANOVA, para el morfotipo dos indica que la relación del tamaño entre individuos no es estadísticamente significativa es decir todas las algas del grupo comparten similitudes en cuanto a esta característica, sin embargo si tiene diferencias en sus lados un poco más significativas ya que el valor P sobrepasa el límite de significancia por muy pocas cifras por lo que aunque se presenten diferencias en los lados es probable que sea en muy pocos especímenes del grupo.

En cuanto a forma tanto para individuo como para lado las dos características resultan estadísticamente importantes lo que puede sugerir una alta presencia de deformaciones en el conjunto de algas

Por otro lado el tamaño y forma de los individuos del morfotipo 3 difieren mucho, pero los datos de sus lados no presentan diferencias, esto quiere decir que hay mucha variabilidad de tamaño y forma en el grupo, pero se asemejan entre sus lados,

Para el morfotipo 4 se obtuvieron valores muy significativos según cifras de la tabla ANOVA que por otra parte no considera que el lado en cuanto a tamaño se refiere sea importante estadísticamente , característica que comparte cuando se le compara con la forma, donde tampoco se encontraron diferencias significativas.

Así mismo los valores arrojados para la relación entre forma e individuo tampoco resultaron significativos, por lo que podría suponerse una alta variabilidad en la determinación de los morfotipos.

Por último los individuos pertenecientes al morfotipo 5 difieren mucho entre tamaños, pero su forma es igual, lo que quiere decir que fueron bien escogidos y agrupados, en cuanto a lado se refiere los tamaños no son significativos, pero si en cuanto a forma, este resultado puede darse por la presencia de tumores en los frústulos de las algas que componen este morfotipo.

7.5.2. ANÁLISIS POR COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)

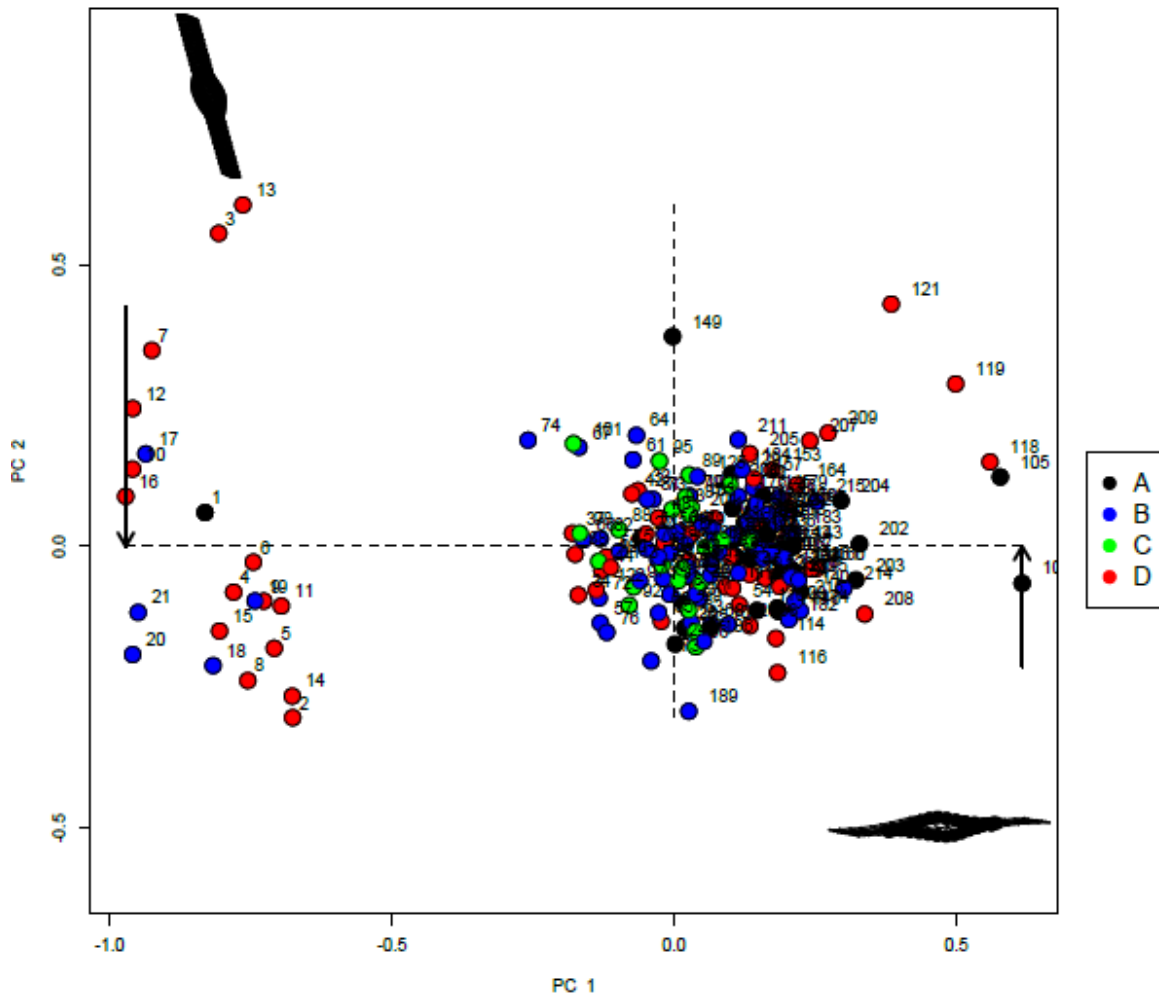
Este tipo de análisis establece un nuevo orden de coordenadas para estudiar el conjunto de datos en el cual se toma la varianza de mayor tamaño y se ubica en el primer eje y así sucesivamente se toman varianzas más pequeñas y se ubican en cada uno de los componentes en orden descendente. Para llegar a determinar los componentes principales es necesario establecer primero la matriz de covarianza

7.5.2.1. PCA PARA LAS ESTACIONES DE MUESTREO

Para el análisis de componentes principales se incluyeron únicamente dos componentes debido a que con el segundo componente se obtiene un valor de 0.88 suficiente para explicar la mayoría de relaciones entre el conjunto de datos.

Para esta caso el método que mejor explica la relaciones entre las estaciones es el método de correlación que brinda un valor de 0.53 entre la estación A y la estación D, gráficamente es posible observar la amplia dispersión para la última estación donde los organismos varían mucho en cuanto a su tamaño y a su forma es posible que en este punto el nivel de contaminación ya haya alterado bastante los morfotipos.

GRAFICO 1. PCA ESTACIONES

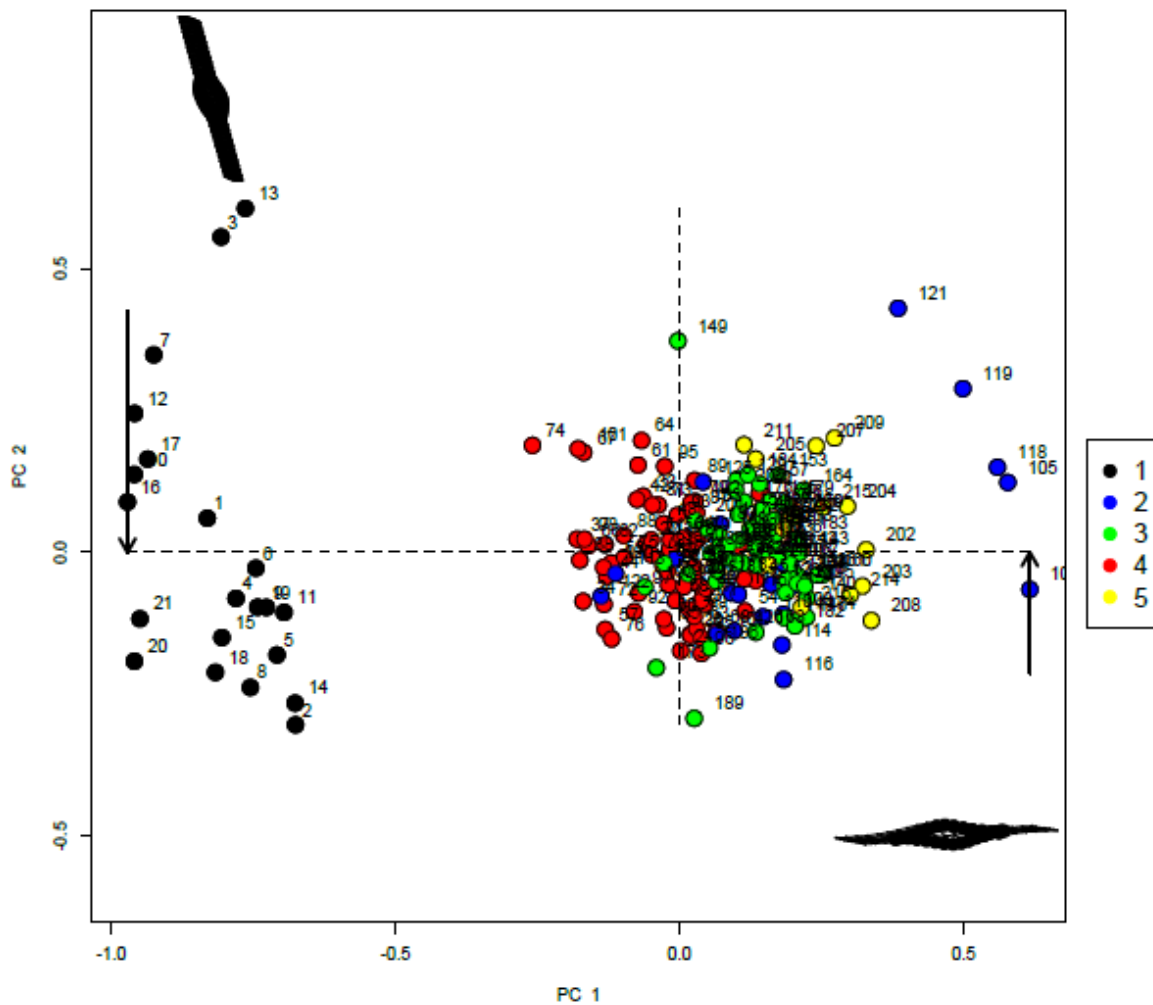


FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

7.5.2.2. ANÁLISIS PCA PARA MORFOTIPO

Para los morfotipos la mayor correlación existe entre los morfotipos 4 y 5, seguramente podría deberse a la cercanía entre los puntos de muestreo, sin embargo también hay un grado considerable de similitud entre el morfotipo 2 y el 4 porque los organismos comparten características de tamaño y de forma ya que poseen estructuras similares en cuanto al patrón del morfotipo establecido para cada grupo.

GRAFICO 2. PCA MORFOTIPOS

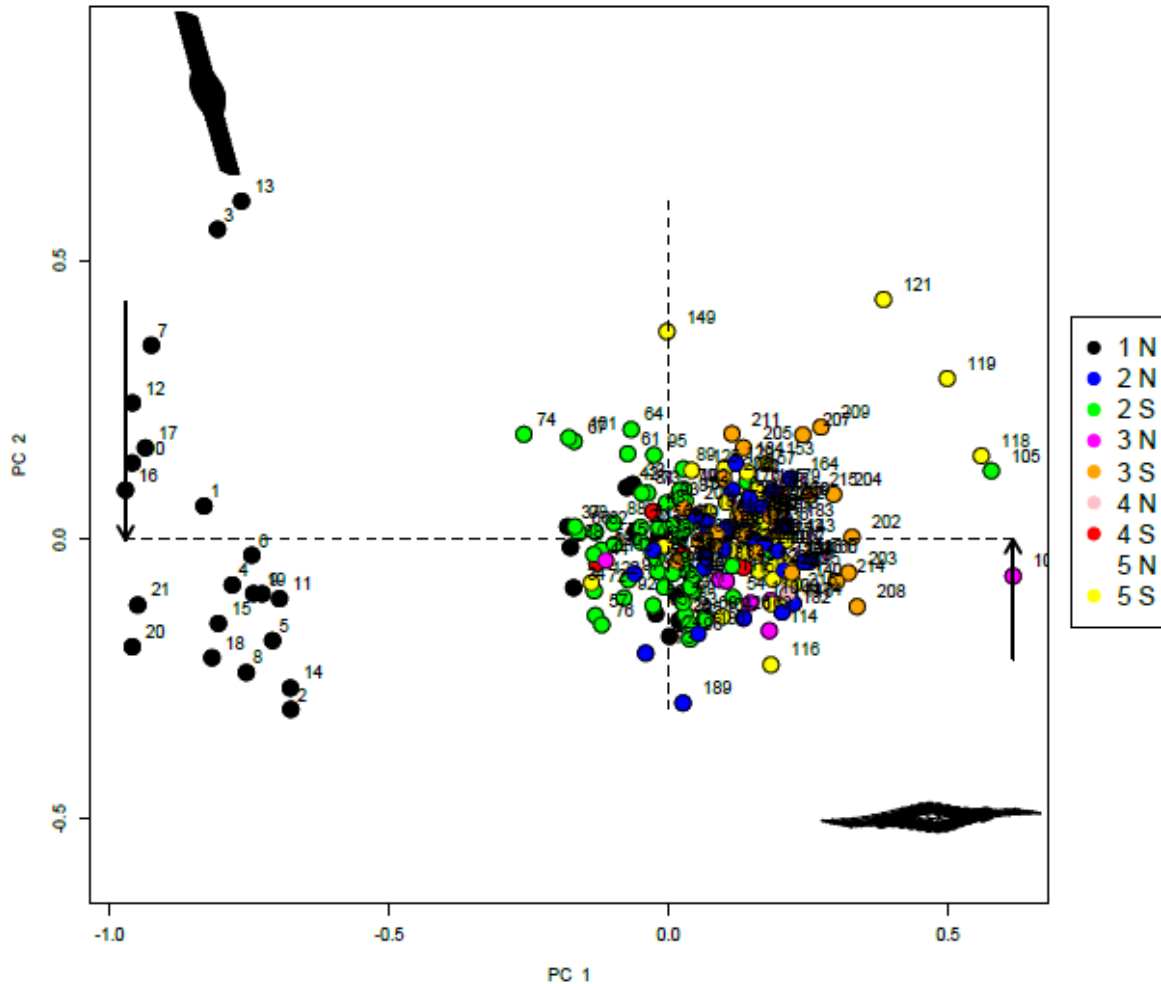


FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

7.5.2.3. PCA PARA PRESENCIA DE TUMORES

Como es de esperarse existe una relación mínima, casi nula entre la presencia de tumores explicada con los valores tanto de la matriz de correlación como con la tabla de covarianza que ofrecen cifras muy bajas y esto implica una alta diferencia en los datos lo que esta evidentemente sustentado no podría parecerse una diatomea sana a una que tiene algún tipo de deformación o tumor en su estructura. En este punto es importante relatar como hay una clara separación del primer morfotipo que es el más diferente del gran conglomerado del grupo lo que demuestra que bajo esta herramienta es posible observar grandes variaciones.

GRAFICO 3. PCA PRESENCIA DE TUMORES



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

7.5.3. MÉTODO ALOMÉTRICO

El método de alometría muestra la relación entre las superficies del conjunto de células, inicialmente en la tabla 20 se puede observar que los valores de P se encuentran muy cerca del valor de significancia 0,05.

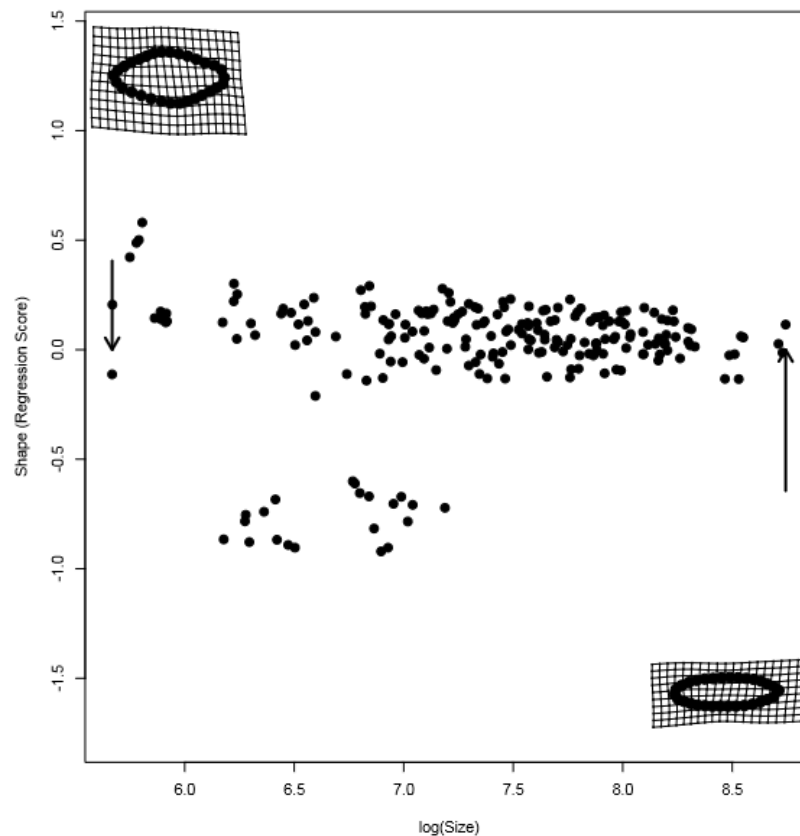
Con el primer método es decir CAC, que es el que ofrece el programa por defecto, se obtiene el componente alométrico común de los datos por medio de la estimación de una tendencia promedio de la alometría dentro de los grupos; para ello la función también calcula un componente residual. Ahora si se escoge el otro método, definido en el software como “RegScore” se estará haciendo una regresión de la forma en tamaño y se asignan unas puntuaciones que son contrastadas con los valores de tamaño. Se debe considerar que para un grupo las puntuaciones de Reg Score son idénticas a las que arroja CAC [22].

TABLA 7. LOG (TAMAÑO) POR ALOMETRIA PARA MORFOTIPOS

METODO	P. VALOR
CAC	0,049
RegScore	0,072

Fuente: Elaboración Propia

GRAFICO 4. RELACIÓN FORMA VS TAMAÑO PARA MORFOTIPOS



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

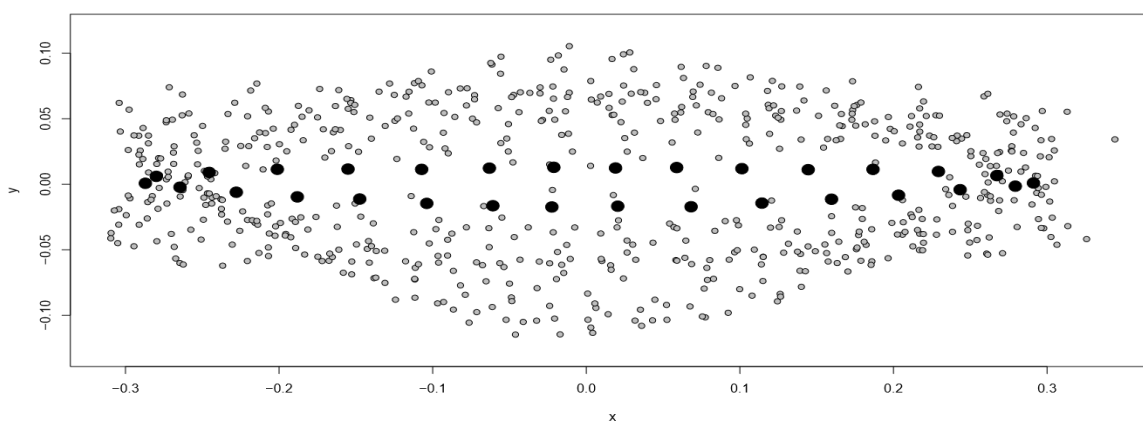
En esta grafica se puede observar que existe una dispersión homogénea de los datos a lo largo de toda la extensión del eje x es decir se encuentran individuos de todos los tamaños en el conjunto total de datos sin embargo se presenta una leve tendencia hacia la derecha del gráfico. También hay que tener en cuenta que hay un grupo marcado que tiene poca relación en su forma y son de tamaño pequeño.

7.5.4. MÉTODO GRÁFICO

Por este método se analizarán las desviaciones geomorfológicas que puedan presentar las células a partir de la interpretación de gráficos obtenidos en R. inicialmente es importante anotar la importancia del orden de digitalización, como se indica en la ilustración 9, especialmente cuando se tienen algunas superficies que no se sobreponen como intuitivamente se espera, lo que genera errores en los resultados.

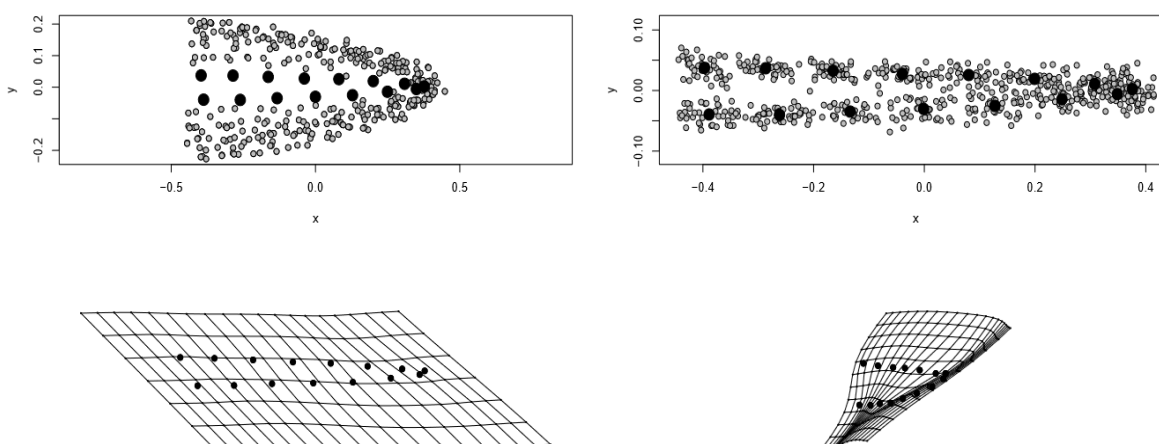
MOROFOTIPO 1 MUESTREO

GRAFICO 5. PROCRUSTES MORFOTIPO 1- MUESTREO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 6. COMPONENTES DE FORMA MORFOTIPO 1 DEL MUESTREO



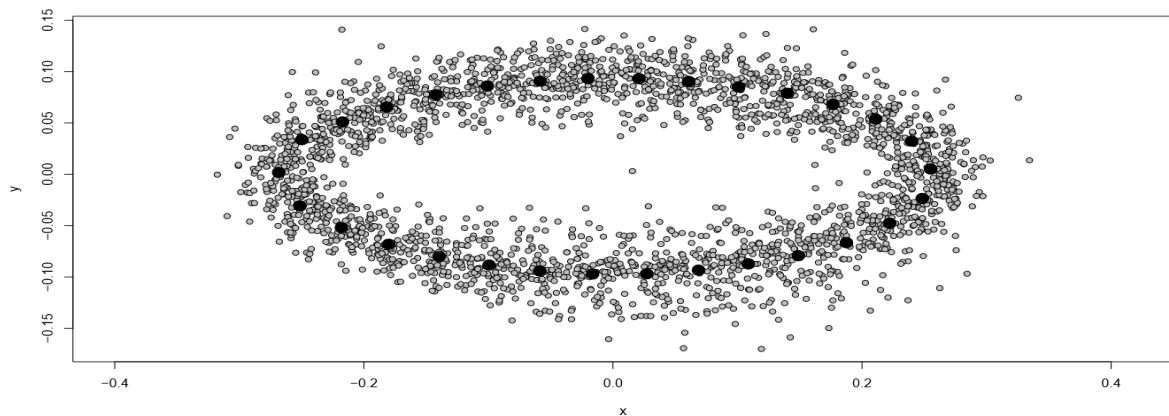
FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

La grafica de la izquierda muestra el componente de simetría del conjunto de puntos del morfotipo 1 del muestreo en la cuenca alta del rio Bogotá, se puede observar

que los datos muestran una amplia dispersión pero sin embargo la cuadrícula se mantiene uniforme; del lado derecho los datos se encuentran mucho más agrupados pero presentan variaciones que se hacen muy evidentes en la cuadrícula, en este aspecto se puede observar el componente de asimétrica del conjunto de datos. Se debe tener en cuenta que para este morfotipo se determinó un eje transapical y se hicieron modificaciones en su digitalización como se mencionó anteriormente.

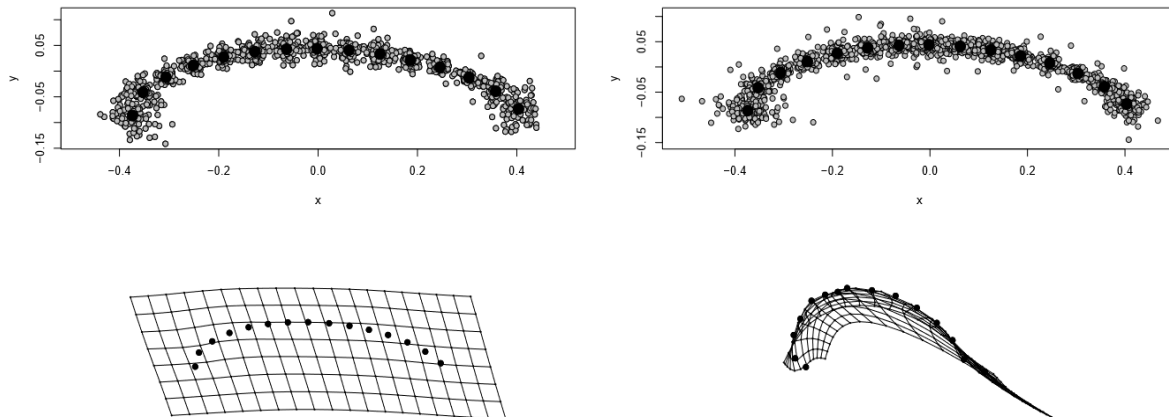
MORFOTIPO 2 MUESTREO

GRAFICO 7. PROCRUSTES MORFOTIPO 2 - MUESTREO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 8. COMPONENTES DE FORMA MORFOTIPO 2 MUESTREO



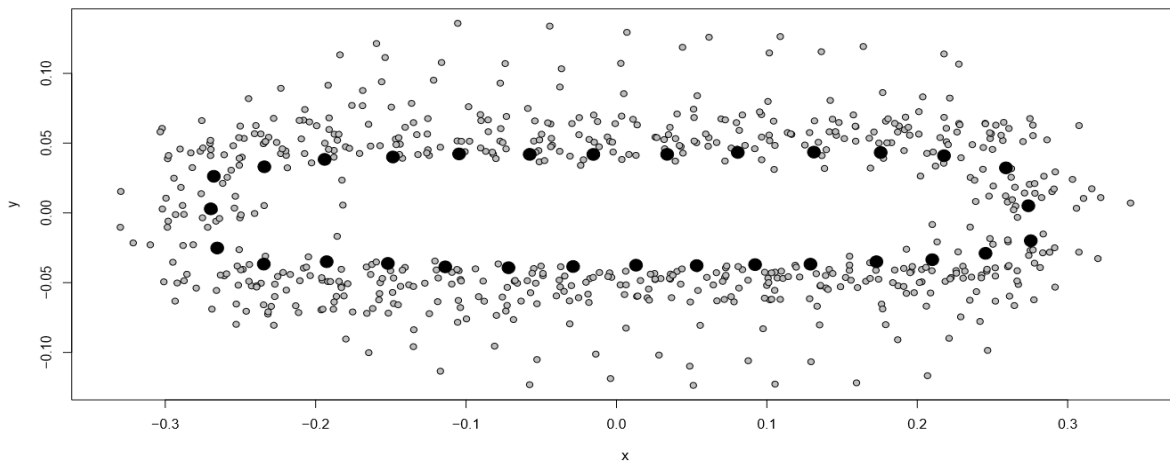
FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

En este caso tanto para el Procrustes como para las gráficas de componentes de simetría los puntos se encuentran muy agrupados y en la cuadrícula derecha es posible observar que las células sanas describen una curva que no altera la trama sin embargo las modificaciones que tienen las algas que presentan tumores son

bastante marcadas por lo que el morfotipo dos podría considerarse como altamente sensible en cuanto a visualización de los gráficos se refiere.

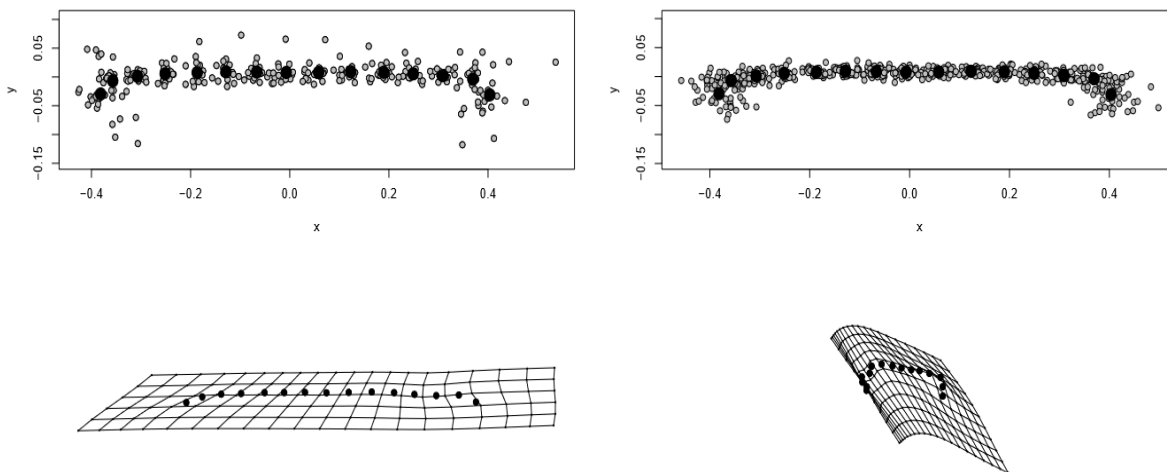
MORFOTIPO 3 MUESTREO

GRAFICO 9. PROCRUSTES MORFOTIPO 3 - MUESTREO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 10. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 3 MUESTREO



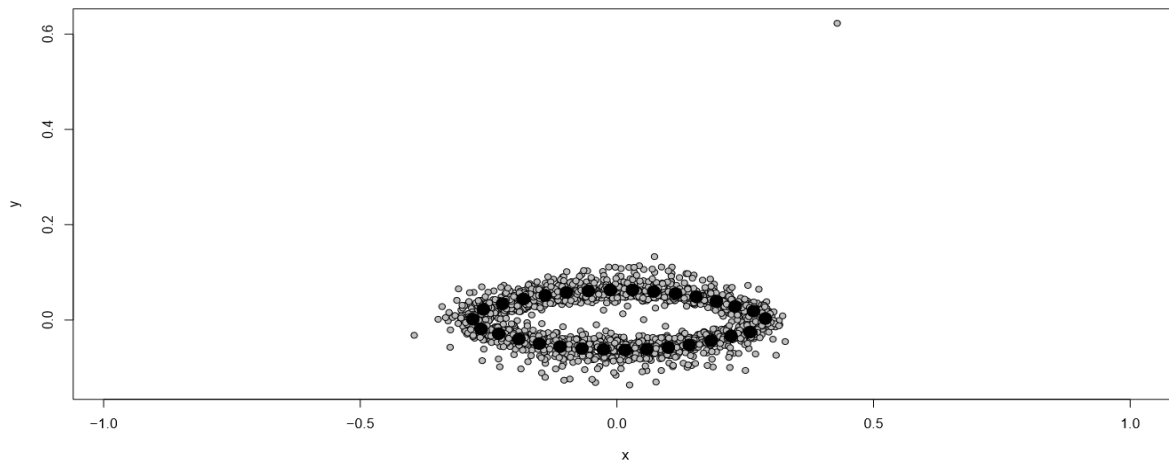
FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

El morfotipo 3 presenta un conjunto de datos muy dispersos por lo que hay posibilidades de que se hayan presentado errores en su digitalización o que sea necesaria la reclasificación en grupos más detallados que mejoren la calidad de la imagen, sin embargo al ubicarlos en la cuadrícula no se observan modificaciones en cuanto al componente de simetría sin embargo el componente de asimetría

muestra cambios bruscos y una curvatura muy marcada lo que sustenta la aplicación de subgrupos más detallados.

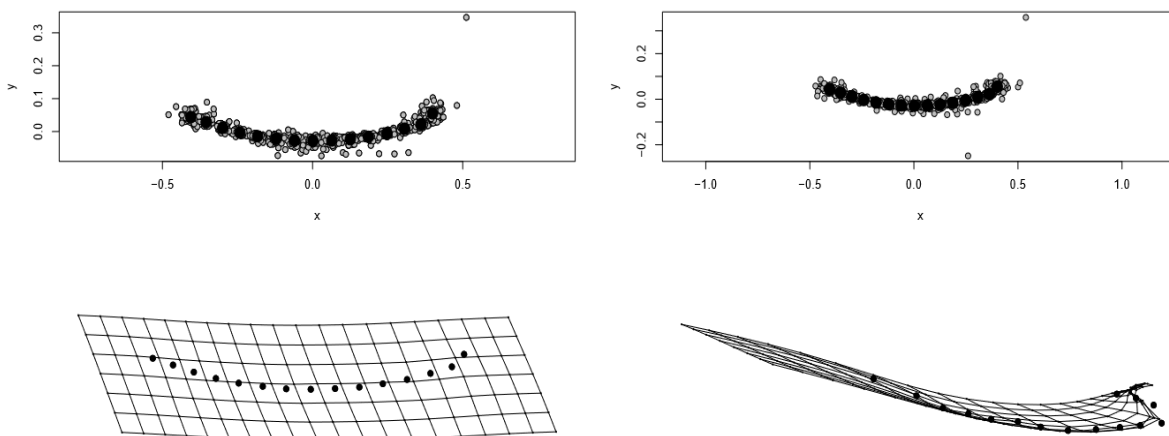
MORFOTIPO 4 MUESTREO

GRAFICO 11. PROCRUSTES MORFOTIPO 4 - MUESTREO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 12. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 4 MUESTREO

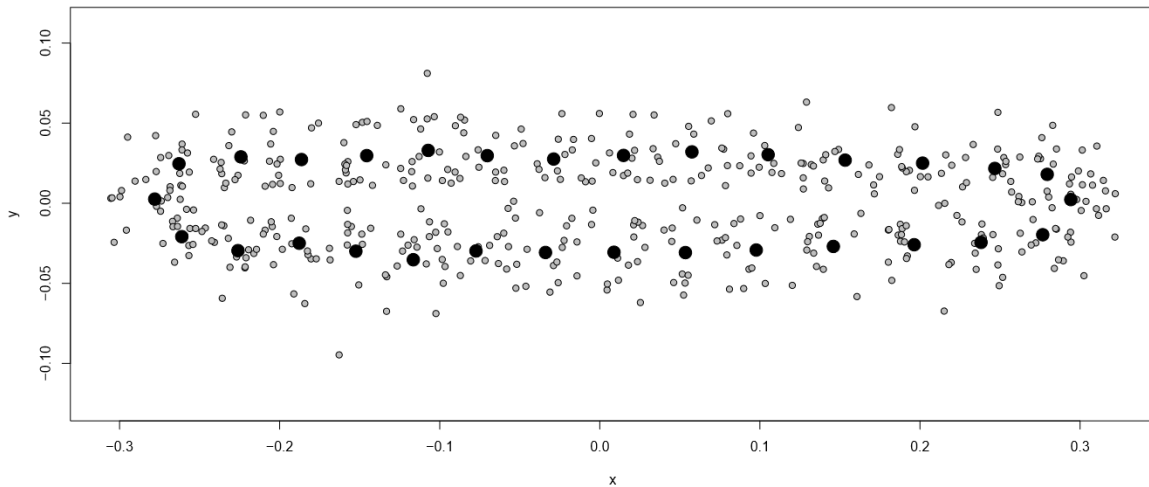


FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

El morfotipo 4 describe tanto en el componente de simetría como el de asimetría datos muy agrupados, sin embargo el componente de asimetría tiene una curvatura bastante pronunciada y en la gráfica de Procrustes es posible identificar que existe un punto muy alejado seguramente producto de un error en la digitalización.

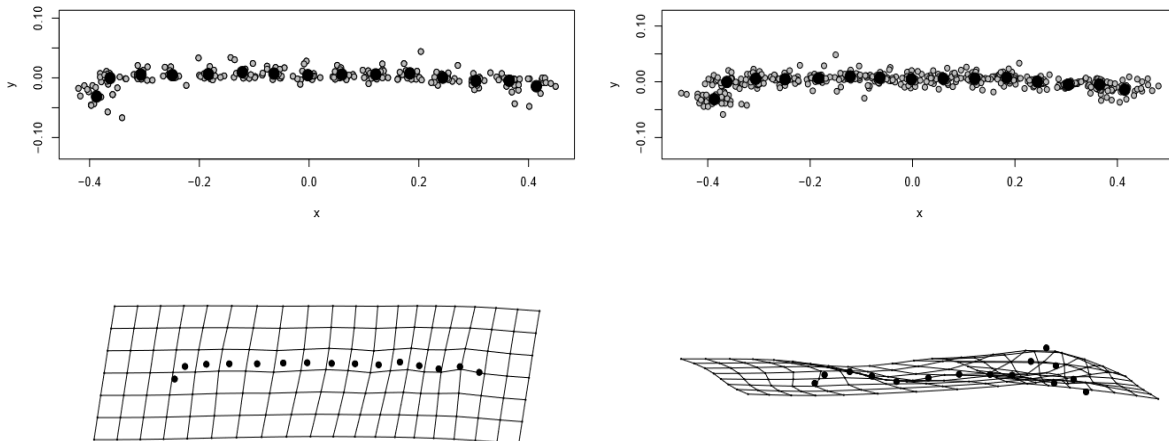
MORFOTIPO 5 MUESTREO

GRAFICO 13. PROCRUSTES MORFOTIPO 5 - MUESTREO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 14. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 5 MUESTREO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

El morfotipo 5 describe un componente de simetría con algunas variaciones debe ser por ello que la cuadrícula de asimetría tiene un comportamiento tan entramado, además al no tener una cantidad considerable de imágenes las variaciones tienden a tener más relevancia.

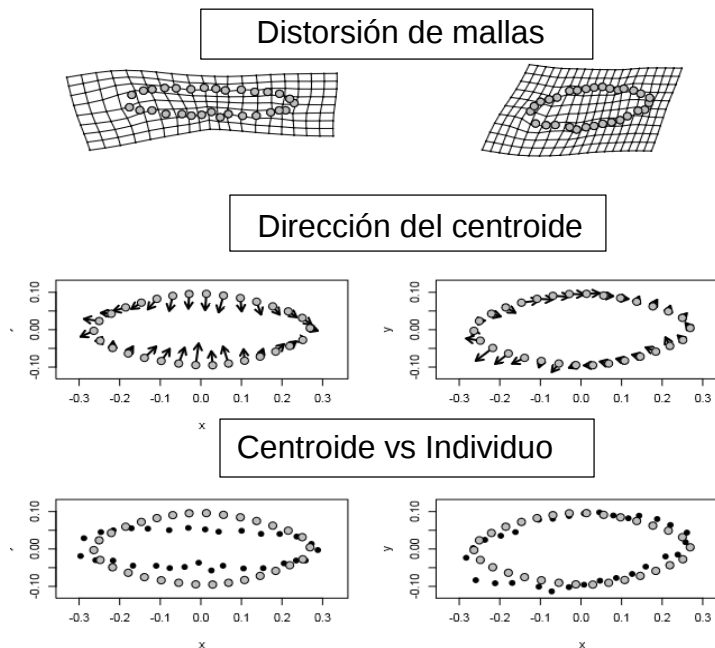
TABLA 8.VARIANZA ENTRE INDIVIDUOS POR MORFOTIPO

	MORFOTIPO	P
M U E S T R E O	Morfotipo 1	0,38
	Morfotipo 2	0,3
	Morfotipo 3	0,35
	Morfotipo 4	0,43
	Morfotipo 5	0,22
E X P E R I M E N T O	Morfotipo 1	0,505
	Morfotipo 2	0,07
	Morfotipo 3	0,12
	Morfotipo 4	0,92
	Morfotipo 5	0,81
	Morfotipo 6	0,38
	Morfotipo 7	0,765
	Morfotipo 8	0,053

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra la varianza entre individuos de cada morfotipo tanto en el muestreo como en el experimento, los resultados señalan que no hay diferencias significativas entre individuos y que las algas fueron correctamente clasificadas entre morfotipos.

GRAFICO 15.COMPARACIÓN ENTRE INDIVIDUO SANO CONTRA INDIVIDUO CON TUMORES



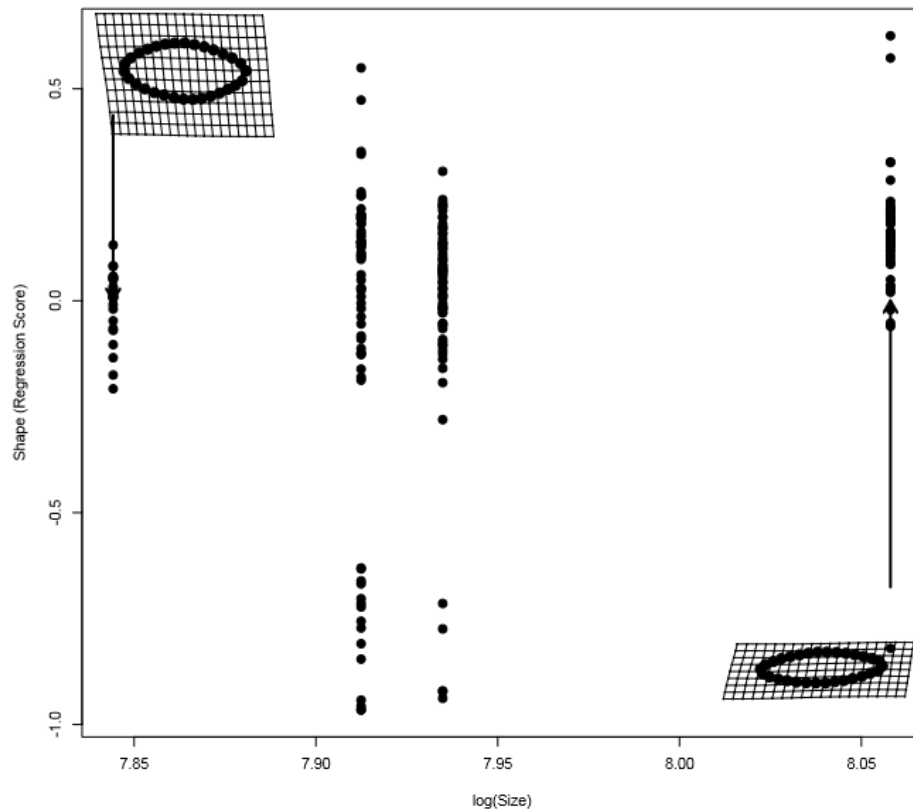
FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

El grafico 15 muestra tres formas diferentes de comparar las desviaciones que se producen entre el centroide y un individuo con tumores, el primer par de graficas muestran la distorsión de la malla en la cual se establece que el individuo de la izquierda refleja una gran deformación en comparación al individuo de la derecha donde la malla no tiene mayor desproporción.

El segundo conjunto de graficas muestra la dirección y longitud que tiene cada punto digitalizado del individuo hacia el centroide, lo que quiere decir que a mayor magnitud se refleja un aumento de la diferencia entre el individuo y el centroide.

El último conjunto de graficas indica claramente las diferencias visuales entre el individuo y el centroide, es así como se puede determinar que el individuo de la izquierda presenta varias diferencias del centroide comparado con el individuo de la derecha, no solo por su tamaño sino por la distribución de conjunto de puntos.

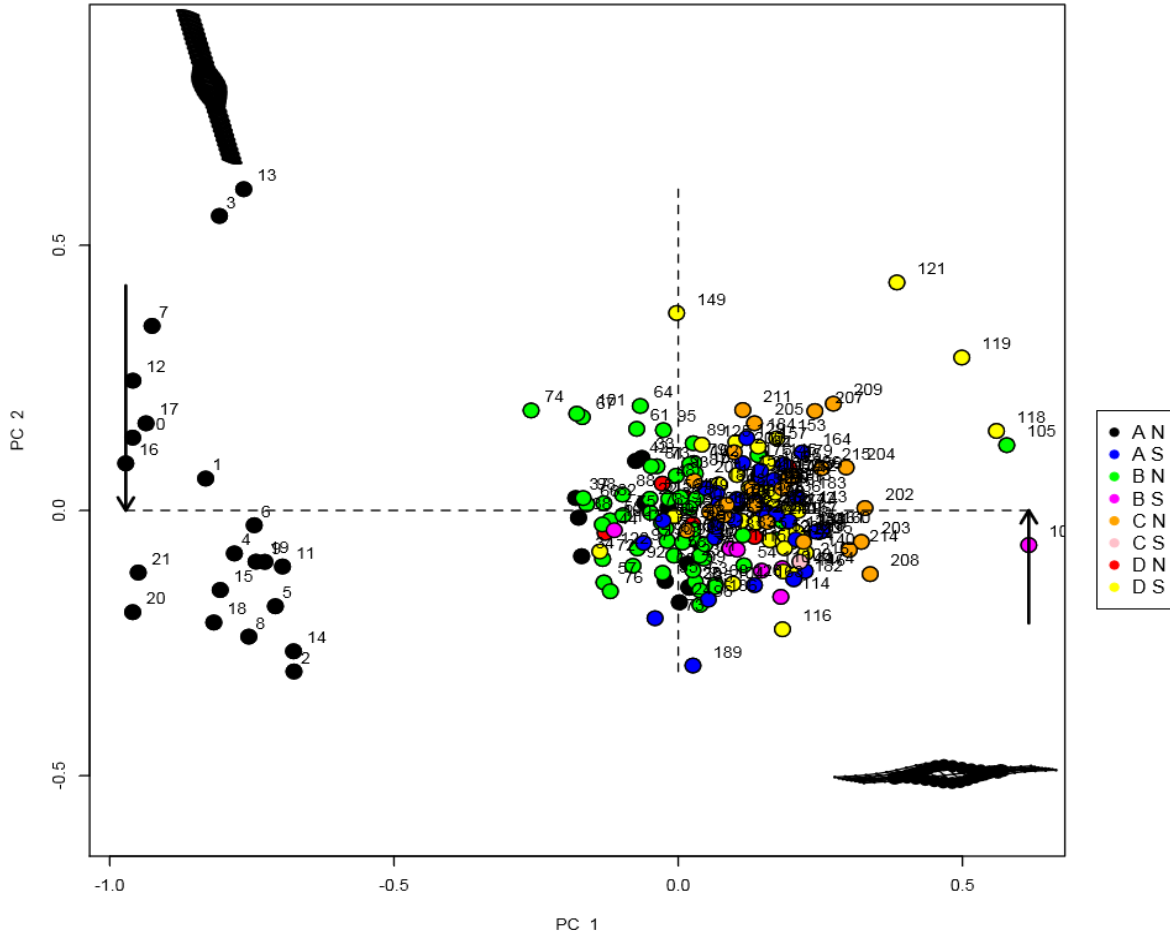
GRAFICO 16. FORMA FRENTE A ALTURA DE LA ESTACIÓN DE MUESTREO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

El grafico 16 muestra la relación entre los tamaños de los individuos y el logaritmo de la altura en m.s.n.m de las 4 estaciones definidas para el muestreo, los datos están distribuidos de izquierda a derecha iniciando en la estación D, seguido por el conjunto de datos de la estación C, posterior a estos el grupo de datos de la estación B y finalizando en la estación A contra el margen derecho.

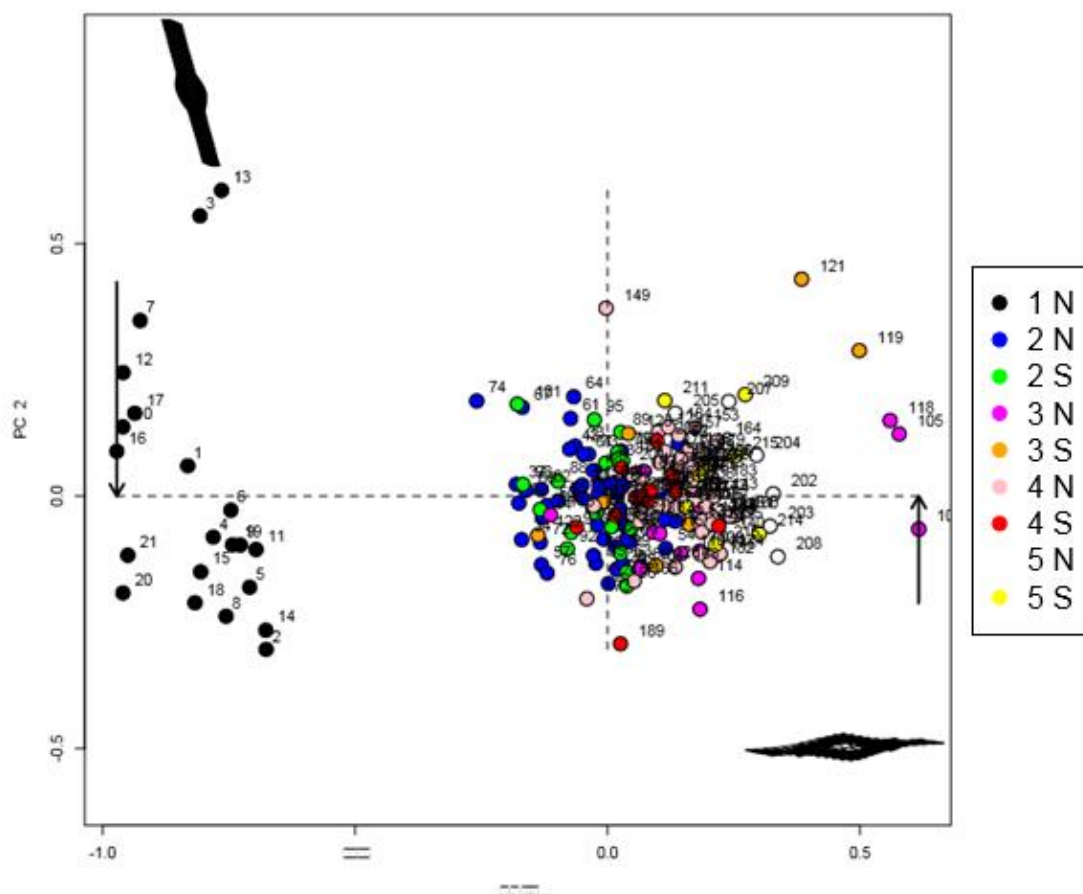
GRAFICO 17. ANÁLISIS PCA ESTACIÓN FRENTE A TUMOR



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

Teniendo en cuenta lo anterior se puede analizar que el conjunto de datos de la estación A está estrechamente relacionado con la estación D en cuanto a su forma, ya que los datos tienden hacia el margen superior esto podría explicar la correlación observada entre estas estaciones en la tabla 13. Por otro lado se puede observar que los individuos de las estaciones C y B tienen una mayor variación en forma debido a su amplia distribución en la gráfica.

GRAFICO 18. ANÁLISIS PCA MORFOTIPO CONTRA TUMOR



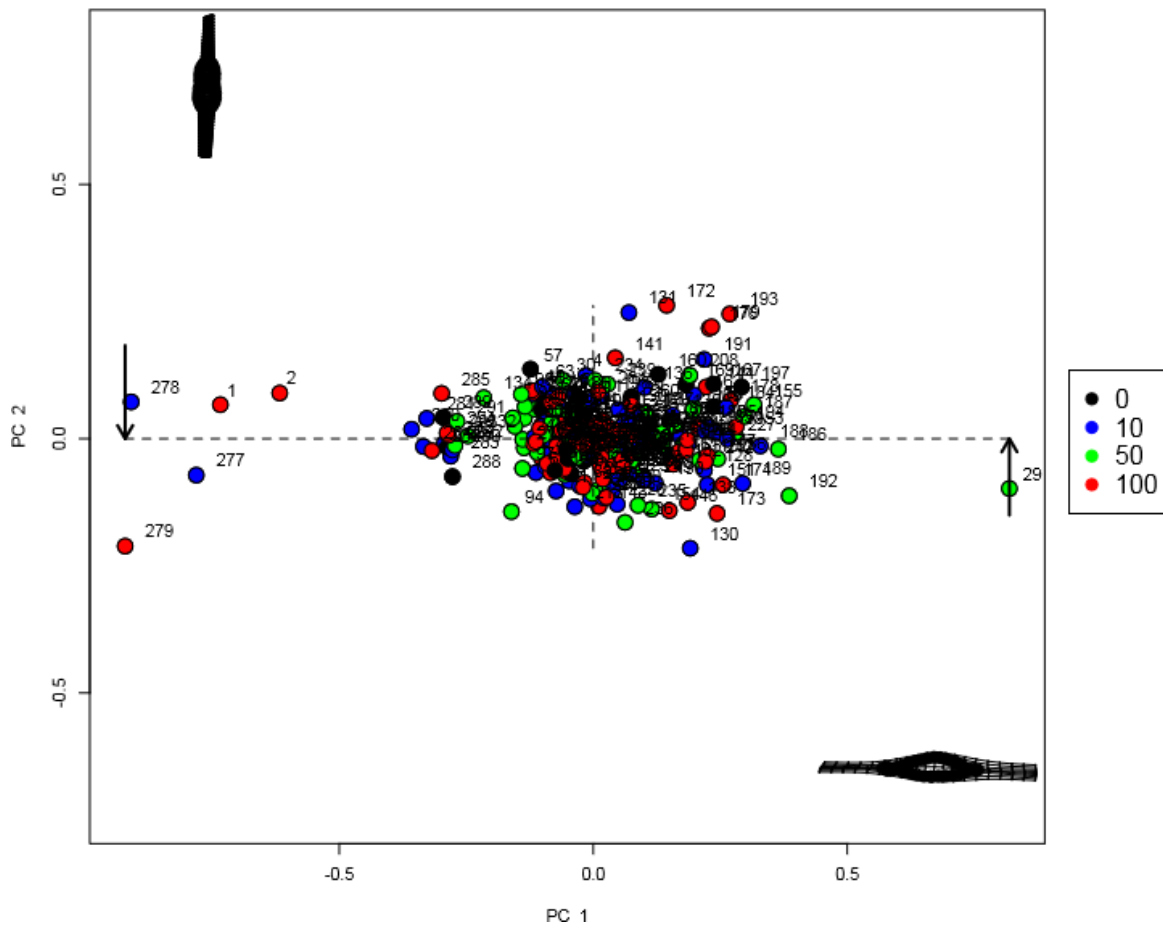
FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

7.6. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DEL EXPERIMENTO

7.6.1. ANÁLISIS POR COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)

Para el análisis de componentes principales del experimento se tuvieron en cuenta solo 2 componentes dado que el valor más alto fue de 0,76 y se considera suficiente para explicar la relación entre las distintas variables relacionadas.

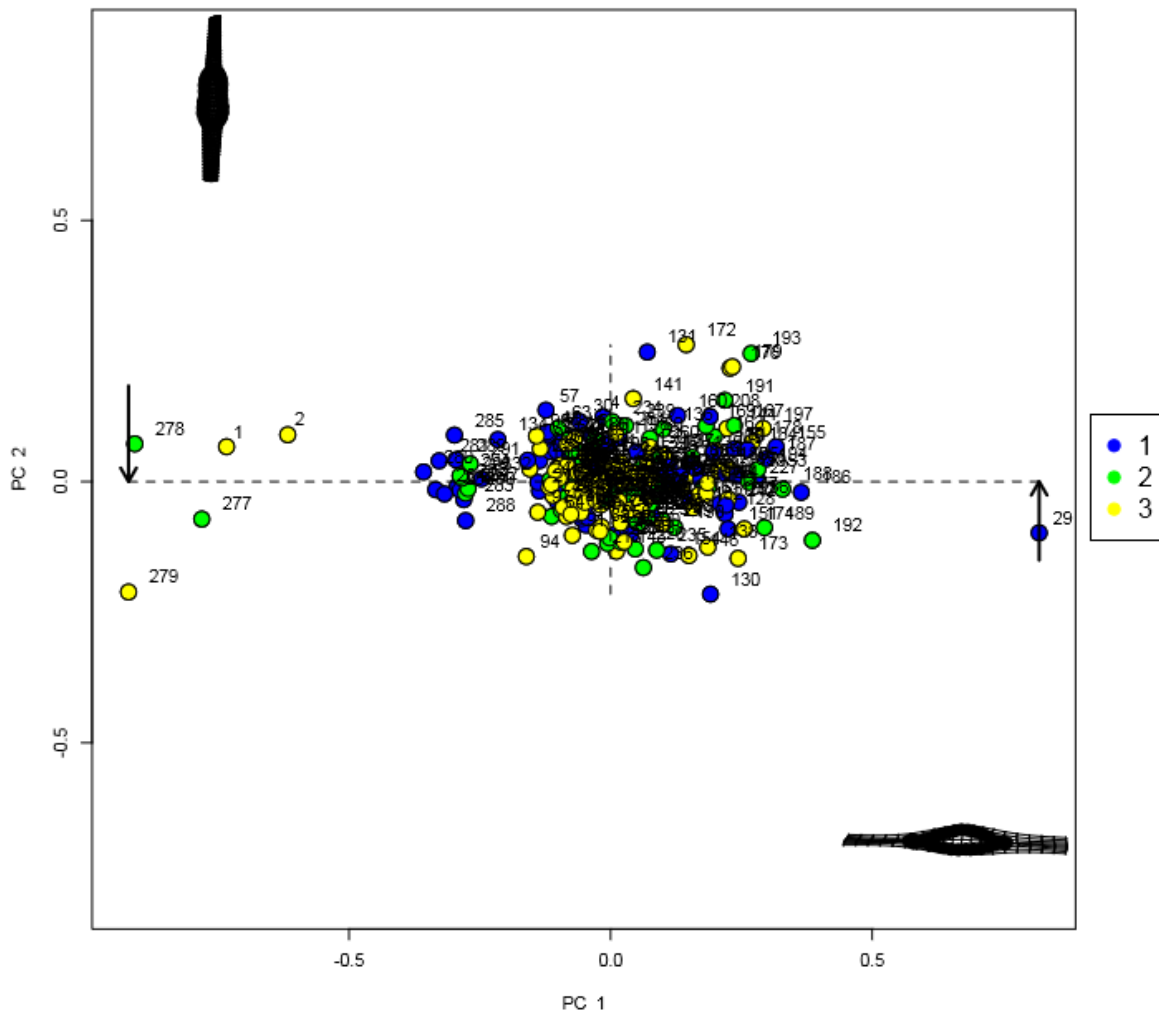
GRAFICO 19. PCA CONCENTRACIONES Cr^{+6} EXPERIMENTO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

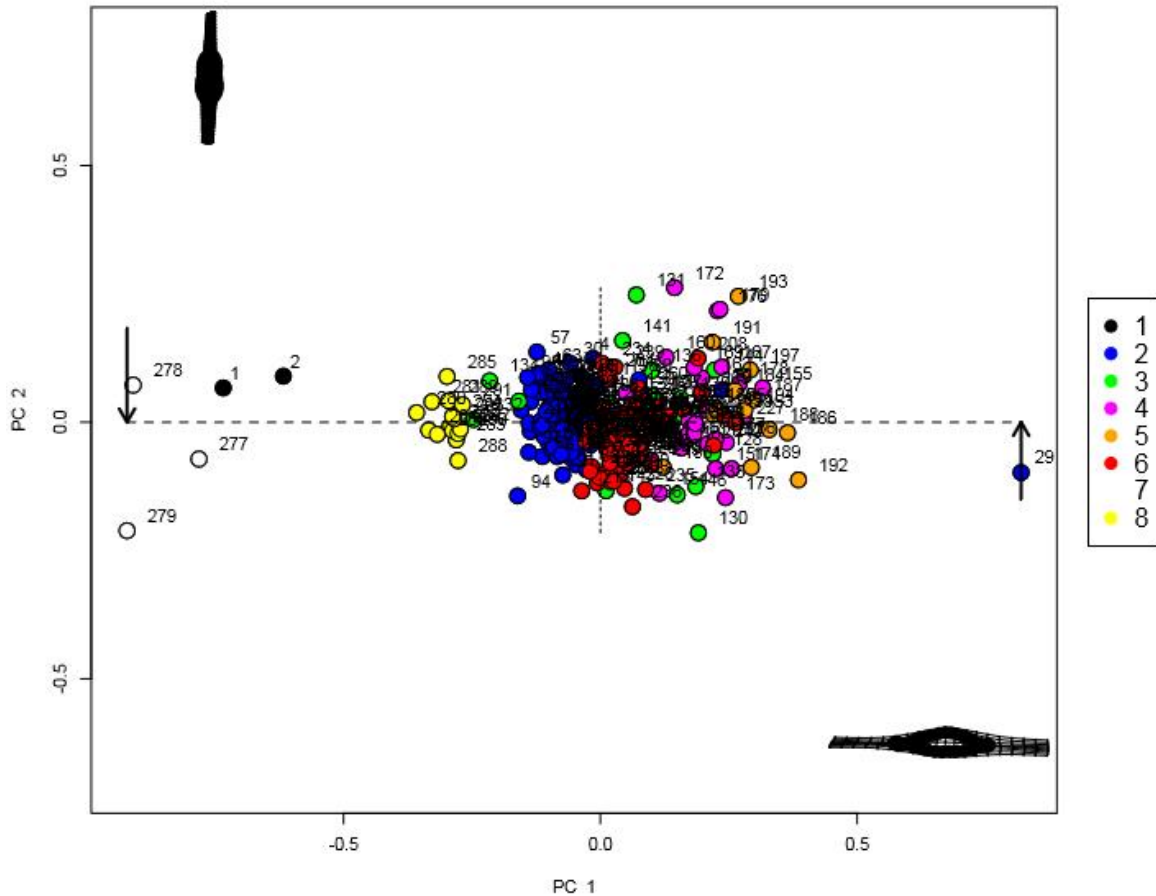
Las concentraciones de Cr^{+6} presentan sus mayores valores entre 10 y 100 con un valor de 0,85 que es considerable para explicar la relación y del otro lado los niveles mínimos de correlación se presentan entre la concentración 0 y la concentración 100 que es bastante lógico porque en el primer nivel no tendría porque producirse ninguna variación del individuo ya que no está expuesto a ningún tipo de contaminación recordando que las diatomeas usadas para este ensayo fueron cultivadas en condiciones de laboratorio. Como se puede observar en el grafico la concentración a la que las diatomeas presentaron más variedad en forma y tamaño fue 100, ya que los puntos rojos son de fácil identificación esto puede indicar que a altas concentraciones de Cr^{+6} es más probable encontrar presencia de tumores en las diatomeas.

GRAFICO 20. PCA DÍAS CR VI EXPERIMENTO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

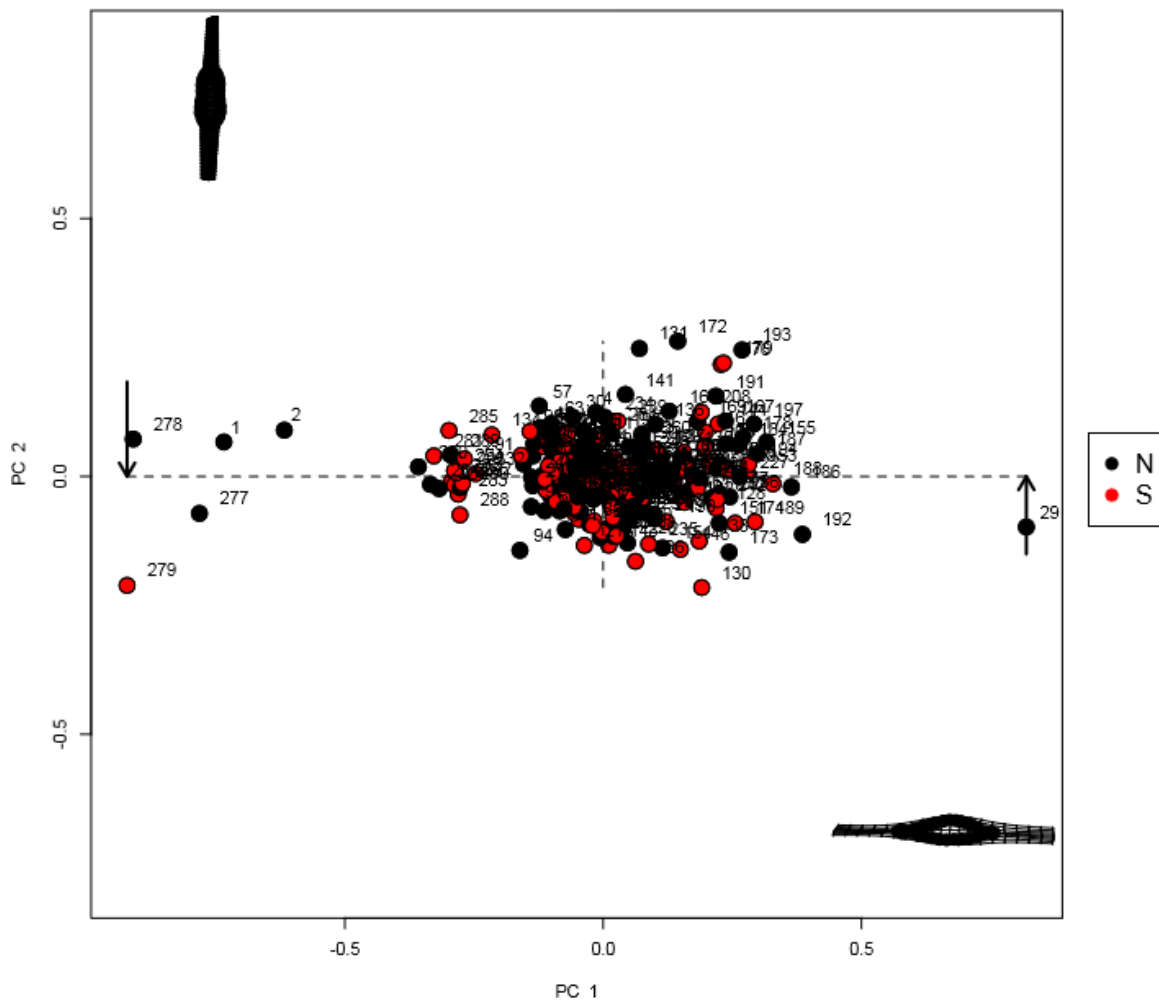
Para este caso es posible observar que existen un grado muy alto de correlación entre los días de exposición 2 y 3 seguramente porque para el día dos las algas ya han sido expuestas el tiempo suficiente para sufrir modificaciones considerables, de hecho es posible observar que cuando mayor sea el día de exposición la correlación aumenta.



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

La correlación de los morfotipos presenta su mayor valor entre el morfotipo 1 y 3, sin embargo hay que considerar que el morfotipo 1 tan solo tiene 2 imágenes aunque comparten características por tener uno de sus lados rectos en general la gráfica muestra correlación por la forma de los morfotipos que también es considerablemente alta entre los morfotipos 6 y 2 y por el contrario expresa sus valores mínimos en correlación de los morfotipos 3 y 2 ya que no comparten similitudes de forma y seguramente en tamaño tampoco de hecho el morfotipo 3 es que el presenta menos correlaciones con respecto al conjunto de datos. Sin embargo en este grafico es posible observar como los conjuntos de grupos del mismo color se agrupan lo que sustenta el hecho de que bajo en análisis de componentes principales el programa es capaz de separar las diatomeas de acuerdo a sus diferencias.

GRAFICO 22. PCA VARIACIÓN CÉLULAS SANAS CONTRA CÉLULAS CON TUMOR



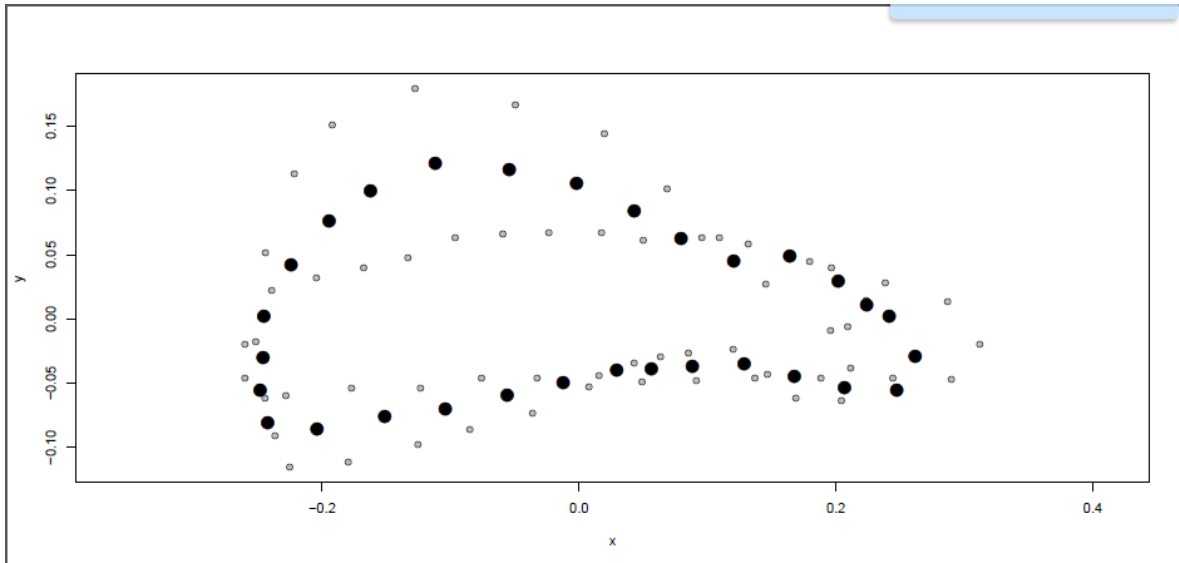
FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

El análisis PCA para frustulos sanos contra frustulos que presentan tumores indica que las células que son sanas tiende a tener una forma alargada por lo que podría considerarse que las células que tienden a ser, mas redondas son, mas susceptibles de tener deformación o el programa las reconoce mejor por la distribución mas homogénea de los puntos, a partir de ellos es posible establecer condiciones de sensibilidad basados en las formas de las células.

7.6.2. MÉTODO GRÁFICO

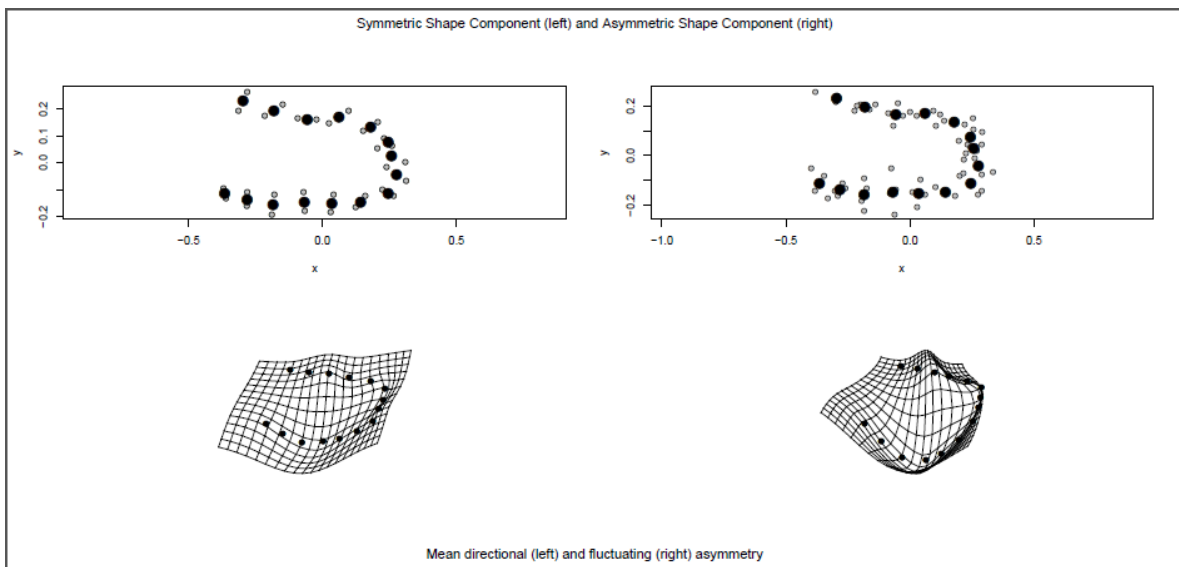
MORFOTIPO 1 EXPERIMENTO

GRAFICO 23. PROCRUSTES MORFOTIPO 1 EXPERIMENTO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 24. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 1 EXPERIMENTO

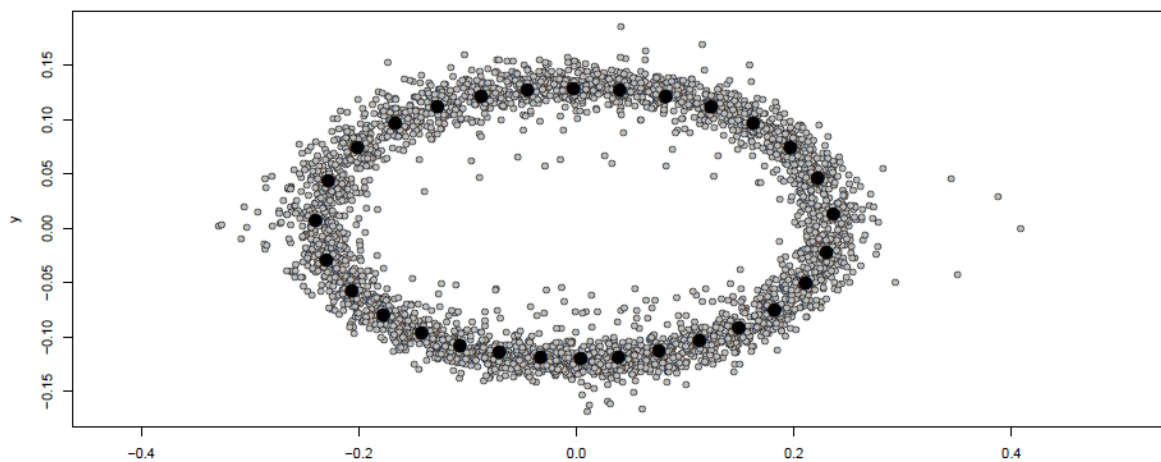


FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

El morfotipo 1 del experimento describe un componente de simetría con algunas variaciones debido a la forma en si del individuo, además, hay que tener en cuenta que a este morfotipo pertenecen solo dos individuos y uno de estos es el que presenta mayor variabilidad en su frústulo debido a la presencia de tumores. Además se debe tener en cuenta que para este morfotipo se determinó un eje transapical.

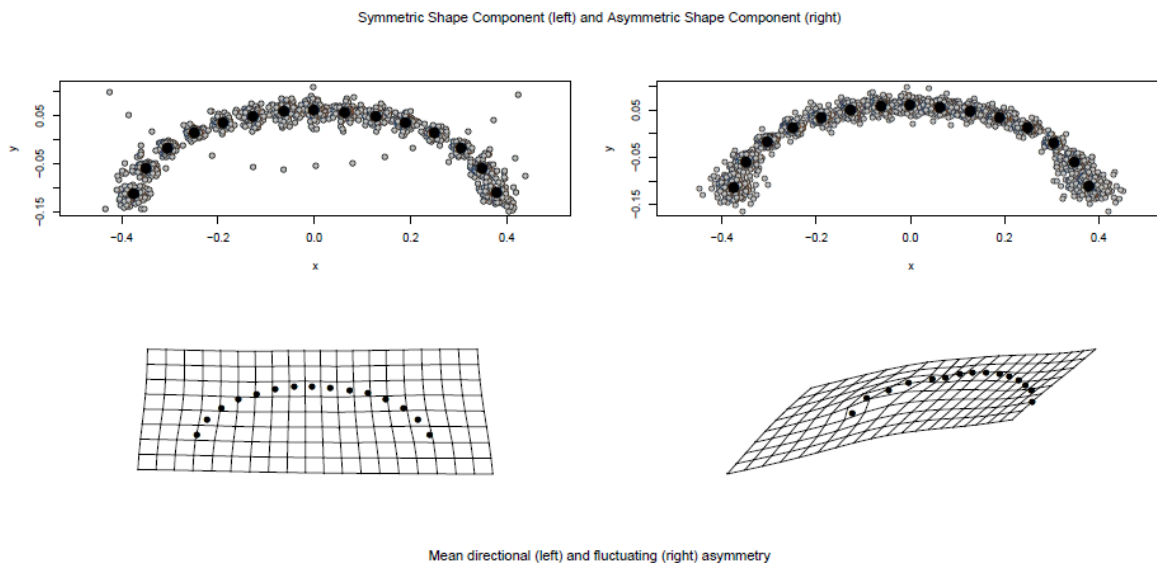
MOROFOTIPO 2 EXPERIMENTO

GRAFICO 25. PROCRUSTES MORFOTIPO 2 EXPERIMENTO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 26. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 2 EXPERIMENTO

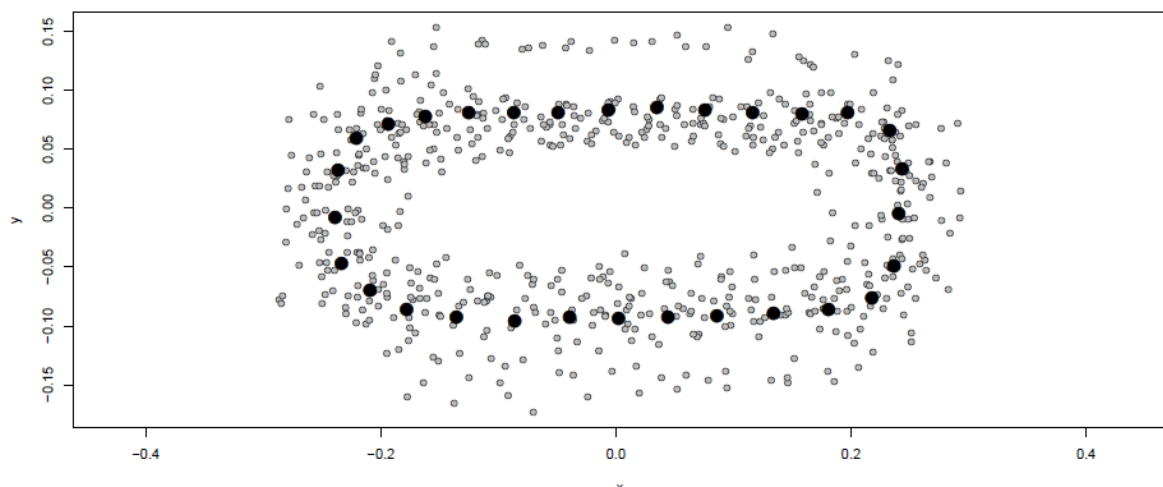


FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

En el morfotipo 2 no se presenta mayores deformaciones en la malla del lado derecho, se alcanza a observar un gradiente de varianza frente a la malla del lado izquierdo, esto se puede deber a un error de digitalización ya que en el individuo a mano izquierda se evidencia un individuo con una trayectoria de puntos diferentes entre los otros, además en el procrustes se puede observar claramente que hay un individuo que por su forma no parece pertenecer al morfotipo, esto también puede influir en la deformación de la malla derecha.

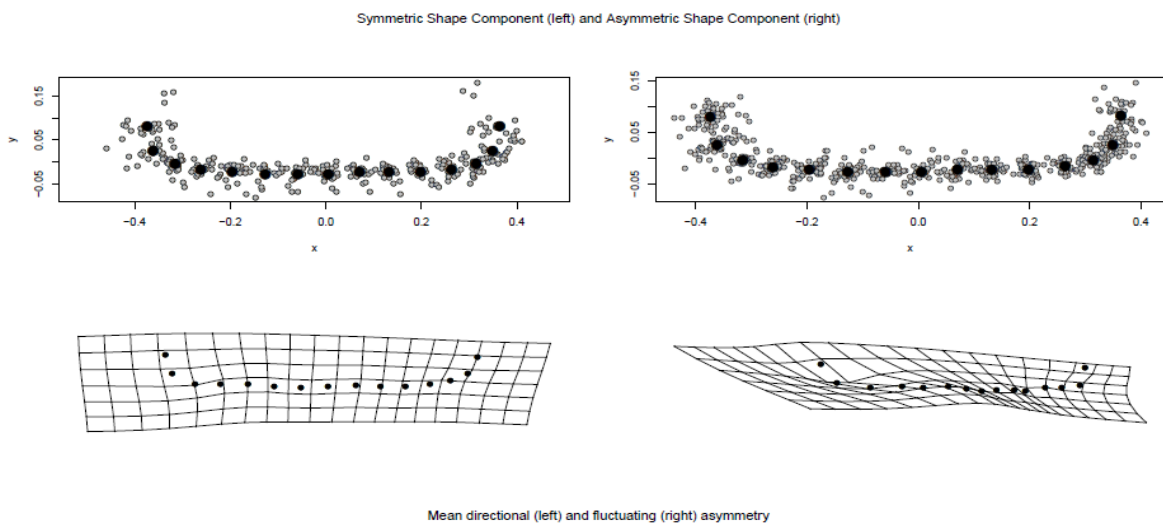
MOROFOTIPO 3 EXPERIMENTO

GRAFICO 27. PROCRUSTES MORFOTIPO 3 EXPERIMENTO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 28. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 3 EXPERIMENTO

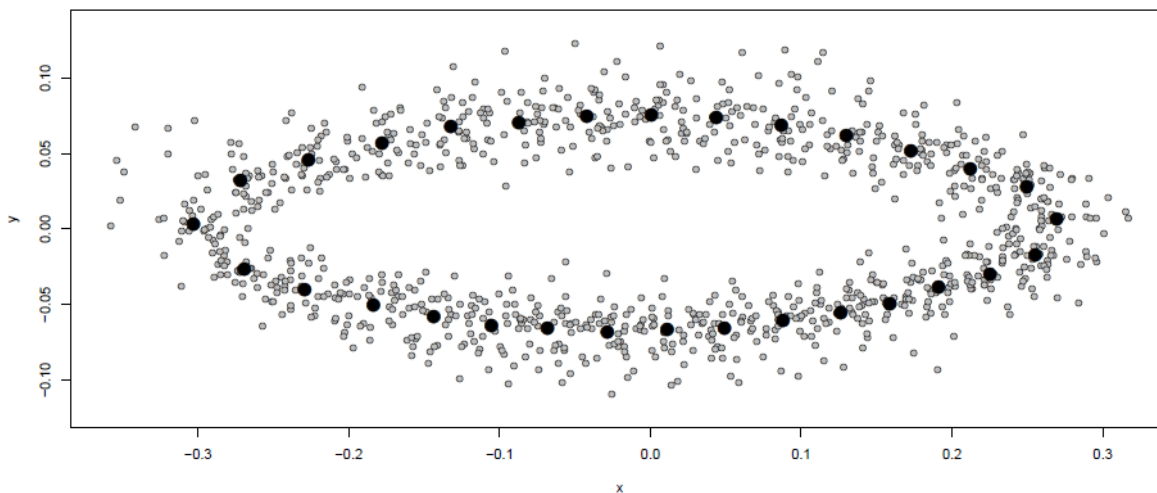


FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

el morfotipo 3 describe que, aunque la malla del individuo de la derecha se distorsiona, no es muy diferente con la malla del individuo de la izquierda, es decir que los datos tienen a tener la misma forma que la figura de referencia que no hay mucha diferencia entre lados

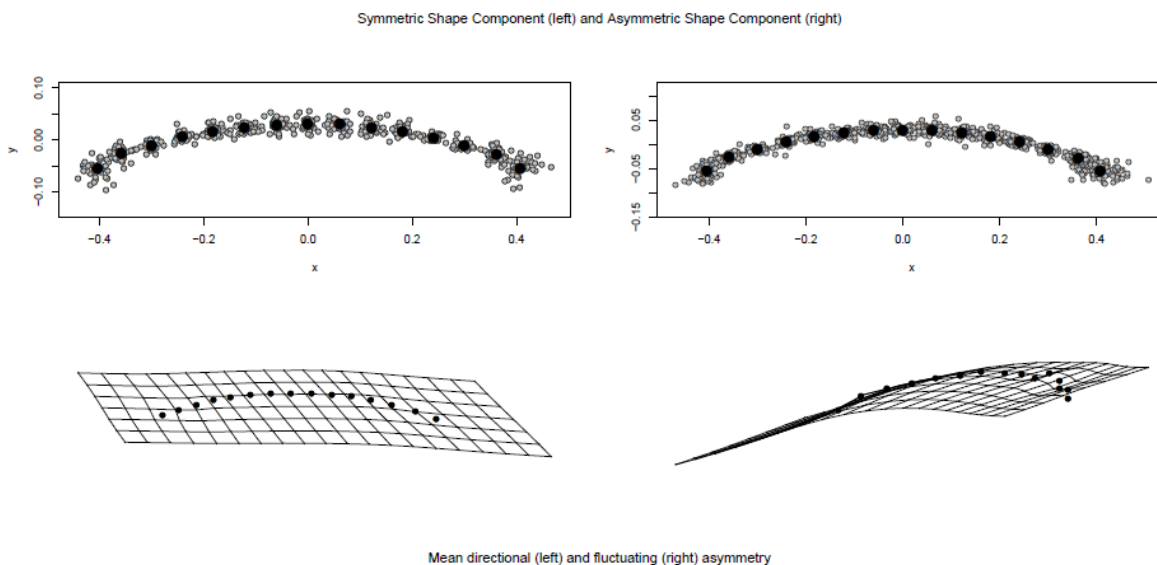
MORFOTIPO 4 EXPERIMENTO

GRAFICO 29. PROCRUSTES MORFOTIPO 4 EXPERIMENTO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 30. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 4 EXPERIMENTO

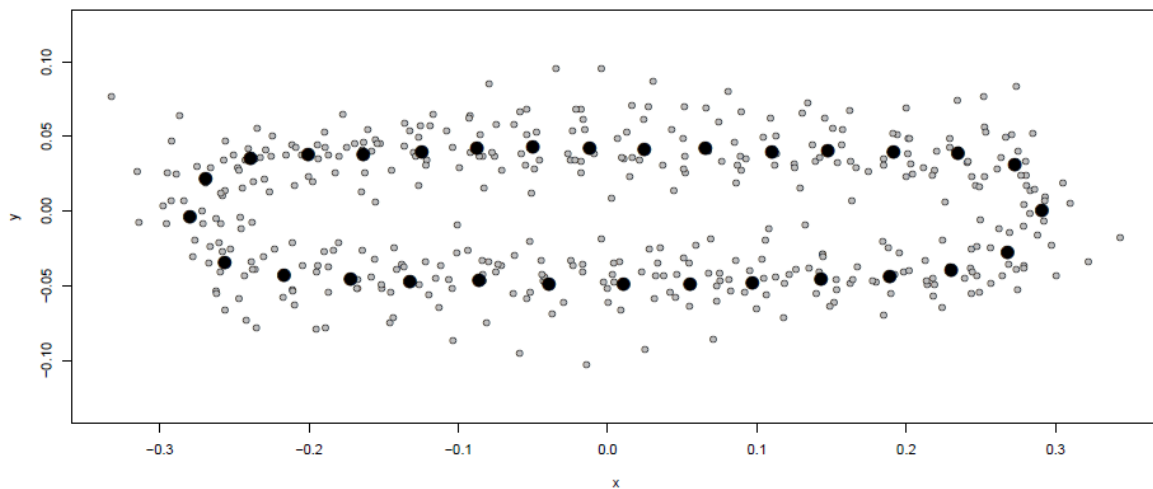


FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

El morfotipo 4 describe en el componente de simetría del lado izquierdo, datos muy agrupados, ya que estos presentan una tendencia a formar una curva bastante pronunciada, esto se ve reflejado en la gráfica de procustes porque se identifica que se presenta mucho ruido debido a la gran variación de tamaño de cada individuo y al gran número de individuos pertenecientes a este morfotipo

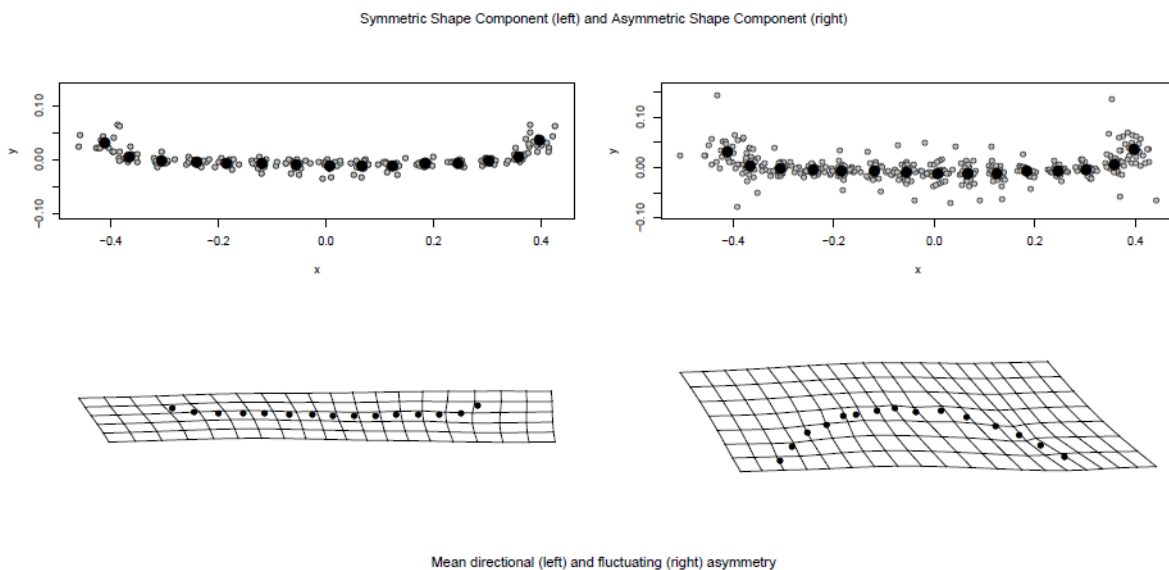
MOROFOTIPO 5 EXPERIMENTO

GRAFICO 31. PROCRUSTES MORFOTIPO 5 EXPERIMENTO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 32. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 5 EXPERIMENTO

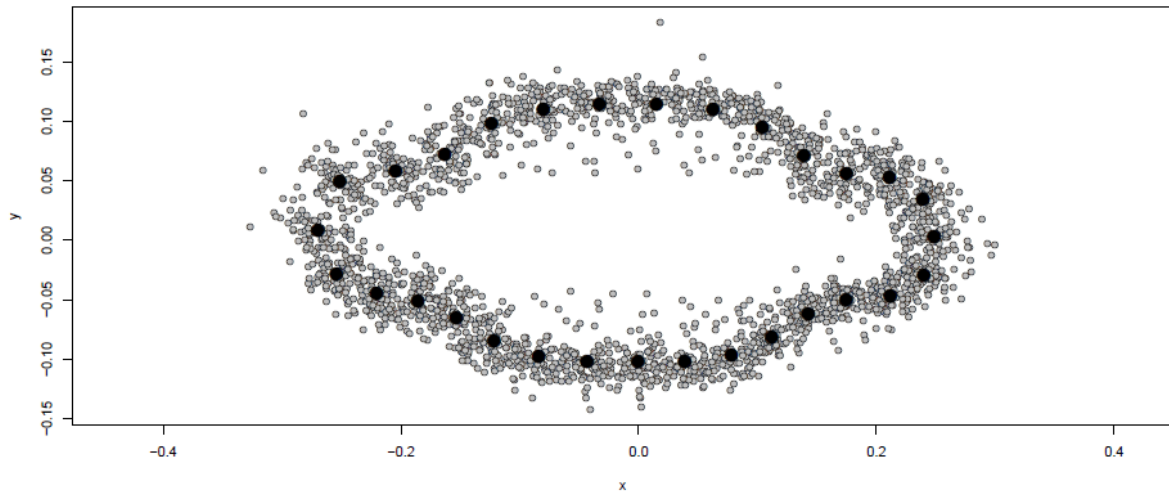


FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

En el gráfico de procrustes se observa que los centroides forman un individuo muy parecido al que se estableció como morfotipo, lo que quiere decir que si bien hay un gran ruido por los datos digitalizados la forma no varía tanto como en los otros morfotipos, esto también se refleja en las mallas, ya que no se observan cambios significativos en ellas

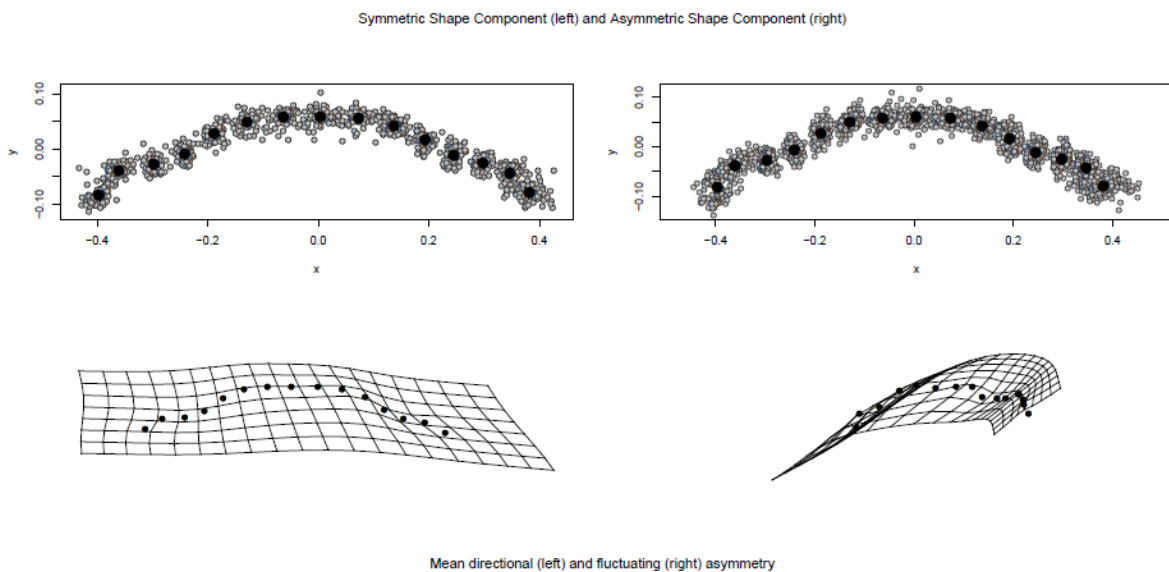
MOROFOTIPO 6 EXPERIMENTO

GRAFICO 33. PROCRUSTES MORFOTIPO 6 EXPERIMENTO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 34. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 6 EXPERIMENTO

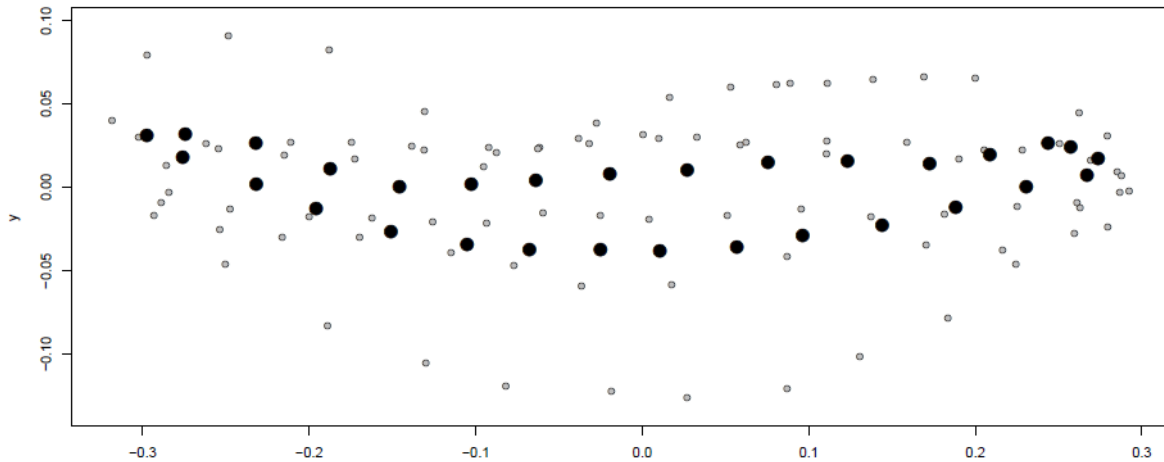


FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

De la gráfica de la comparación de los componentes de simetría del morfotipo 6 se observa que son muy similares cada lado de los individuos, y de hecho esto se evidencia en la gráfica de procrustes, ya que la forma a la que tienden los centroides es la ideal para los individuos pertenecientes a este morfotipo. Pero las mallas reflejan una variación significativa entre lados

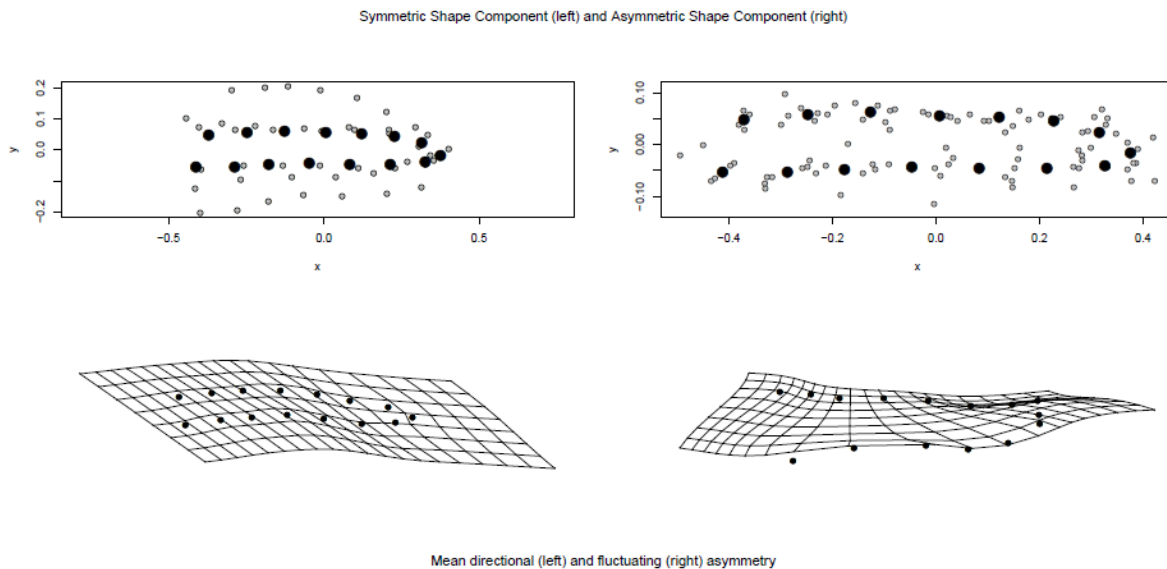
MOROFOTIPO 7 EXPERIMENTOS

GRAFICO 35. PROCRUSTES MORFOTIPO 7 EXPERIMENTO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 36. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 7 EXPERIMENTO

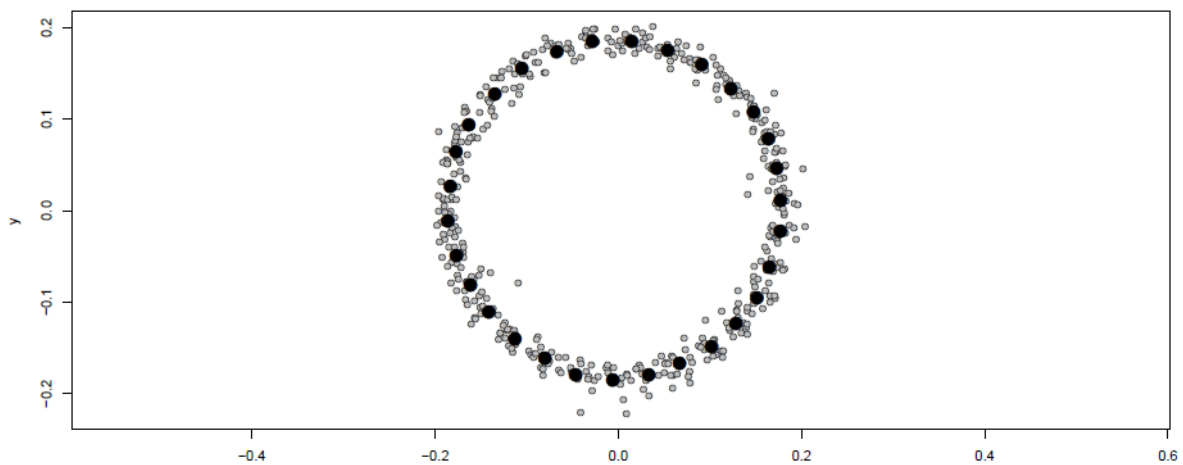


FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

El morfotipo 7 describe un componente de simetría con algunas variaciones debe ser por ello que la cuadrícula de asimetría tiene un comportamiento tan entramado, además al no tener una cantidad considerable de imágenes las variaciones tienden a tener más relevancia

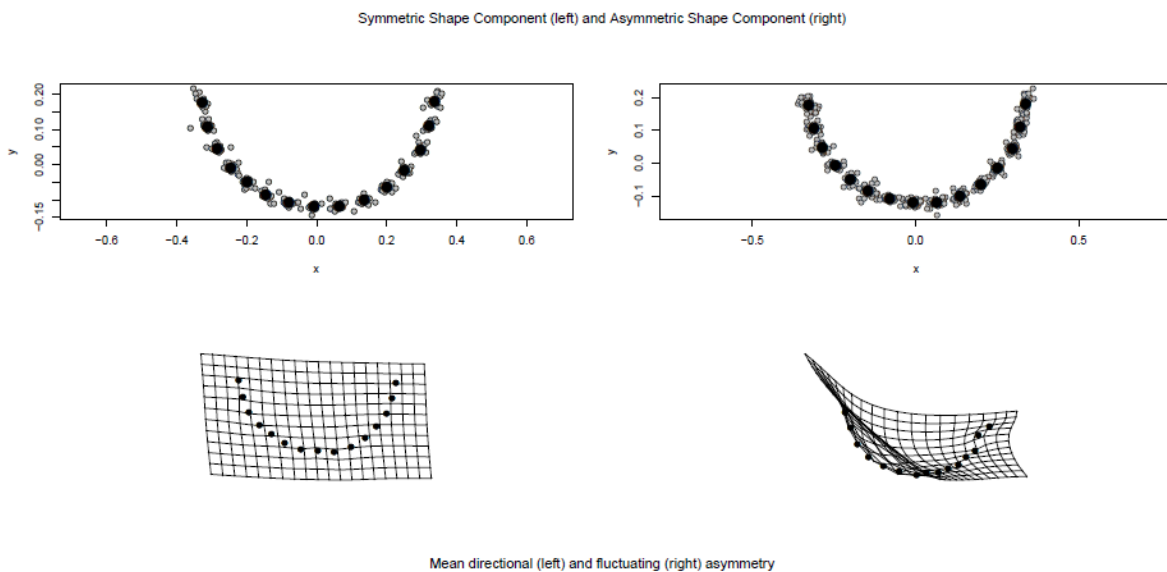
MORFOTIPO 8 EXPERIMENTO

GRAFICO 37. PROCRUSTES MORFOTIPO 8 EXPERIMENTO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

GRAFICO 38. COMPONENTE DE FORMA MORFOTIPO 8 EXPERIMENTO



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, SOFTWARE ESTADÍSTICO R

El morfotipo 8 es la única superficie que describe una circunferencia y no fue encontrado en ninguna de las estaciones del muestreo por lo que sugiere una alta sensibilidad a cualquier tipo de contaminación o podría estar asociado también a limitantes condiciones para su supervivencia y su bajo carácter cosmopolita, sin embargo al ser expuesto a las concentraciones de Cromo VI aunque disminuyo su abundancia también se manifestaron tumores como se refleja en la cuadrícula izquierda donde tiene a tomar una forma más ovalada. Sin embargo los centroides agrupan muy bien los datos que incluso en el componente simétrico llegan a mostrar una leve dispersión pero esta no se manifiesta en la cuadrícula.

1.1. ANÁLISIS COMPARATIVO A PARTIR DE FRECUENCIAS DE DIATOMEAS CON TUMORES

Análisis de relación entre estaciones de muestreo y concentraciones del experimento, esta fue la última herramienta usada para determinar la capacidad del uso de las variaciones en los frustulos de las diatomeas como bioindicador

TABLA 9. INDICES DE CONCENTRACION VS MORFOTIPO

CONCENTRACION	MORFOTIPO								TOTAL CONCENTRACION
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	
0	0	0	2	0	0	0	0	4	0,020
10	0	14	6	2	6	6	0	6	0,130
50	0	26	8	4	2	9	0	4	0,173
100	2	30	12	12	2	15	2	6	0,264
TOTAL TUMOR	2	70	28	18	10	30	2	20	0,586
TOTAL MORFOTIPO	15	125	21	35	14	79	3	15	307
INDICE	0,1	0,6	1,3	0,5	0,7	0,37974684	0,666666667	1,333333333	

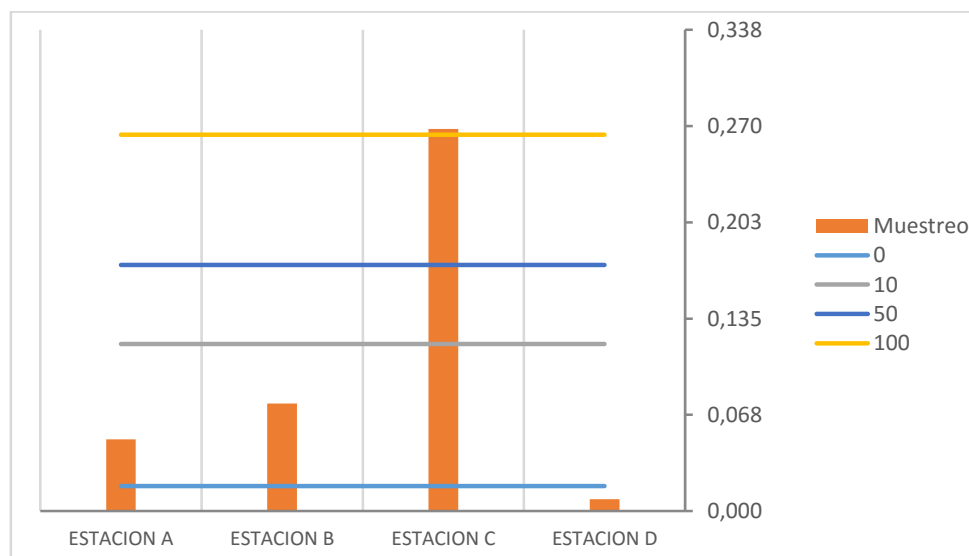
Fuente: Elaboración propia

TABLA 10. ÍNDICES MORFOTIPO VS ESTACIÓN DE MUESTREO

ESTACIÓN	MORFOTIPO					Muestreo
	M1	M2	M3	M4	M5	
ESTACION A	0	4	4	2	2	0,056
ESTACION B	0	4	8	2	4	0,084
ESTACION C	0	28	4	22	10	0,298
ESTACION D	0	2	0	0	0	0,009
TOTAL TUMOR	0	38	16	26	16	0,447
TOTAL MOFOTIPO	21	82	22	75	15	215
INDICE	0	0,5	0,7	0,3	1,1	

Fuente: Elaboración propia

GRAFICO 39.ÍNDICES DE MUESTREO POR ESTACIÓN INDICANDO CADA COCENTRACION (PPM)



Fuente: Elaboración propia

La gráfica anterior muestra la relación entre estaciones y concentraciones así pues se puede observar que las estaciones A y B podrían asociarse con concentraciones

de Cromo VI inferiores a 0,010 ml y la estación D tiene niveles por debajo de la concentración mínima esto puede estar asociado a la cantidad de individuos estudiados sabiendo que a mayor cantidad aumentará también la probabilidad de encontrar organismos con tumores o bien podrá responder también a condiciones naturales del medio, ya que el grado de sombra y la disponibilidad de sustratos varían mucho de acuerdo con la primera estación y sin embargo hay relaciones de forma de los individuos que se mantiene constantes, esto podría estar asociado a la capacidad depuradora del río lo que hace que en la estación D ya haya condiciones para la supervivencia de organismos de morfometría similar a los encontrados en la primera estación. Es importante analizar la estación C que puede asociarse con una concentración mayor a 10 ml/L y es la estación ubicada justamente después de los vertimientos de aguas residuales de un amplio conjunto de curtiembres de carácter artesanal lo que sugiere una relación de la aparición de tumores en las células con las condiciones ambientales con las que son vertidas estas aguas residuales.

2. CONCLUSIONES

- Teniendo en cuenta la información secundaria recolectada que indica que no se reportaron niveles sensibles de Cromo VI en ninguna de las estaciones consideradas en este estudio y contrastando esa información con la obtenida al comparar los resultados del experimento, indicaron que en la estación C podrían asumirse concentraciones superiores a 100 ppm, sería conveniente contrastar las dos metodologías de determinación de este metal pesado para asegurar cual de ellas ofrece datos más confiables.
- Del muestreo en campo se tomaron registros fotográficos de 215 individuos entre los cuales se encontró que el grupo más abundante fue el morfotipo dos que corresponde a una superficie ovalada, engrosada en el centro y de silueta elíptica con terminaciones curvas en los dos extremos.
- Se encontró mayor variabilidad morfológica de diatomeas en el ambiente controlado en condiciones de laboratorio que podría estar asociado a la disponibilidad de recursos y a la ausencia completa de contaminación.
- Los análisis estadísticos de componentes principales (PCA) son lo suficientemente sensibles para detectar la variación de los parámetros morfométricos de las frústulas de las diatomeas en la mayoría de los casos.
- Se concluyó que el error humano en la digitalización es un factor importante para el análisis estadístico del programa ya que no existe una metodología para el tratamiento de datos morfogeométricos en diatomeas.
- Se determinó que el programa es lo suficientemente sensible bajo el método gráfico para la determinación de la variación por tumores en los frústulos de las diatomeas aun teniendo los sesgos de digitalización.

3. RECOMENDACIONES

- Al realizar el cepillado del sustrato rocoso se recomienda evitar frotar la superficie que está en contacto con el lecho fluvial, para evitar la presencia de cristales de minerales en las muestras.
- Se hace evidente la necesidad de estandarizar la metodología para el tratamiento de datos morfogeométricos de diatomeas.
- Ensayar varias alternativas para reducir el error aportador por el visualizador al momento de digitalizar (mallas, reglas, mediciones, etc).
- Se recomienda ajustar los códigos destinados a determinar la varianza morfogeométricos para aumentar el grado de confianza, evaluando el nivel de significancia cuando se aplique en posteriores estudio de diatomeas.
- Separar los individuos que presenten tumores de los individuos sanos de un mismo morfotipo para generar el procuster con este último grupo de modo que las diferencias entre individuos sean más evidentes.

4. GLOSARIO

- Afluente: Arroyo o río secundario que lleva sus aguas a otro mayor o principal.
- Amonio: Radical univalente formado por hidrógeno y nitrógeno, NH_4 , cuyos compuestos se parecen a los de los metales alcalinos.
- Anisogamia: Forma de reproducción sexual en la que los gametos masculino y femenino que se unen son morfológicamente diferentes.
- Archivo TPS: archivo para la creación de bases de datos que lee el software R.
- Autototrofo: Que elabora su propia materia orgánica a partir de sustancias inorgánicas, de las que se nutre.
- Biofilm: ecosistema microbiano organizado, conformado por uno o varios microorganismos asociados a una superficie viva o inerte, con características funcionales y estructuras complejas.
- Bioindicador: Organismo vivo que se utiliza para determinar y evaluar el índice de contaminación de un lugar, especialmente de la atmósfera o del agua.
- Cigoto: Célula que resulta de la unión de las células sexuales masculina y femenina y a partir de la cual se desarrolla el embrión de un ser vivo.
- Cloroplastos: son los orgánulos celulares que en los organismos eucariontes que se ocupan de la fotosíntesis.
- Cribrum: capa fina que recubre los lóculos de las diatomeas y se encuentra regularmente agujereada.
- Cuenca hidrográfica: territorio drenado por un único sistema de drenaje natural, es decir, que drena sus aguas al mar a través de un único río, o que vierte sus aguas a un único lago endorreico. Una cuenca hidrográfica es delimitada por la línea de las cumbres, también llamada divisoria de aguas.
- Diatomeas: clase de algas unicelulares de caparazón silíceo formado por dos valvas de tamaño desigual, de modo que la valva más pequeña encaja en la mayor; pueden vivir en el mar, en agua dulce o en la tierra húmeda.
- Epiteca: valva superior del frústulo de la diatomeas.
- Erosión: desgaste y modelación de la corteza terrestre causados por la acción del viento, la lluvia, los procesos fluviales, marítimos y glaciales, y por la acción de los seres vivos.
- Forámenes: perforaciones que interconectan los lóculos en las diatomeas.
- Formaldehído: aldehído de olor irritante, que procede de la deshidrogenación del alcohol metílico; se emplea en la fabricación de plásticos.

- Frústulo: pared celular dura y porosa de la capa externa de las diatomeas, formada de sílice.
- Gametos: células sexuales haploides de los organismos pluricelulares originadas por meiosis o mitosis a partir de las células germinales (o meiocitos en el caso de células diploides).
- Geomorph: paquete del software R que sirve para leer , manipular y digitalizar los datos de punto de referencia, darle forma a las variables a través de análisis de Procrustes para puntos, curvas y superficies , realizar análisis, y proporcionar representaciones gráficas de formas y patrones de variación.
- Histología: parte de la biología que estudia la composición, la estructura y las características de los tejidos orgánicos de los seres vivos.
- Isogamia: es una forma de reproducción sexual propia de los vegetales en la cual los dos gametos que se unen para formar el cigoto son idénticos en estructura y tamaño.
- Landmark: conjunto de puntos geométrica o anatómicamente definidos que son análogos entre estructuras.
- Lóculos: poros en la pared silíceo de las diatomeas.
- Macrófitos: son un tipo de plantas, más específicamente se trata de vegetación acuática.
- Mastigonemas: son las fibrillas que a modo de peine salen de los flagelos de algunos organismos.
- Meiosis: proceso de división celular, propia de las células reproductoras, en el que se reduce a la mitad el número de cromosomas.
- Ochrophyta: es una de las líneas principales de los organismos eucariota, con cerca de 10.500 especies.
- Oogamia: tipo de fecundación en el que un gameto femenino inmóvil es fecundado por un gameto masculino móvil.
- pH: coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa.
- Pirenoide: masa fundamentalmente proteica, incolora, y muy refringente que se observa en el estroma de los plastos de muchas algas eucarióticas (protistas acuáticos autótrofos) de distintos grupos.
- Procrustes: conjunto de coordenadas alineadas que representan un promedio de datos generado con el software R.
- Rafe: línea prominente en la parte media de una diatomea, producida por la unión de dos mitades laterales del individuo.
- Retículo endoplasmático: estructura membranosa multiplegada dentro de las células eucariotas, que desempeña un papel importante en la síntesis de las moléculas complejas requeridas por la célula y el organismo como un todo.
- Software R: es un lenguaje y entorno de computación y gráficos estadísticos.

- Taxonomía: ciencia que trata de los principios, métodos y fines de la clasificación, generalmente científica; se aplica, en especial, dentro de la biología para la ordenación jerarquizada y sistemática de los grupos de animales y de vegetales.
- Tilacoides: sacos aplanados que forman parte de la estructura de la membrana interna del cloroplasto, sitio de las reacciones captadoras de luz de la fotosíntesis y de la fotofosforilación.
- Valva: cada una de las dos partes en las que está dividida el frústulo.
- Vector: segmento de recta, contado a partir de un punto del espacio, cuya longitud representa a escala una magnitud, en una dirección determinada y en uno de sus sentidos.
- Velum: capa fina que cubre los lóculos en las diatomeas.
- Vertimiento: conjunto de materiales de desecho que se vierten en algún lugar, especialmente los procedentes de instalaciones industriales o energéticas.
- Zona eufótica: capa superior del agua que posee la suficiente iluminación para que ocurra la fotosíntesis.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Observatorio-Ambiental-de-Bogotá, "Diagnóstico del Río Bogotá," no. 1992, 2000.
- [2] "Evaluación ambiental y plan de gestión ambiental," 2009.
- [3] A. P. Preciado, "El problema del río bogotá."
- [4] L. A. Artuz, M. S. Martínez, and C. J. Morales, "Las industrias curtiembres y su incidencia en la contaminación del río Bogotá," *Isocuanta*, vol. 1, no. 1, pp. 43–53, 2011.
- [5] D. Quintero and W. Juan, "Prediagnóstico toxicológico de la cuenca alta del río Bogotá," 2010.
- [6] R. C. Segura, "Contaminación en la cuenca alta del río Bogotá: diagnóstico y ensayo," pp. 191–202, 2010.
- [7] CAR, "Plan de Ordenación y Manejo de la Cuenca Hidrográfica del río Bogotá.," p. 104, 2006.
- [8] Contraloría General de la República, "Estado de los Recursos Naturales y del Ambiente 2012," p. 512, 2012.
- [9] C. Peña, "Procesos de monitoreo a la calidad del agua del río Bogotá, CAR," *J. Electrochem. Soc.*, 2010.
- [10] L. S. Rodríguez Garzón, "DETERMINACIÓN DEL ESTADO TRÓFICO DE TRES ECOSISTEMAS LÉNTICOS DE LA SABANA DE BOGOTÁ CON BASE AL FITOPLANCTON, EN DOS PERIODOS CLIMÁTICOS CONTRASTANTES," *PhD Propos.*, vol. 1, pp. 1–116, 2012.
- [11] A. Duró and J. García Valero, "arquitectura de las diatomeas," no. 1, pp. 36–37.
- [12] K. Dreckmann, A. Senties, and M. Núñez, "Biología de Algas - Manual de prácticas de laboratorio," p. 90, 2013.
- [13] M. H. Novais, S. Blanco, D. Hlúbiková, E. Falasco, J. Gomà, C. Delgado, P. Ivanov, É. Ács, M. Morais, L. Hoffmann, and L. Ector, "Morphological examination and biogeography of the *Gomphonema rosenstockianum* and *G. tergestinum* species complex (Bacillariophyceae)," *Fottea*, vol. 9, no. 2, pp. 257–274, 2009.
- [14] O. E. ROMERO, "DIATOMEAS (BACILLARIOPHYCEAE) DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA (ARGENTINA). I," *Darwiniana*, vol. 32, no. 1/4, pp. 303–313, 1993.
- [15] R. Tormo, "Plantas y hongos," *Universidad de Extremadura*. 2013.

- [16] C. Diaz and C. Rivera, "Diatomeas De Pequeños Ríos Andinos Y Su Utilización Como Indicadoras De Condiciones Ambientales," *Caldasia*, vol. 26, no. 2, pp. 381–394, 2004.
- [17] Y. Montoya, S. Sala, A. Vouilloud, N. Aguirre, and Y. Plata, "Lista de las diatomeas de ambientes continentales de Colombia," *Biota Colomb.*, vol. 14, no. 2, pp. 13–70, 2013.
- [18] G. S. Vásquez, G. M. Castro, I. M. Gonzáles, R. R. Pérez, and T. B. Castro, "Bioindicadores como herramientas para determinar la calidad del agua," *ContactoS*, vol. 60, pp. 41–48, 2006.
- [19] F. Rimet and A. Bouchez, "Use of diatom life-forms and ecological guilds to assess pesticide contamination in rivers: Lotic mesocosm approaches," *Ecol. Indic.*, vol. 11, no. 2, pp. 489–499, 2011.
- [20] S. Torcida and S. I. Pérez, "Análisis de procrustes y el estudio de la variación morfológica," *Rev. argentina Antropol. biológica*, vol. 14, no. 1, pp. 131–141, 2012.
- [21] T. Perciano, "Image analysis and statistics : an introduction using R and RIPA," no. 2008, p. 94720, 2014.
- [22] D. C. Adams and E. Otárola-Castillo, "Geomorph: An r package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data," *Methods Ecol. Evol.*, vol. 4, no. 4, pp. 393–399, 2013.
- [23] universidad santo Tomas, "Univarsidad Santo Tomas." .
- [24] E. General, C. Aut, S. Nacional, R. Cundinamarca, D. Capital, P. El Salitre, and D. Capital, "Corporación Autónoma Regional De," vol. 0209, no. 22, 2009.
- [25] "ACERCA DE LA ENTIDAD - IDEAM." .
- [26] U. D. of Geography, "Diatom Preparation," pp. 2–3, 2015.
- [27] P. Monday, "' How To ' Tutorial Series : The Collecting , Cleaning , and Mounting of Diatoms," 2013.

6. ANÉXOS

ANEXO 1. Valores de contaminación reportados por la car 2012-2015.

PARAMETRO	UNIDADES	METODOLOGIA DE MUESTREO	FECHA	VMD/LCM		LIMITE NORMA	ESTACION					
							Rio Bogota Aguas arriba Villapinzon. Estacion Nueva		Rio Bogota puente Villapinzon		Aguas arriba quebrada Quincha	
DBO	mg O ₂ /L	Prueba de 5 dias (5210B)	feb-12	LCM	2		<LCM		<LCM		7,7	+/- 0,30
DQO	mg O ₂ /L	Reflujo abierto (5220B)	feb-12	LCM	10		11,6	+/- 0,70	<LCM		20,8	+/- 1,20
SST	mg-ST/L	Secado a 103-105°C (2540D)	feb-12	LCM	2,5		30,7	+/- 2,30	41	+/- 3,10	70	+/- 5,2
N Total	mg-N/L	Macro-Kjeldahl (4500 NorgB)	feb-12	LCM	1		<LCM		<LCM		1,4	+/- 0,10
Cloruros	mg Cl/L	Potenciometro (4500-Cl D)	feb-12	LCM	2	250	2,1	+/- 0,01	5,5	+/- 0,02	7,3	+/- 0,03
Cromo VI	mg Cr/L(ppm)	Colorimetrico difenil (3500 Cr B)	feb-12	LCM	0,02	0,05	<LCM		<LCM		<LCM	
Cromo Total	mg Cr/L(ppm)	ICP-MS 3125 B	feb-12				NO REPORTAN					
Mercurio	mg Hg/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	feb-12			2	NO REPORTAN					
Plomo	mg Pb/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	feb-12			50	NO REPORTAN					
Niquel	mg Ni/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	feb-12				NO REPORTAN					

PARAMETRO	UNIDADES	METODOLOGIA DE MUESTREO	FECHA	VMD/LCM		LIMITE NORMA	ESTACION					
							Rio Bogota Aguas arriba Villapinzon.		Rio Bogota puente		Aguas arriba quebrada Quincha	
DBO	mg O ₂ /L	Prueba de 5 dias	jul-12	LCM	2		<LCM		2,8	+/- 0,10	5,2	+/- 0,20
DQO	mg O ₂ /L	Reflujo abierto (5220B)	jul-12	LCM	10		11,2	+/- 0,70	15,4	+/- 0,90	27,6	+/- 1,70
SST	mg-ST/L	Secado a 103-105°C (2540D)	jul-12	LCM	2,5		31,7	+/- 2,40	37	+/- 2,80	64	+/- 4,8
N Total	mg-N/L	Macro-Kjeldahl (4500 NorgB)	jul-12	LCM	1		<LCM		1	+/- 0,10	1,4	+/- 0,10
Cloruros	mg Cl/L	Potenciometro (4500-Cl D)	jul-12	LCM	2	250	<LCM		4	+/- 0,02	4,8	+/- 0,02
Cromo VI	mg Cr/L(ppm)	Colorimetrico difenil (3500 Cr B)	jul-12	LCM	0,02	0,05	<LCM		<LCM		<LCM	
Cromo Total	mg Cr/L(ppm)	ICP-MS 3125 B	jul-12				NO REPORTAN					
Mercurio	mg Hg/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	jul-12			2	NO REPORTAN					
Plomo	mg Pb/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	jul-12			50	NO REPORTAN					
Niquel	mg Ni/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	jul-12				NO REPORTAN					

PARAMETRO	UNIDADES	METDOLOGIA DE MUESTREO	FECHA	VMD/LCM		LIMITE NORMA	ESTACION					
							Rio Bogota Aguas arriba Villapinzon.		Rio Bogota puente		Aguas arriba quebrada Quincha	
DBO	mg O2/L	Prueba de 5 dias (5210B)	jul-13	LCM	2		<LCM		<LCM		10,2	+/- 0,70
DQO	mg O2/L	Reflujo abierto	jul-13	LCM	10		<LCM		<LCM		23,7	+/-1,70
SST	mg-ST/L	Secado a 103-105°C (2540D)	jul-13	LCM	2,5		24	+/- 1,80	36	+/-2,70	57	+/- 4,2
N Total	mg-N/L	Macro-Kjeldahl (4500 NorgB)	jul-13	LCM	1		<LCM		<LCM		1,4	+/-0,10
Cloruros	mg Cl/L	Potenciometro (4500-Cl D)	jul-13	LCM	2	250	<LCM		4,2	+/-0,02	6,1	+/-0,02
Cromo VI	mg Cr/L(ppm)	Colorimetrico difenil (3500 Cr B)	jul-13	LCM	0,02	0,05	<LCM		<LCM		<LCM	
Cromo Total	mg Cr/L(ppm)	ICP-MS 3125 B	jul-13	LCM	2		<LCM		<LCM		3,58	
Mercurio	mg Hg/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	jul-13	LCM	3	2	<LCM		<LCM		<LCM	
Plomo	mg Pb/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	jul-13	LCM	10	50	<LCM		<LCM		<LCM	
Niquel	mg Ni/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	jul-13	LCM	3		3,12		3,71		8,89	

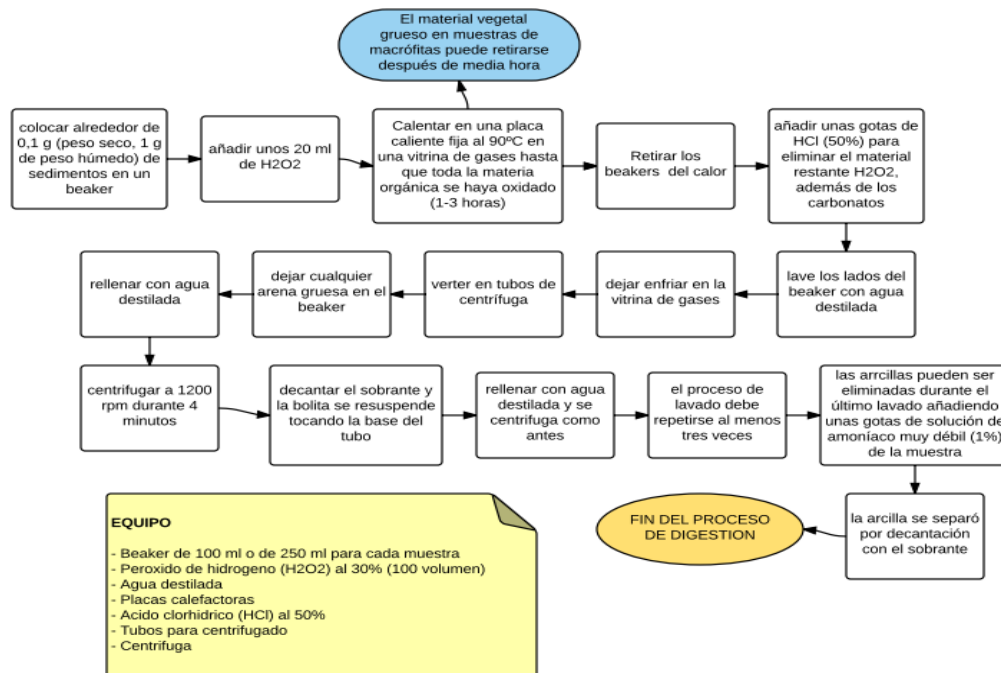
PARAMETRO	UNIDADES	METDOLOGIA DE MUESTREO	FECHA	VMD/LCM		LIMITE NORMA	ESTACION					
							Rio Bogota Aguas arriba Villapinzon.		Rio Bogota puente		Aguas arriba quebrada Quincha	
DBO	mg O2/L	Prueba de 5 dias (5210B)	nov-13	LCM	2		<LCM		2,5	+/- 0,20	4	+/-0,30
DQO	mg O2/L	Reflujo abierto (5220B)	nov-13	LCM	10		15,5	+/- 1,10	22	+/- 1,50	24,8	+/- 1,70
SST	mg-ST/L	Secado a 103-105°C (2540D)	nov-13	LCM	2,5		31	+/-2,30	61	+/- 4,50	73	+/- 5,40
N Total	mg-N/L	Macro-Kjeldahl (4500 NorgB)	nov-13	LCM	1		<LCM		<LCM		<LCM	
Cloruros	mg Cl/L	Potenciometro (4500-Cl D)	nov-13	LCM	2	250	2,2	+/- 0,01	8,9	+/- 0,04	10,1	+/- 0,04
Cromo VI	mg Cr/L(ppm)	Colorimetrico difenil (3500 Cr B)	nov-13	LCM	0,02	0,05	<LCM		<LCM		<LCM	
Cromo Total	mg Cr/L(ppm)	ICP-MS 3125 B	nov-13				NO REPORTAN					
Mercurio	mg Hg/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	nov-13	LCM	3	2	<LCM		<LCM		<LCM	
Plomo	mg Pb/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	nov-13	LCM	10	50	<LCM		<LCM		<LCM	
Niquel	mg Ni/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	nov-13	LCM	3		<LCM		<LCM		<LCM	

PARAMETRO	UNIDADES	METDOLOGIA DE MUESTREO	FECHA	VMD/LCM		LIMITE NORMA	ESTACION					
							Rio Bogota Aguas arriba Villapinzon.		Rio Bogota puente		Aguas arriba quebrada Quincha	
DBO	mg O2/L	Prueba de 5 dias (5210B)	may-14	LCM	2		<LCM		<LCM		4,6	+/-0,30
DQO	mg O2/L	Reflujo abierto (5220B)	may-14	LCM	10		24,8	+/-1,70	30,8	+/-2,10	32,7	+/-2,30
SST	mg-ST/L	Secado a 103-105°C (2540D)	may-14	LCM	4				23,7	+/-0,10	35,6	+/-0,20
N Total	mg-N/L	Macro-Kjeldahl (4500 NorgB)	may-14	LCM	1		<LCM		<LCM		1,3	+/-0,20
Cloruros	mg Cl/L	Potenciometro (4500-Cl D)	may-14				NO REPORTAN					
Cromo VI	mg Cr/L(ppm)	Colorimetrico difenil (3500 Cr B)	may-14	LCM	0,02	0,05	<LCM		<LCM		<LCM	
Cromo Total	mg Cr/L(ppm)	ICP-MS 3125 B	may-14				NO REPORTAN					
Mercurio	mg Hg/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	may-14	LCM	3	2	<LCM		<LCM		<LCM	
Plomo	mg Pb/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	may-14	LCM	10	50	<LCM		<LCM		<LCM	
Niquel	mg Ni/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	may-14	LCM	3		<LCM		<LCM		<LCM	

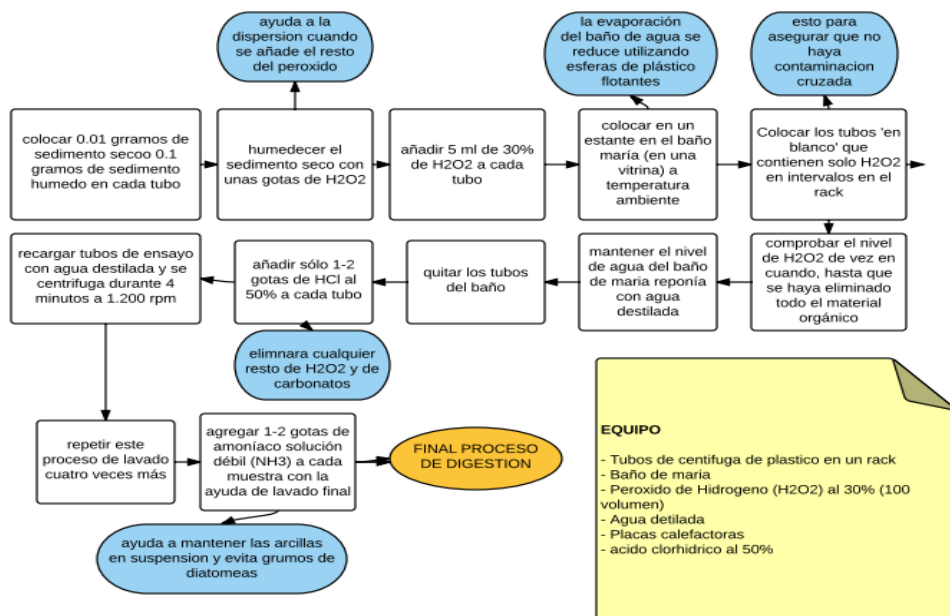
PARAMETRO	UNIDADES	METODOLOGIA DE MUESTREO	FECHA	VMD/LCM		LIMITE NORMA	ESTACION					
							Rio Bogota Aguas arriba Villapinzon.		Rio Bogota puente		Aguas arriba quebrada Quincha	
DBO	mg O2/L	Prueba de 5 días (5210B)	sep-14	LCM	2		<LCM		<LCM		5,6	+/-0,40
DQO	mg O2/L	Reflujo abierto (5220B)	sep-14	LCM	10		<LCM		<LCM		13,9	+/-1,00
SST	mg-ST/L	Secado a 103-105°C (2540D)	sep-14	LCM	5		16	+/-1,20	30	+/-2,20	28	+/-2,10
N Total	mg-N/L	Macro-Kjeldahl (4500 NorgB)	sep-14	LCM	1		<LCM		<LCM		1,2	+/-0,20
Cloruros	mg Cl/L	Potenciometro (4500-Cl D)	sep-14	LCM	2	250	<LCM		<LCM		4,8	+/-0,02
Cromo VI	mg Cr/L(ppm)	Colorimetrico difenil (3500 Cr B)	sep-14	LCM	0,02	0,05	<LCM		<LCM		<LCM	
Cromo Total	mg Cr/L(ppm)	ICP-MS 3125 B	sep-14	LCM	2		<LCM		<LCM		<LCM	
Mercurio	mg Hg/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	sep-14	LCM	3	2	<LCM		<LCM		<LCM	
Plomo	mg Pb/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	sep-14	LCM	10	50	<LCM		<LCM		<LCM	
Niquel	mg Ni/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	sep-14	LCM	3		<LCM		<LCM		<LCM	

PARAMETRO	UNIDADES	METODOLOGIA DE MUESTREO	FECHA	VMD/LCM		LIMITE NORMA	ESTACION					
							Rio Bogota Aguas arriba Villapinzon.		Rio Bogota puente		Aguas arriba quebrada Quincha	
DBO	mg O2/L	Prueba de 5 días (5210B)	mar-15	LCM	2		2	+/- 0,10	<LCM		3,8	+/- 0,30
DQO	mg O2/L	Reflujo abierto (5220B)	mar-15	LCM	10		<LCM		12,8	+/-0,90	16,8	+/-1,20
SST	mg-ST/L	Secado a 103-105°C (2540D)	mar-15	LCM	2,5		27,8	+/-2,00	44	+/-3,30	47,3	+/-3,50
N Total	mg-N/L	Macro-Kjeldahl (4500 NorgB)	mar-15	LCM	1		<LCM		<LCM		<LCM	
Cloruros	mg Cl/L	Potenciometro (4500-Cl D)	mar-15	LCM	2	250	<LCM		4,6	+/-0,02	4,6	+/-0,02
Cromo VI	mg Cr/L(ppm)	Colorimetrico difenil (3500 Cr B)	mar-15	LCM	0,02	0,05	<LCM		<LCM		<LCM	
Cromo Total	mg Cr/L(ppm)	ICP-MS 3125 B	mar-15				NO REPORTAN					
Mercurio	mg Hg/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	mar-15	LCM	3	2	<LCM		<LCM		<LCM	
Plomo	mg Pb/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	mar-15	LCM	10	50	<LCM		<LCM		<LCM	
Niquel	mg Ni/L(ppb)	ICP-MS 3125 B	mar-15	LCM	3		<LCM		<LCM		<LCM	

ANÉXO 2. METODOLOGÍAS DE DIGESTIÓN DE LAS MUESTRAS



Fuente: [26]



Fuente:[27]

ANEXO 3. FORMATOS DE CAMPO PARA EL MUESTREO

Formato de campo punto A

 Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales	CAPTURA DE DATOS EN CAMPO DIATOMEAS Y MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS	Código: TF0168
		Versión: 3
		Fecha: 24/05/2014
		Página 1 de 1

CÓDIGO DE LABORATORIO (para diligenciar en el Laboratorio de Calidad Ambiental): _____

RESPONSABLE DEL MUESTREO: Tatiana Delgado P. FIRMA: _____

FECHA DE MUESTREO: 26 - 05 - 2015 HORA: 09:20 am ☐

CORRIENTE: Rio Bita ESTACIÓN: A MUNICIPIO: Villavieja DEPARTAMENTO: Cundinamarca

LATITUD: 7°33'0.1" LONGITUD: 05°12'39.8" ALTITUD: 3159 0800

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL SITIO DE MUESTREO

PROFUNDIDAD MEDIA (m): _____ ANCHO DEL CAUCE (m): _____ VELOCIDAD DE LA CORRIENTE (m/s): _____

VEGETACIÓN DE RIVERA: _____

ACTIVIDADES EN EL ENTORNO: Reserva Ecológica

ASPECTO GENERAL DEL AGUA: _____ COLOR DEL AGUA: _____

FACIES DE FLUJO (clasificación de Malavol): _____

DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DEL MUESTREO DE MACROINVERTEBRADOS

TIPO DE MUESTREADOR: MANUAL ☒ SURBER ☐ OTRO ☐ cuál? _____

TAMAÑO DE PORO DE LA RED SURBER (µm): _____ NÚMERO DE SUBMUESTRAS TOMADAS: _____

LOCALIZACIÓN DEL SITIO DE MUESTREO: MARGEN IZQUIERDA ☐ CENTRO ☒ MARGEN DERECHA ☐

TIPO DE SUSTRATO DOMINANTE: Rocas y sedimento

OTROS SUSTRATOS MUESTREADOS: _____

ESTIMACIÓN DE LA BIOTA ACUÁTICA: _____

DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DEL MUESTREO DE DIATOMEAS

SUSTRATO DEL MUESTREO: Rocas

NÚMERO DE MEDIOS MUESTREADOS: 3 PROFUNDIDAD (m): 0.30 DISTANCIA A LA ORILLA (m): 2

ÁREA TOTAL MUESTREADA aprox (cm²): _____ VELOCIDAD DE LA CORRIENTE (m/s): _____

Esquema del lugar de muestreo: margen del río y particularidades de la orilla que permitan la identificación de los puntos en posteriores muestreos

OBSERVACIONES: pH 5

Formato de campo punto B

1*

 Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales	CAPTURA DE DATOS EN CAMPO DIATOMEAS Y MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS	Código: TF0168
		Versión: 3
		Fecha: 24/05/2014
		Página 1 de 1

CÓDIGO DE LABORATORIO (para diligenciar en el Laboratorio de Calidad Ambiental): _____
 RESPONSABLE DEL MUESTREO: Tatiana Delgado P. FIRMA: _____
 FECHA DE MUESTREO: 26 - 05 - 2015 HORA: 09:20 a.m.
 CORRIENTE: Rio Bita ESTACIÓN: 5 MUNICIPIO: Villavieja DEPARTAMENTO: Cundinamarca
 LATITUD: 7°35'32" LONGITUD: 75°13'21" ALTITUD: 2731 06000

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL SITIO DE MUESTREO

PROFUNDIDAD MEDIA (m): _____ ANCHO DEL CAUCE (m): _____ VELOCIDAD DE LA CORRIENTE (m/s): _____
 VEGETACIÓN DE RIVERA: _____
 ACTIVIDADES EN EL ENTORNO: Viviendas, actividades agrícolas y ganaderas en pequeños parcelas
 ASPECTO GENERAL DEL AGUA: _____
 COLOR DEL AGUA: _____ FACIES DE FLUJO (clasificación de Meade): _____

DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DEL MUESTREO DE MACROINVERTEBRADOS

TIPO DE MUESTREADOR: MANUAL ☒ SURBER ☐ OTRO ☐ cuál? _____
 TAMAÑO DE PORO DE LA RED SURBER (µm): _____ NÚMERO DE SUBMUESTRAS TOMADAS: _____
 LOCALIZACIÓN DEL SITIO DE MUESTREO: MARGEN IZQUIERDA ☐ CENTRO ☒ MARGEN DERECHA ☐
 TIPO DE SUSTRATO DOMINANTE: Rocas y sedimento
 OTROS SUSTRATOS MUESTREADOS: _____
 ESTIMACIÓN DE LA BIOTA ACUÁTICA: _____

DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DEL MUESTREO DE DIATOMEAS

SUSTRATO DEL MUESTREO: Rocas
 NÚMERO DE MEDIOS MUESTREADOS: 3 PROFUNDIDAD (m): 0.30 DISTANCIA A LA ORILLA (m): 2
 ÁREA TOTAL MUESTREADA aprox (cm²): _____ VELOCIDAD DE LA CORRIENTE (m/s): _____

Esquema del lugar de muestreo: margen del río y particularidades de la orilla que permitan la identificación de los puntos en posteriores muestreos



OBSERVACIONES: PH 5 y temperatura 10°C

Formato de campo punto c

 IDEAM Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales	CAPTURA DE DATOS EN CAMPO DIATOMEAS Y MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS	Código: TF0168
		Versión: 3
		Fecha: 24/05/2014
		Página 1 de 1

CÓDIGO DE LABORATORIO (para diligenciar en el Laboratorio de Calidad Ambiental): _____
 RESPONSABLE DEL MUESTREO: Tatiana Delgado P. FIRMA: _____
 FECHA DE MUESTREO: 25 - 05 - 2015 HORA: 09:20 am ☐
 CORRIENTE: Rb Bnda ESTACIÓN: C MUNICIPIO: Villapinzón DEPARTAMENTO: Cundinamarca
 LATITUD: 7°35'50" LONGITUD: 0°11'42" ALTITUD: 2798 00800

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL SITIO DE MUESTREO

PROFUNDIDAD MEDIA (m): 0.50 ANCHO DEL CAUCE (m): 5 VELOCIDAD DE LA CORRIENTE (m/s): _____
 VEGETACIÓN DE RIVERA: Pastos y coqueles
 ACTIVIDADES EN EL ENTORNO: Cultivos de especie exótica
 ASPECTO GENERAL DEL AGUA: Opaco con presencia de gases COLOR DEL AGUA: café oscuro
 FACIES DE FLUJO (clasificación de Malvert): _____

DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DEL MUESTREO DE MACROINVERTEBRADOS

TIPO DE MUESTREADOR: MANUAL ☒ SURBER ☐ OTRO ☐ cuál? _____
 TAMAÑO DE PORO DE LA RED SURBER (µm): _____ NÚMERO DE SUBMUESTRAS TOMADAS: _____
 LOCALIZACIÓN DEL SITIO DE MUESTREO: MARGEN IZQUIERDA ☐ CENTRO ☒ MARGEN DERECHA ☐
 TIPO DE SUSTRATO DOMINANTE: Rocas y sedimento
 OTROS SUSTRATOS MUESTREADOS: _____
 ESTIMACIÓN DE LA BIOTA ACUÁTICA: _____

DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DEL MUESTREO DE DIATOMEAS

SUSTRATO DEL MUESTREO: Rocas
 NÚMERO DE MEDIOS MUESTREADOS: 3 PROFUNDIDAD (m): 0.20 DISTANCIA A LA ORILLA (m): 1
 ÁREA TOTAL MUESTREADA aprox (cm²): _____ VELOCIDAD DE LA CORRIENTE (m/s): _____

Esquema del lugar de muestreo: margen del río y particularidades de la orilla que permitan la identificación de los puntos en posteriores muestreos

OBSERVACIONES: pH 5 y temperatura 10°C

Formato de campo punto D

	CAPTURA DE DATOS EN CAMPO DIATOMEAS Y MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS	Código: TF0168
		Versión: 3
		Fecha: 24/05/2014
		Página 1 de 1

CÓDIGO DE LABORATORIO (para diligenciar en el Laboratorio de Calidad Ambiental): _____
 RESPONSABLE DEL MUESTREO: Tatiana Delgado P. FIRMA: _____
 FECHA DE MUESTREO: 26 - 09 - 2015 HORA: 09:20 h m
 CORRIENTE: Rio Bide ESTACIÓN: D MUNICIPIO: Villavieja DEPARTAMENTO: Cundinamarca
 LATITUD: 7°02'12.5" LONGITUD: 04°51'47" ALTITUD: 2551 (msnm)

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL SITIO DE MUESTREO

PROFUNDIDAD MEDIA (m): 1.30 ANCHO DEL CAUCE (m): 8 VELOCIDAD DE LA CORRIENTE (m/s): _____
 VEGETACIÓN DE RIVERA: Pastos
 ACTIVIDADES EN EL ENTORNO: Alto flujo vehicular, actividades agrícolas y ganaderas, Basuras al lado del
 ASPECTO GENERAL DEL AGUA: Oscuro con presencia de impurezas COLOR DEL AGUA: café oscuro/verdoso
 FACIES DE FLUJO (clasificación de Malinvi): _____

DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DEL MUESTREO DE MACROINVERTEBRADOS

TIPO DE MUESTREADOR: MANUAL ☒ SURBER ☐ OTRO ☐ cuál? _____
 TAMAÑO DE PORO DE LA RED SURBER (µm): _____ NÚMERO DE SUBMUESTRAS TOMADAS: _____
 LOCALIZACIÓN DEL SITIO DE MUESTREO: MARGEN IZQUIERDA ☐ CENTRO ☒ MARGEN DERECHA ☐
 TIPO DE SUSTRATO DOMINANTE: Rocas y sedimento
 OTROS SUSTRATOS MUESTREADOS: _____
 ESTIMACIÓN DE LA BIOTA ACUÁTICA: _____

DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DEL MUESTREO DE DIATOMEAS

SUSTRATO DEL MUESTREO: Rocas
 NÚMERO DE MEDIOS MUESTREADOS: 3 PROFUNDIDAD (m): 0.20 DISTANCIA A LA ORILLA (m): 1
 ÁREA TOTAL MUESTREADA aprox (cm²): _____ VELOCIDAD DE LA CORRIENTE (m/s): _____

Esquema del lugar de muestreo: margen del río y particularidades de la orilla que permitan la identificación de los puntos en posteriores muestreos

OBSERVACIONES: _____

ANÉXO 4. Registro fotográfico muestreo

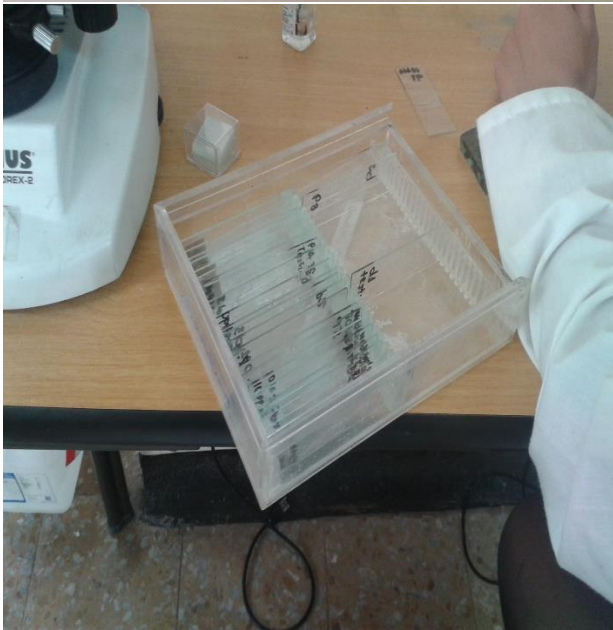
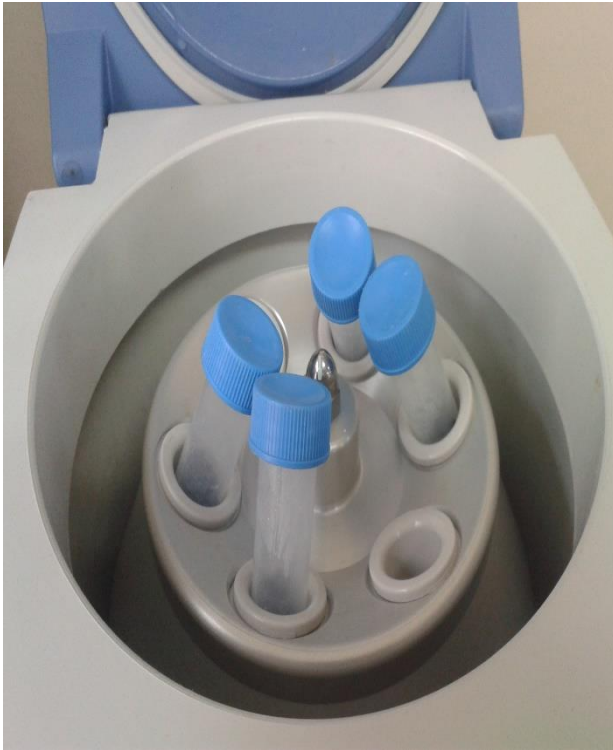






ANÉXO 5. Registro fotográfico laboratorio





ANÉXO 6. CÓDIGOS PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Digitalización

```
> library (rgl)
```

```
> library (ape)
```

```
> library (geomorph) # este comando adjunta el paquete necesario en este caso  
geomorph
```

```
> setwd ("C:/Users/Carito/Dropbox/Tesis Diatomeas/fotos rio bogota/Punto 1l") #  
este código sirve para fijar la carpeta de trabajo
```

```
> specs<-list.files()[grep(".jpg",list.files())];specs # hace una lista de las imágenes  
de la carpeta de trabajo
```

```
> save.image() # guarda
```

```
> str (specs)
```

```
> filelist <- list.files(pattern="*.jpg");str(filelist)
```

```
> digitize2d(filelist, nlandmarks=30,scale=116,tpsfile="efg.tps",verbose=FALSE) #  
este comando sirve para digitalizar los individuos en una secuencia de puntos, en  
este se indica el número de puntos y escala del espécimen respectivamente. (efg.  
tps es el nombre del archivo donde quedará registrada la información de la  
digitalización) ,(verbose= TRUE es para verificar punto por punto * para que no  
verifique se debe ajustar el verbose= FALSE)
```

PROCRUTES DE CADA MORFOTIPO

```
> library (rgl)
```

```
> library (ape)
```

```
> library (geomorph)
```

```
> Diatom_data <- readland.tps("C:/Users/Carito/Dropbox/Tesis Diatomeas/fotos  
con puntos/Morfotipo 1 con puntos/efg.tps") # Lo anterior hace referencia a  
(Diatom_data = nombre de archivo) (readland.tps =la funcion) (efg.tps= es el  
archivo) este código lee el archivo tps para su posterior análisis.
```

```
> Diatom_data <- estimate.missing(Diatom_data,method="TPS") #esta función  
completa los datos faltantes en la matriz
```

```
> Diatom_data <- readland.tps("efg.tps",specID="ID");str(Diatom_data) #  
readland.tps es el código que reconoce el el archivo tps y todo el código hace el  
cambio del formato de la matriz.
```

```
> Y.gpa <- gpagen(Diatom_data);ref<-
mshape(Y.gpa$coords);plotRefToTarget(ref,Y.gpa$coords[,3], method="TPS")
# este código grafica todos los puntos digitalizados y los promedia.
```

RECONOCIMIENTO DE DIATOMEAS MAL DIGITALIZADAS

```
> library (rgl)
> library (ape)
> library (geomorph)

> CArga_Ensayo <- readland.tps("C:/Users/Carito/Dropbox/Tesis Diatomeas/fotos
con puntos/Morfotipo 1 con puntos/efg.tps") # Lo anterior hace referencia a
(carga_ensayo- nombre de archivo) (readland.tps comando) efg.tps es el archivo
de digitalización (todo este comando es para cargar el archivo de la digitalización y
poder analizarla posterior mente

> str(CArga_Ensayo) # reconoce la carpeta de trabajo

> CArga_Ensayo[1:30,1:2,1] # con esta función hace la matriz

> par(mfrow=c(4,5))

> for (i in 1:20){plot(CArga_Ensayo[1:30,1:2,i])} # este código permite hacer un
mosaico de las gráficas donde se muestran los puntos digitalizados por individuo,
en este caso son 20 imágenes. Este sirve para verificar si la digitalización se
realizó correctamente por individuo
```

PROCRUSTES Y GRAFICAS DE LADOS

```
> library (rgl)
> library (ape)
> library (geomorph)

> genera.tps_split <- function(BaseOrigen,BaseDestino,SizeOrigen){BaseDestino
<- array(data=NA,c(15,2,SizeOrigen*2));destino <- 1;Range <- list(1:15,16:30);for(i
in 1:2){origen <- 1;while (origen <= SizeOrigen){land <-
Range[[i]];BaseDestino[1:15,,destino] <- BaseOrigen$diatom[land,,origen];origen
<- origen+1;destino <- destino+1}};return(BaseDestino)} # esta función genera el
archivo tps dividido por lados de cada diatomea

> DAta_Morfotipo1 <- read.csv("~/Dropbox/Tesis Diatomeas/Producciones/matriz
morfotipos/Morfotipo 1-Tabla 1.csv",header=TRUE) # este código carga los datos
establecidos en las tablas csv por morfotipo

> str(DAta_Morfotipo1) # reconoce la acción anterior
```

```

> Morfotipo_1_tps <- readland.tps("~/Dropbox/Tesis Diatomeas/fotos con
puntos/Morfotipo 1 con puntos/efg.tps") # este código carga del archivo tps

> Morfotipo1 <-
list(diatom=Morfotipo_1_tps,estacion=Data_Morfotipo1$ESTACION,individuo=Data_Morfotipo1$Individuo,morfotipo=Data_Morfotipo1$MORFOTIPO,Ubicacion=Data_Morfotipo1[,4:5],lado=Data_Morfotipo1$LADO,tumor=Data_Morfotipo1$TUMOR) # arreglo combinado de datos morfogeométricos y datos de la tabla csv

>str(Morfotipo1)

> Morfo1_Procrustes <- gpagen(Morfotipo1$diatom) # genera la gráfica con las
coordenadas de los puntos digitalizados alineadas y los centroides

> str(Morfo1_Procrustes)

> Morfotipo1_1_tps <- genera.tps_split(Morfotipo1,Morfotipo1_1,21) # ejecuta la
función anterior. Morfotipo1 es la base de origen, Morfotipo1_1 es la de destino, el
numero corresponde a el numero de individuos

>Morfotipo1_split <-
list(diatom=Morfotipo1_1_tps,estacion=Data_Morfotipo1$ESTACION,individuo=Data_Morfotipo1$Individuo,morfotipo=Data_Morfotipo1$MORFOTIPO,Ubicacion=Data_Morfotipo1[,4:5],lado=Data_Morfotipo1$LADO,tumor=Data_Morfotipo1$TUMOR) # genera el arreglo con datos morfogeométricos y adicionales

>str(Morfotipo1_split)

> Morfotipo1_split$individuo <- as.factor(Morfotipo1_split$individuo) #convierte
individuos en factor para el siguiente análisis.

>bilat.symmetry(Morfotipo1_split$diatom,ind=Morfotipo1_split$individuo,side=Morfotipo1_split$lado,object.sym=FALSE,verbose=FALSE) # esta función grafica los
Componentes de Forma simétrica (izquierda) y los componentes de forma
asimétrica (derecha) y además realiza las tablas de Varianza entre individuos por
morfotipo

```

REGRESION ALOMETRICA

```

> library (rgl)

> library (ape)

> library (geomorph)

> Base_Morfotipo1 <-readland.tps("~/Dropbox/Tesis Diatomeas/fotos con
puntos/Morfotipo 1 con puntos/efg.tps")

> str(Base_Morfotipo1)

> Morf1.gpa <- gpagen(Base_Morfotipo1) # genera el análisis de los Procrustes

```

```
>procD.lm(two.d.array(Morf1.gpa$coords)~Morf1.gpa$Csize,iter=99) # regresión alométrica. Prueba la asociación entre tamaño del centroide y forma. Si <P usar plotAllometry.
```

```
> DAta_Morfotipo1 <- read.csv("~/Dropbox/Tesis Diatomeas/Producciones/matriz morfotipos/Morfotipo 1-Tabla 1.csv",header=TRUE) # este código carga los datos establecidos en las tablas csv por morfotipo, en este caso el morfotipo 1.
```

```
> str(DAta_Morfotipo1)
```

```
> Morfotipo1 <-  
list(diatom=Base_Morfotipo1,estacion=DAta_Morfotipo1$ESTACION[1:21],individuo=DAta_Morfotipo1$Individuo[1:21],Morfotipo=DAta_Morfotipo1$MORFOTIPO[1:21],Ubicacion=DAta_Morfotipo1[1:21,4:5])
```

```
> YMorfo1.gpa <- gpagen(Morfotipo1$diatom) # alineamiento GPA
```

```
> procD.lm(yMorfo1~Morfotipo1$estacion,iter=99) # Función que realiza el Procrustes ANOVA con los procedimientos de permutación para evaluar hipótesis estadísticas que describen los patrones de variación de la forma y la covariación para un conjunto de coordenadas alineados Procrustes. Si la interacción no es significativa: los grupos tienen un pendiente de forma covariante, de ser el caso usar advanced.procD.lm con una formula como shape~group, shape~covariate para determinar si los minimos cuadrados del promedio de forma son diferentes entre grupos. Si es significativos usar advanced.procD.lm con shape~group, shape~covariate para determinar que grupos tienen pendientes de covarianza diferentes.
```

ANALISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

```
> library (rgl)
```

```
> library (ape)
```

```
> library (geomorph)
```

```
> Base_Morfotipo1 <-readland.tps("~/Dropbox/Tesis Diatomeas/fotos con puntos/Morfotipo 1 con puntos/efg.tps");Base_Morfotipo2 <-  
readland.tps("~/Dropbox/Tesis Diatomeas/fotos con puntos/Morfotipo 2 con puntos/efg.tps");Base_Morfotipo3 <-readland.tps("~/Dropbox/Tesis Diatomeas/fotos con puntos/Morfotipo 3 con puntos/efg.tps");Base_Morfotipo4 <-  
readland.tps("~/Dropbox/Tesis Diatomeas/fotos con puntos/Morfotipo 4 con puntos/efg.tps");Base_Morfotipo5 <-readland.tps("~/Dropbox/Tesis Diatomeas/fotos con puntos/Morfotipo 5 con puntos/efg.tps") # Este código permite cargar todos los archivos tps, para su posterior análisis
```

```
> DAta_Morfotipo1 <- read.csv("~/Dropbox/Tesis Diatomeas/Producciones/matriz morfotipos/Morfotipo 1-Tabla 1.csv",header=TRUE);DAta_Morfotipo2 <-
```

```
read.csv("~/Dropbox/Tesis Diatomeas/Producciones/matriz morfotipos/Morfotipo 2-
Tabla 1.csv",header=TRUE);Data_Morfotipo3 <- read.csv("~/Dropbox/Tesis
Diatomeas/Producciones/matriz morfotipos/Morfotipo 3-Tabla
1.csv",header=TRUE);Data_Morfotipo4 <- read.csv("~/Dropbox/Tesis
Diatomeas/Producciones/matriz morfotipos/Morfotipo 4-Tabla
1.csv",header=TRUE);Data_Morfotipo5 <- read.csv("~/Dropbox/Tesis
Diatomeas/Producciones/matriz morfotipos/Morfotipo 5-Tabla
1.csv",header=TRUE) # En este código es posible cargar la información de las
tablas correspondientes a cada morfotipo, se debe prestar atención si sale un
error, pues este puede ser causado por incompatibilidad del software y el archivo,
para este caso se debe poner la función de esta manera (read.csv2).
```

```
> Muestreo_full <- array(data=NA,c(30,2,216));str(Muestreo_full) # esta función
permite dar forma al arreglo en el que se mezclan los datos de todo el muestreo
```

```
> str(Base_Morfotipo1)
> str(Base_Morfotipo2)
> str(Base_Morfotipo3)
> str(Base_Morfotipo4)
> str(Base_Morfotipo5)
```

Aplicar estos códigos nos ayuda a verificar el número de puntos, de lados y de individuos, en cada morfotipo

```
>Muestreo_full <- array(data=NA,c(30,2,216)) # crea la matriz con el número de
individuos y datos
```

```
>str(Morfotipo_full)
```

```
> save.image()
```

```
> Data_Muestreo_full <- read.csv("~/Dropbox/Tesis
Diatomeas/Producciones/matriz morfotipos/MUESTREO_DATA
2.csv",header=TRUE) # Se carga el archivo csv donde se compila la información
de las diatomeas presentes en todos los morfotipos
```

```
> save.image()
```

```
> str(Data_Muestreo_full)
```

```
> Morfotipo_full <-
list(diatom=Muestreo_full[,1:216],estacion=Data_Muestreo_full$ESTACION,indivi
duo=Data_Muestreo_full$Individuo,morfotipo=Data_Muestreo_full$MORFOTIPO,
Ubicacion=Data_Muestreo_full[,4:5],tumor=Data_Muestreo_full$TUMOR) # este
codigo permite crear una lista con tres dimensiones morfogeométricas y otras con
los datos establecidos en la tabla general asociados a cada diatomea
```

```
> Function_Evaluacion_Varianza_PCA <-
function(Datos,NumeroDeGrupo,Vector_Colores){Y_Morfo_full.gpa <-
```

```
gpagen(Datos$diatom);MD <-
morphol.disparity(Y_Morfo_full.gpa$scoords,groups=Datos[[NumeroDeGrupo]],iter=
99);col.gp_full <- Vector_Colores;names(col.gp_full) <-
levels(as.factor(Datos[[NumeroDeGrupo]]));col.gp_full <-
col.gp_full[match(as.factor(Datos[[NumeroDeGrupo]]),names(col.gp_full))];PCA.gp
a <-
plotTangentSpace(Y_Morfo_full.gpa$scoords,groups=col.gp_full,label=TRUE);plot.n
ew(); legend(0,1, legend= levels(as.factor(Datos[[NumeroDeGrupo]])), pch=19, col
= levels(as.factor(col.gp_full)));print(PCA.gpa[[6]][,1:5]);MD} # este código permite:
1. crear el procrustes, 2. evaluar "la correlacion" entre los niveles del grupo
declarado en "groups". 3. tantos colores como niveles declarados en "groups".
```

```
> str(Morfotipo_full)
```

```
>Function_Evaluacion_Varianza_PCA(Morfotipo_full,2,c("blue","black","green","red
"))
```

```
>save.image()
```

```
> Y.Morfotipo_full.gpa <- gpagen(Morfotipo_full$diatom) # para hacer PCA con
grupos combinados. Primero genera el Procrustes
```

```
> PCA_full.gp <- as.factor(paste(Morfotipo_full$estacion,Morfotipo_full$tumor)) #
Con esta función se asignan los grupos
```

```
> summary(PCA_full.gp)
```

```
> col.gp <-
c(rep("black",summary(PCA_full.gp)[[1]]),rep("blue",summary(PCA_full.gp)[[2]]),rep
("green",summary(PCA_full.gp)[[3]]),rep("magenta",summary(PCA_full.gp)[[4]]),rep
("orange",summary(PCA_full.gp)[[5]]),rep("pink",summary(PCA_full.gp)[[6]]),rep("re
d",summary(PCA_full.gp)[[7]]),rep("yellow",summary(PCA_full.gp)[[8]])) # los
colores se deben colocar en orden alfabético
```

```
> col.gp <- rainbow(length(levels(PCA_full.gp))) # este código ayuda a dar un color
específico a cada grupo de individuos
```

```
> names(col.gp) <- levels(PCA_full.gp);col.gp <- col.gp[match(PCA_full.gp,
names(col.gp))]
```

```
> PCA_full_estacion.tumor <-
plotTangentSpace(Y.Morfotipo_full.gpa$scoords,groups=col.gp,label=TRUE);PCA_f
ull_estacion.tumor # este código permite hacer el análisis
```

```
> plot.new(); legend(0,1, legend= levels(PCA_full.gp), pch=19, col =
levels(as.factor(col.gp)))
```

Allometric. Nos brinda dos formas de evaluar la significancia de las diferencias de forma con respecto al tamaño

```
plotAllometry(Y.Morfotipo_full.gpa$coords~Y.Morfotipo_full.gpa$Csize,method="RegScore",iter=999)
```

```
plotAllometry(Y.Morfotipo_full.gpa$coords~Y.Morfotipo_full.gpa$Csize,method="CAC",iter=999)
```

```
plotAllometry(Y.Morfotipo_full.gpa$coords~Morfotipo_full$altura,method="RegScore",iter=999)
```

Analisis de varianza con el modelo $Y \sim V1 * V2 * \dots Vn$ o $Y \sim V1 + V2 \dots Vn$

```
str(Y.Morfotipo_full.gpa);str(Morfotipo_full)
```

```
procD.lm(Y.Morfotipo_full.gpa$coords~Morfotipo_full$estacion*Morfotipo_full$morfotipo*Morfotipo_full$tumor,iter=99)
```

Comparación "mesh" entre diatomea referencia y con tumor. Se debe identificar un individuo referencia y un individuo con tumor de cada morfotipo

```
>par(mfrow=c(3,2),main="Morfotipo 1. TPS, vector, points")
```

```
>PlotRefToTarget(ref_Y.Morfotipo_full,Y.Morfotipo_full.gpa$coords[,62],method="TPS")
```

```
>plotRefToTarget(ref_Y.Morfotipo_full,Y.Morfotipo_full.gpa$coords[,63],method="TPS")
```

```
>plotRefToTarget(ref_Y.Morfotipo_full,Y.Morfotipo_full.gpa$coords[,62],method="vector")
```

```
>plotRefToTarget(ref_Y.Morfotipo_full,Y.Morfotipo_full.gpa$coords[,63],method="vector")
```

```
>plotRefToTarget(ref_Y.Morfotipo_full,Y.Morfotipo_full.gpa$coords[,62],method="points")
```

```
>plotRefToTarget(ref_Y.Morfotipo_full,Y.Morfotipo_full.gpa$coords[,63],method="points")
```