

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO**

**Efectos de los nutrientes sobre la interacción entre el helecho acuático *Azolla filiculoides* y el gorgojo *Stenopelmus rufinasus*:  
Implicaciones para el control biológico**

**Leonardo Daniel Ortega López**

Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de Ecología  
Aplicada

Quito

Abril de 2012

**Universidad San Francisco de Quito  
Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales**

**HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS**

**Efectos de los nutrientes sobre la interacción entre el helecho acuático *Azolla filiculoides* y el gorgojo *Stenopelmus rufinasus*:  
Implicaciones para el control biológico**

**Leonardo Daniel Ortega López**

Stella de la Torre, PhD. ....  
Directora de Tesis y  
Decana del Colegio de  
Ciencias Biológicas y Ambientales

Quito, abril de 2012

© Derechos de autor  
Leonardo Daniel Ortega López  
2012

## Agradecimientos

Agradezco a Dios por darme fuerzas y sabiduría para superar las adversidades, para disfrutar la vida y para alcanzar mis metas.

Agradezco a mis profesores Dra. Stella de la Torre y Dr. Theofilos Toulkeridis, quienes me han apoyado siempre y han sido para mí una inspiración de profesionalismo, responsabilidad y humildad.

Agradezco al Dr. Jan-Robert Baars quien fue mi mentor en este proyecto de investigación en Irlanda y a University College Dublin y a la Science Foundation of Ireland por ser ambas instituciones las que financiaron este proyecto de investigación, a través de su programa UREKA (Undergraduate Research Experience Knowledge Award) dirigido a estudiantes de pregrado de todo el mundo.

Agradezco a mis profesores y amigos quienes han significado gran parte en mi desarrollo profesional, Dr. Hugo Valdebenito, Dr. Venancio Arahana, Dr. Iván Manzano, Dr. Norris Muth, Dr. Esteban Suárez, Dr. Renato León, Dra. Andrea Encalada, Dr. Bruce Hoeneisen, Dr. Tomás Sánchez, Dr. Richard Resl, Dra. Lauren Pinault, M.S. Diego Cisneros, Dra. Monserrat Checa, M.S. Patricio Duque y al Dr. Nathan Digby, por su paciencia, su tiempo, su amistad y todos sus conocimientos transmitidos.

Finalmente, agradezco al Dr. Mariano Montaña, investigador de la Escuela Politécnica del Litoral (Guayaquil, Ecuador), por sus sabios consejos, y por la información sobre sus estudios de *Azolla caroliniana* como biofertilizante.

## Dedicatoria

Dedico este trabajo a la Naturaleza, la misma que me ha brindado la oportunidad de conocerla y admirar toda su belleza, y me ha dado la suficiente fortaleza durante toda mi carrera para estudiarla y motivarme a protegerla.

Dedico a mis amigos en general, a mis ñaños, y a mis ñaños piratas, quienes además de brindarme su apoyo incondicional, han sido en muchas ocasiones los testigos más directos de mi trabajo durante todos los años de estudio y la realización de esta investigación.

Dedico también a mis padres, pues sin su amor hubiese sido imposible la realización de mis estudios, de esta investigación y la persecución de mis sueños; y a mis hermanos por el apoyo incondicional durante estos años de estudio, por sus consejos, su cariño y su presencia.

Dedico además a mis sobrinos Sofía, María José, Carlos, Pablo y Ricardo, quienes han sido siempre una alegría para mí y una motivación para luchar día a día para conseguir un mundo mejor para ellos.

Finalmente, quiero dedicar este trabajo a mi novia y mejor amiga, Anita Belén, quien ha sido mi compañía, mi motivación, mi fuerza en momentos difíciles y mis alegrías siempre.

## Resumen

El helecho acuático, *Azolla filiculoides*, es nativo de Sudamérica pero invasivo en Europa y África donde ha causado varios problemas a los ecosistemas acuáticos y a la utilización del agua en lugares invadidos. Se ha implementado control biológico contra este helecho usando un gorgojo específico para él, *Stenopelmus rufinasus*. Estudios ecológicos han determinado que los cambios en las concentraciones de nutrientes presentes en el agua o en el suelo pueden cambiar las relaciones ecológicas en un ecosistema. De esta manera, el presente estudio se dedica a determinar la relación entre el crecimiento del helecho *A. filiculoides*, la concentración de nutrientes presentes en el agua (N y P) y la presencia del gorgojo *S. rufinasus* sobre este helecho. Se establecieron cuatro grupos de tratamientos de agua con diferentes concentraciones de nutrientes (Muy Baja [N: 0,675 mg/l; P: 0,15 mg/l], Baja [N: 1,35 mg/l; P: 0,03 mg/l], Media [N: 3,15 mg/l; P: 0,07mg/l], y Alta [N: 6,3 mg/l; P: 0,14 mg/l]). En cada tratamiento de concentraciones de nutrientes de agua se ubicaron contenedores con una cantidad fija de *A. filiculoides* y con presencia de gorgojos con doce réplicas. Adicionalmente, se corrió un tipo de grupo control (contenedores sin presencia de gorgojos) con seis réplicas dentro de cada tratamiento de nutrientes. Los resultados muestran que *A. filiculoides* tuvo un menor crecimiento en la concentración Alta de nutrientes comparado con el crecimiento registrado en la concentración Muy Baja; sugiriendo así la intoxicación del helecho por exceso de nutrientes. Así mismo, *A. filiculoides* tuvo un mayor crecimiento en carencia de gorgojos que en presencia de ellos. Sin embargo, no se identificó una interacción estadística entre ambos tratamientos y por lo tanto no existió efecto aditivo entre presencia de gorgojos y concentraciones de N y P presentes.

## Abstract

The red water fern, *Azolla filiculoides*, is native to South America but is invasive in Europe and Africa, where it has caused many problems to aquatic ecosystems and water utilization. Biological control has been implemented against this weed by using its host-specific weevil *Stenopelmus rufinasus*. Ecological studies have determined that changes of soil or water nutrient concentrations could lead to changes on the ecological relationships that exist in an ecosystem. In this context, the present study aims to determine the relationship between the aquatic fern growth, the concentration of water nutrients (N and P), and the presence of the weevil *S. rufinasus* on this fern. Four treatment groups of water nutrient concentrations were set (Very Low [N: 0,675 mg/l; P: 0,15 mg/l], Low [N: 1,35 mg/l; P: 0,03 mg/l], Medium [N: 3,15 mg/l; P: 0,07], and High [N: 6,3 mg/l; P: 0,14 mg/l]). In each treatment of water nutrient concentrations, containers were placed with a fixed amount of *A. filiculoides* and with presence of weevils with twelve replicates. Additionally, one type of control group was run within each nutrient treatment (containers with *Azolla* free of weevils) with six replicates within every nutrient concentration treatment. Results show that *A. filiculoides* had a lower growth at the High nutrient concentration treatment compared to the Very Low nutrient concentration treatment, suggesting a fern intoxication by the excess of nutrients. Likewise, *A. filiculoides* had a higher growth in the absence of weevils than in their presence. However, there was no interaction between both treatments and consequently there was no evidence of an additive effect between the presence of weevils and the concentrations of N and P.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1.	ESPECIES INVASIVAS VEGETALES.....	1
1.2.	ESPECIES INVASIVAS VEGETALES ACUÁTICAS .....	3
1.2.1.	<i>Plantas invasivas acuáticas (PIA) y eutrofización</i> .....	5
1.3.	CONTROL BIOLÓGICO .....	6
1.4.	CONTROL DEL HELECHO ACUÁTICO <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> MEDIANTE EL USO DEL GORGOJO <i>STENOPELMUS RUFINASUS</i> .....	11
1.5.	ESTADO ACTUAL DE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> Y <i>STENOPELMUS RUFINASUS</i> EN LA REPÚBLICA DE IRLANDA Y GRAN BRETAÑA.....	14
1.6.	ESPECIES DE ESTUDIO .....	16
1.6.1.	<i>Azolla filiculoides</i> Lamarck.....	16
1.6.2.	<i>Stenopelmus rufinasus</i> Gyllenhal.....	17
1.7.	OBJETIVO GENERAL .....	18
1.7.1.	<i>Objetivos específicos</i> .....	18
1.7.2.	<i>Hipótesis</i> .....	18
<b>2.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>19</b>
2.1.	ÁREA Y PERÍODO DE ESTUDIO .....	19
2.2.	ANÁLISIS Y COLECCIÓN DE DATOS .....	20
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>24</b>
<b>4.</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>25</b>
<b>5.</b>	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>32</b>
<b>6.</b>	<b>TABLAS</b> .....	<b>44</b>
<b>7.</b>	<b>FIGURAS</b> .....	<b>46</b>



## LISTA DE TABLAS

TABLA 1. CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO Y FÓSFORO AÑADIDAS A CADA TRATAMIENTO DE CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES. ....	44
TABLA 2. PROMEDIOS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DEL PESO DE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> BAJO LOS TRATAMIENTOS DE DENSIDADES DE GORGOJOS. EL SÍMBOLO "X" REPRESENTA AL PROMEDIO DE CRECIMIENTO DENTRO DE CADA TRATAMIENTO MEDIDO EN GRAMOS Y "S" ES LA DESVIACIÓN ESTÁNDAR. ....	45
TABLA 3. PROMEDIOS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DEL PESO DE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> BAJO LOS CUATRO TRATAMIENTOS DE NUTRIENTES. EL SÍMBOLO "X" REPRESENTA AL PROMEDIO DE CRECIMIENTO DENTRO DE CADA TRATAMIENTO MEDIDO EN GRAMOS Y "S" ES LA DESVIACIÓN ESTÁNDAR.....	45
TABLA 4. PROMEDIOS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DEL PESO DE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> BAJO LOS TRATAMIENTOS DE AUSENCIA Y PRESENCIA DE GORGOJOS. EL SÍMBOLO "X" REPRESENTA AL PROMEDIO DE CRECIMIENTO DENTRO DE CADA TRATAMIENTO MEDIDO EN GRAMOS Y "S" ES LA DESVIACIÓN ESTÁNDAR.....	46

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. ARMADO DEL EXPERIMENTO DONDE SE MUESTRAN LOS CUATRO TRATAMIENTOS DE CONCENTRACIONES DE NUTRIENTES DEL AGUA. INVERNADERO LOCALIZADO EN ROSEMOUNT HORTICULTURAL STATION.....	46
FIGURA 2. TRATAMIENTO DE CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES CON LOS SEIS RECIPIENTES DEL GRUPO CORRESPONDIENTES. ADEMÁS, SE MUESTRAN LOS RECIPIENTES BLANCOS PEQUEÑOS FLOTANTES DONDE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> CRECÍA CON LAS DIFERENTES DENSIDADES DE GORGOJOS.....	47
FIGURA 3. RECIPIENTES FLOTANTES DONDE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> CRECÍA JUNTO A SU RESPECTIVA DENSIDAD DE PAREJAS DE GORGOJOS. ÉSTOS RECIPIENTES FUERON COLOCADOS EN CADA UNA DE LOS TRATAMIENTOS DE CONCENTRACIONES DE NUTRIENTES. ....	47
FIGURA 4. PESO TOTAL PROMEDIO DE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> BAJO LOS CUATRO TRATAMIENTOS DE CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES. LAS LÍNEAS DE COLORES MUESTRAN LAS DISTINTAS CONCENTRACIONES DE NUTRIENTES DEL AGUA. ....	48
FIGURA 5. PESO TOTAL PROMEDIO DE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> BAJO LOS TRATAMIENTOS DE AUSENCIA Y PRESENCIA DE GORGOJOS. ....	48
FIGURA 6. AL LADO IZQUIERDO DE LA FIGURA SE ENCUENTRAN MUESTRAS DE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> DESTRUIDA POR ACCIÓN DEL GORGOJO <i>STENOPELMUS RUFINASUS</i> , PRESENTANDO DESPIGMENTACIÓN Y TEXTURA RUGOSA. AL LADO DERECHO DE LA FIGURA SE ENCUENTRAN MUESTRAS DE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> INTACTA Y SIN GORGOJO.....	49

FIGURA 7. PESO TOTAL DE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> BAJO EL TRATAMIENTO DE MUY BAJA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES. LAS LÍNEAS DE COLORES MUESTRAN LAS DISTINTAS DENSIDADES DE GORGOJOS PRESENTES.....	49
FIGURA 8. PESO TOTAL DE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> BAJO EL TRATAMIENTO DE ALTA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES. LAS LÍNEAS DE COLORES MUESTRAN LAS DISTINTAS DENSIDADES DE GORGOJOS PRESENTES.....	50
FIGURA 9. PESO TOTAL PROMEDIO DE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> BAJO LOS TRATAMIENTOS DE CONCENTRACIONES ALTA Y MUY BAJA DE NUTRIENTES. LAS LÍNEAS DE COLORES REPRESENTAN LA AUSENCIA Y PRESENCIA DE GORGOJOS. ....	50
FIGURA 10. SITIOS DE LOCALIZACIÓN DE <i>AZOLLA FILICULOIDES</i> EN EL ECUADOR, RESALTANDO LAS PROVINCIAS DE COTOPAXI, IMBABURA, Y NAPO (MØLLER-JØRGENSEN Y LEÓN-YÁNEZ 1999). ....	51
FIGURA 11. UBICACIÓN DE LOS CUERPOS DE AGUA DENTRO DE CADA PROVINCIA DEL ECUADOR (COTOPAXI, IMBABURA, Y NAPO) DONDE SE ENCUENTRA <i>A. FILICULOIDES</i> (MØLLER-JØRGENSEN Y LEÓN-YÁNEZ 1999).....	52

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Especies invasivas vegetales

El concepto de “especies invasivas” se refiere a las especies que se han expandido más lejos del lugar de establecimiento inicial, convirtiéndose así en abundantes a nivel local (Mack et al. 2000, Richardson et al. 2000, Campbell et al. 2002, Burns 2006). Las especies exóticas son frecuentemente referidas como especies invasivas. Sin embargo, el término exótico es sinónimo de “no-nativo”, y se refiere a especies que viven fuera de su área de distribución nativa debido a la influencia humana (Mack et al. 2000). La principal característica de las especies invasivas es que además de colonizar un nuevo territorio, ellas persisten ahí hasta el detrimento del sitio (Mack et al. 2000).

Para las especies invasivas vegetales, en general, entre las características que las hacen “mejores invasoras” están la rápida germinación y crecimiento inicial (Williamson 1999, Barrat-Segretain y Elger 2004). El término “hierba mala” (en inglés “weed”) es ampliamente usado como sinónimo de “especies vegetales invasivas” y se usa frecuentemente para referirse a plantas que crecen “fuera del lugar” (Hamill et al. 2004). Hinz y Schwarzlaender (2004) apuntan que “invasores que vienen de poblaciones más grandes, crecen mejor, tienen mejores resultados reproductivos, bancos de semillas más grandes, y una tasa más alta de regeneración en el nuevo territorio comparado con el territorio nativo”. Un mejor entendimiento de las características que hacen a algunas especies

“mejores invasoras”, permitiría a la ciencia predecir con mayor precisión el potencial de invasión de algunas especies que aún no han sido introducidas (Pheloung et al. 1999, Daehler y Carino 2000).

Cuando una especie no nativa llega a un lugar nuevo, ésta puede encontrar algunas características bióticas que pueden ser ventajosas o desventajosas para las invasiones (Alpert et al. 2000, Hinz y Schwarzlaender 2004). Dichas características incluyen la presencia de enemigos naturales, competencia por espacio con otras especies, condiciones climáticas favorables, o áreas alteradas por actividades antropogénicas, entre otras (Callaway y Aschehoug 2000, Shea y Chesson 2002, Bais et al. 2003, Daehler 2003, Arévalo et al. 2005). La similitud de condiciones climáticas entre el área nativa y el área invadida puede ser crucial para predecir el potencial territorio que podría ser invadido en dicha nueva área (Arévalo et al. 2005).

Las invasiones biológicas traen consecuencias ecológicas, económicas y sociales (Vitousek 1990, Randall 1996, Williamson 1999, Masters y Sheley 2001, Sakai et al. 2001, Hoddle 2004, Lodge et al. 2006) tales como amenaza o extinciones a especies nativas (Lonsdale 1999, Josefsson y Andersson 2001, Hoddle 2004), y pérdidas económicas y de recursos (Pimentel et al. 2000, Masters y Sheley 2001, Hoddle 2004). Dichas invasiones son reconocidas como importantes estresores de muchas comunidades alrededor del mundo (Ruiz et al. 1999). Además, estas invasiones son consideradas entre las mayores amenazas a la biodiversidad biológica de ecosistemas dulceacuícolas (Chapin et

al. 2000) donde se ha registrado una reducción de riqueza y abundancia de macrófitas acuáticas nativas causadas por especies vegetales invasivas (Aiken et al. 1979, Carpenter 1980, Room 1990, Sheldon y Creed 1995).

Las especies invasivas vegetales desplazan a especies nativas y reducen sus poblaciones y, por lo tanto, alteran la disponibilidad de plantas hospederas para organismos que viven o se alimentan de ellas (Kupferberg 1997, Mack et al. 2000, Solarz y Newman 2001, Hoddle 2004). Además, este hecho puede causar una alteración sustancial al ecosistema (Randall 1996, Lonsdale 1999). Entre los cambios del ecosistema que pueden ocurrir luego de que una o más especies invasivas han llegado, se puede mencionar la alteración del ciclo de incendios, del ciclo de nutrientes, de la hidrología, y del flujo de energía. De esta manera puede disminuir la abundancia y la supervivencia de especies nativas (Mack et al. 2000, Nagel y Griffin 2001).

## **1.2. Especies invasivas vegetales acuáticas**

Las macrófitas son plantas acuáticas que viven dentro o cerca de un cuerpo de agua y pueden ser tanto emergentes, sumergidas o flotantes (EPA 2009). Estas plantas son importantes para los ecosistemas ya que son productoras primarias, ofrecen refugio, y además pueden servir como alimento para algunos invertebrados acuáticos (Suren y Lake 1989, Kelly y Hawes 2005).

Las características más importantes para el éxito de las plantas invasivas son dependientes de su reproducción, dispersión, fenología, fisiología,

requerimientos de hábitat, grado de tolerancia al estrés ambiental e interacciones interespecíficas (Bryson y Carter 2004, Gordon 1998). Además, se pueden considerar como otras características favorables para el éxito de estas plantas la habilidad para ocupar un “nicho vacante” y la falta de enemigos naturales como predadores y/o patógenos (Gordon 1998). La falta de enemigos naturales es una de las razones para el éxito de una invasión causada por plantas ya que casi todas llegan sin sus predadores, parásitos y patógenos que coexisten en el área nativa (DeWalt et al. 2004, Messing y Wright 2006).

Las plantas invasivas, en general, causan inmensos costos económicos para la agricultura y los recursos naturales en términos de pérdida de cultivos, pérdida de utilidad de las tierras, problemas relacionados con salud, y los costos de control (Hamill et al. 2004). Las plantas invasivas acuáticas (PIA) tienen impactos negativos sustanciales sobre la cantidad y calidad de actividades recreacionales como la pesca, entre otras (Eiswerth 2005), además de navegación comercial, control de inundaciones, generación energética para represas hidroeléctricas, etc. (Sheldon y Creed 1995).

Las plantas invasivas acuáticas (PIA) son consideradas una de las principales amenazas a los ecosistemas ya que además amenazan a las especies no tan abundantes y a las especies en peligro de extinción (D'Antonio y Vitousek 1992, Gordon 1998, Wilcove et al. 1998, Mack et al. 2000, Blossey 2003). Se sabe que los helechos acuáticos como de los géneros *Azolla* y *Salvinia*, transforman los ecosistemas que invaden (Rivera et al. 2000, Adams et al. 2002, Amatangelo y

Vitousek 2009). Algunas veces, las PIA interfieren con el drenaje del agua y proveen hábitat para vectores de enfermedades humanas y animales (Kay y Hoyle 2001).

### **1.2.1. Plantas invasivas acuáticas (PIA) y eutrofización**

La eutrofización antropogénica ha incrementado la producción primaria de cuerpos de agua y ha cambiado la función relativa de los nutrientes que limitan el crecimiento de las plantas (Beltman et al. 2000, Fourqurean y Zieman 2002, Güsewell 2004).

Algunas plantas acuáticas son consideradas “malezas” debido a su capacidad para crecer en cuerpos de agua eutróficos, ser una potencial amenaza para otros organismos acuáticos y alterar actividades recreacionales (Eiswerth 2005). Los sistemas lénticos (cuerpos de agua sin movimiento), como los humedales, son susceptibles a ciertos estresores (ej. contaminación acuática) debido a que hay un mayor potencial de acumulación de toxinas y dependencia de la calidad y cantidad del agua que entra a través de riachuelos (Giller 2005, Ehrenfeld 2008), resultando así en la colonización de especies invasivas y no nativas (Ehrenfeld 2008). En Florida, se estima que las instituciones privadas y gubernamentales gastan alrededor de 20 millones de dólares al año para el control de PIA (Reddy y DeBusk 1984).

Algunas especies vegetales invasivas como *Eichhornia crassipes*, son usadas para tratar cuerpos de agua contaminada debido a su habilidad para absorber metales pesados y crecer rápidamente (Muramoto y Oki 1983, Zhu et al. 1999).

Por esta razón, cuando existen cuerpos de agua con este tipo de contaminación, *E. crassipes* se puede volver invasiva cuando su introducción no ha sido intencional (Coetzee et al. 2009). Además, las PIA pueden también promover eutrofización a través de su influencia sobre las condiciones físicas y químicas tales como la estructura térmica y el oxígeno disuelto (Carpenter y Lodge 1986, Sheldon y Creed 1995).

### **1.3. Control Biológico**

Existen varios métodos (químicos, físicos, y biológicos) que han sido desarrollados para controlar especies vegetales invasivas y mantener su daño por debajo del límite económico y ecológico (Masters y Sheley 2001). A pesar de sus efectos ambientales adversos, los herbicidas son los representantes del control químico (Masters y Sheley 2001). El retiro manual, el corte y el incendio constan entre los más comunes de los métodos de control físico (Hobbs y Humphries 1995, Masters y Sheley 2001).

El control biológico consiste en el uso de enemigos naturales para controlar poblaciones de especies no deseadas (Hobbs y Humphries 1995, Shea y Kelly 1998, Mack et al. 2000, Hoddle 2004). Los enemigos de las especies invasivas que son usados en programas de control biológico pueden ser predadores, patógenos o poblaciones competidoras de las especies invasivas objetivo (Hoddle 2004). Los programas de control biológico apuntan a controlar especies objetivo con la introducción de poblaciones exóticas de un nivel trófico más alto (Mack et al. 2000, Hoddle 2004) o enemigos naturales en general que viven en



el área de distribución natural de la especie peste objetivo (Mack et al. 2000, Blossey 2003).

Pueden haber algunas combinaciones de métodos para controlar especies invasivas. El uso combinado del control químico y biológico es un ejemplo usado contra la patata *Solanum tuberosum* usando el escarabajo de la patata *Leptinotarsa decemlineata* además de herbicida en los cultivos del noroeste de los Estados Unidos (Williams et al. 2004). El uso de control mecánico (físico), químico y biológico juntos, es también aplicado contra *Mimosa pigra*, usando la polilla *Neurostrota gunniella*, además de herbicidas y tratamientos de control mecánico con fuego en Australia (Paynter y Flanagan 2004).

El control biológico ha sido exitoso en gran medida, pues ha resuelto o disminuido la severidad del daño causado por plantas invasivas (Room et al. 1981, Dennill y Donnelly 1991, Pemberton 1996). Alrededor del mundo, los programas de control biológico han resultado en más de 5000 introducciones para el control de artrópodos y más de 900 para el control de plantas invasivas (Hoddle 2004). El éxito del control biológico depende principalmente de cuánto el agente introducido para el control biológico puede reducir la aptitud o eficacia biológica ("fitness" en inglés) y la tasa de crecimiento poblacional de la especie peste objetivo (Schutzenhofer y Knight 2007). En varios casos, el control biológico ha sido la mejor solución para afrontar problemas económicos y sociales causados por especies invasivas. Algunos ejemplos incluyen al gorgojo *Cyrtobagous salviniae*, el cual ha controlado a la especie acuática vegetal

*Salvinia molesta* en Australia, Asia y Africa (Messing y Wright 2006); la especie vegetal invasiva *Alternanthera phytoloxeroides* (South American alligator) controlada en Florida y Georgia en EU por un coleóptero alticino (Mack et al. 2000); los helechos acuáticos *Salvinia molesta* y *Salvinia minima* controlados naturalmente en los Estados Unidos por el gorgojo *Cyrtobagous salviniae* (Jacono et al. 2001); y el helecho acuático *Azolla caroliniana* controlado por el gorgojo *Pseudolampis guttata* en Florida, EU (Buckingham y Buckingham 1981).

Por otro lado, ha habido algunos problemas con el control biológico ya que no hay garantía de éxito (McFadyen 1998). Una de las razones es que los estudios amplios de especies invasivas frecuentemente fallan en tomar en cuenta la variación en la expresión de ciertas características de las especies entre ambientes diferentes (Mack et al. 2000, Louda et al. 2003, Burns 2006). Esto sucede debido a que la expresión de características genéticas de algunas especies es ambientalmente dependiente (Daehler 2003, Burns 2006), es decir que la expresión de ciertas características depende del ambiente al que esté sometido el organismo. Por lo tanto, la evolución del organismo luego de la colonización al nuevo ambiente se vuelve posible (Messing y Wright 2003). Además, existe un riesgo colateral de ataque hacia especies nativas cercanamente relacionadas a la especie peste objetivo (Strong y Pemberton 2000). Existe también la posibilidad de que el agente de control biológico no sea lo suficientemente específico con el hospedero (Hoddle 2004).

Ha habido algunas limitaciones para la aplicación del control biológico contra especies vegetales invasivas que crecen en cuerpos eutróficos de agua. Este es el caso de control biológico aplicado contra el jacinto acuático, *Eichhornia crassipes*, donde el éxito de este tipo de control depende de la calidad de la planta, la cual es a su vez afectada por los nutrientes del agua donde crece (Coetzee et al. 2009). Como describe Blossey (2003), cualquier introducción de biocontrol requiere una amplia investigación previa para reducir la probabilidad de ataque a especies no objetivo. No existen muchos ejemplos sobre impactos a especies no objetivos (Pemberton 2000), donde el agente de control biológico no ha sido lo suficientemente específico con la especie objetivo. Sin embargo, este hecho no es evidencia de que el control biológico sea seguro ya que no siempre existe suficiente monitoreo de especies no objetivo luego de que la introducción del agente de control biológico ha sido implementada (Simberloff y Stiling 1996, Mack et al. 2000, Pemberton 2000). Entre los ejemplos de ataque a especies no objetivo se encuentran la introducción del gorgojo euroasiático *Rhinocyllus conicus* a Norte América para controlar al cardo invasivo *Carduus nutans*. Sin embargo, este gorgojo empezó a atacar a especies nativas de cardos (Mack et al. 2000), algunas de las cuales son endémicas y citadas como especies en peligro de extinción (Louda et al. 1997).

Entre las preocupaciones sobre el uso del control biológico está el incluir no sólo los efectos tróficos directos del agente de control biológico en especies no objetivo sino también competencia, desplazamiento, y otros tipos de interacciones ecológicas (Messing y Wright 2006). Las consecuencias de tener

cierto tipo de daño sobre especies no objetivo pueden ser dramáticas debido a que tienen el riesgo de ser llevadas inclusive a la extinción (Simberloff y Stiling 1996, Mack et al. 2000). Sin embargo, nosotros debemos siempre pensar en que si no se hace nada para controlar las especies invasivas, pueden haber peores consecuencias (McFayden 1998).

El control biológico empieza con la selección de agentes biológicos potenciales con muestreos de campo en el lugar de origen de la especie peste objetivo (Cuda et al. 2002, Wardill et al. 2005, Cuda et al. 2007). La selección del agente más efectivo está basada principalmente en especificidad con el hospedero, habilidad para dañar a la especie objetivo, fenología, fecundidad y facilidad de crianza, entre otros (Blossey 1995, Wardill et al. 2005, Zhang et al. 2008).

La prevención de invasiones es mucho menos costosa que el control post-entrada (Mack et al. 2000). Por esta razón, algunos autores han resaltado la importancia de análisis moleculares para evitar efectos colaterales antes del inicio del programa de control biológico (Messing y Wright 2003, Wardill et al. 2005). Sin embargo, debido al costo de dichos análisis, los practicantes del control biológico usan frecuentemente sólo identificación morfológica a pesar de los riesgos que esto lleva consigo (Wardill et al. 2005).

#### **1.4. Control del helecho acuático *Azolla filiculoides* mediante el uso del gorgojo *Stenopelmus rufinasus***

Uno de los casos más excepcionales de éxito de control biológico ha sido la erradicación de *Azolla filiculoides* en Sudáfrica (McConnachie et al. 2003, McConnachie et al. 2004, Moran et al. 2005). La liberación del gorgojo *Stenopelmus rufinasus* fue llevada a cabo en 1997, luego de tres años de pruebas de seguridad sobre la aplicabilidad del agente de biocontrol sobre la planta hospedera (Moran et al. 2005). El helecho acuático, *Azolla filiculoides*, es un helecho flotante acuático pequeño (1 – 2,5 cm) que es nativo del continente americano (Sudamérica, América Central, y Norte América) y es invasivo en Sudáfrica (Jacot Guillarmod 1979, Lumpkin y Plucknett 1980, McConnachie et al. 2004). La planta fue registrada por primera vez en Sudáfrica en 1948 (Oosthuizen y Walters 1961). Se cree que esta planta fue introducida como planta ornamental para peceras en 1947 (McConnachie et al. 2003). Hasta inicios de los años 80's, la planta sólo vivía en pequeños esteros y charcos en el área de Colesburg, en el centro del país (Hill 1998, Hill y Oberholzer 2002, McConnachie et al. 2003, McConnachie et al. 2004). Sin embargo, una combinación de agua enriquecida con fosfato, carencia de enemigos, y dispersión entre cuerpos de agua por humanos y flujo de agua, facilitaron un incremento en su distribución, establecimiento y subsecuente abundancia (Hill 1998a, Hill y Oberholzer 2002, McConnachie et al. 2003).

La presencia de *Azolla filiculoides* afectó negativamente a la biodiversidad de ecosistemas acuáticos y tuvo otras implicaciones para la utilización del agua (Gratwicke y Marshall 2001, McConnachie et al. 2003). Las consecuencias fueron mayores cuando esta planta alcanzaba grosores de entre 5 y 30cm (Hill y Cilliers 1999). Entre los problemas que esta planta invasiva estaba causando a los ecosistemas naturales acuáticos y a la utilización del agua se pueden citar el incremento en la sedimentación de limo en represas y ríos, reducción de la calidad de agua para consumo (mal olor, color y turbiedad), un incremento de enfermedades relacionadas con el agua, reducción de la superficie de agua para recreación y transporte, reducción de la calidad del agua para uso agrícola, taponamiento de bombas y canales de irrigación, y ahogamiento de ganado que era incapaz de diferenciar tierra firme de agua cubierta por el helecho (Hill y Cilliers 1999, McConnachie et al. 2003). El cambio del paisaje por actividades humanas tales como la introducción de *A. filiculoides* podría inclusive resultar en un incremento en el número de otras plantas acuáticas (Knapp et al. 2010).

La aplicación del control manual (control mecánico) no podía ser llevada a cabo contra *A. filiculoides* debido a su altísima tasa de crecimiento (15% diario bajo condiciones ideales), y resultaba impráctica para infestaciones grandes. Además, si se logra la erradicación mediante este método, sería inevitable el restablecimiento de este helecho a partir de esporas liberadas antes de la supuesta erradicación (Hill y Cilliers 1999). La aplicación del control químico, usando herbicidas como el glifosato, paraquat, diquat y kerosene mezclado con surfactante, había sido también implementada. Sin embargo, su aplicación no

era deseable, pues a pesar de que podía resultar en un control efectivo y rápido, se necesitaba un seguimiento continuo a las plantas que germinan de esporas además del riesgo de contaminación con herbicida a plantas no-objetivo y contaminación del agua (Hill y Cilliers 1999). De esta manera, el control biológico fue visto como la única alternativa para el control de este helecho (Hill y Cilliers 1999). En diciembre de 1997, el gorgojo *Stenopelmus rufinasus*, visto como agente de control biológico, fue liberado en Sudáfrica para controlar a *Azolla filiculoides* luego de varios análisis de especificidad con el hospedero (Hill 1998b, Hill y Cilliers 1999). Hacia el final del segundo año de su liberación, el gorgojo causó una disminución significativa del helecho (Hill y Cilliers 1999). Finalmente, luego de tres años de la liberación de *S. rufinasus*, el helecho dejó de ser considerado una amenaza para los ecosistemas acuáticos de Sudáfrica (McConnachie et al. 2003).

Las especies del género *Azolla* que viven en el sur de Africa son *A. pinnata*, *A. nilótica*, y *A. filiculoides*, siendo las dos primeras especies nativas y la tercera introducida (Ashton y Walmsley 1984). De acuerdo a Pemberton y Bodle (2009), el gorgojo *Stenopelmus rufinasus* también se alimenta de *A. pinnata*, pero en un grado menor que de *A. filiculoides*, resultando en una inhabilidad para soportar poblaciones silvestres del gorgojo en ausencia de *A. filiculoides* (Hill 1998b). De esta manera, la única planta hospedera capaz de soportar viablemente poblaciones del gorgojo *S. rufinasus* sería el helecho invasivo *A. filiculoides*.

Los beneficios obtenidos del control biológico de *S. rufinasus* contra *A. filiculoides* pueden ser mostrados en términos de análisis económico de costo-beneficio. En este sentido, Mc Connachie et al. (2003) determinaron un beneficio de US\$1093 por hectárea y US\$206 millones para Sudáfrica entera calculando el Valor Presente Neto desde 1995 en adelante con una tasa de descuento del 8% y ajustando a valores constantes del año 2000. La invasión de los cuerpos de agua en África por plantas acuáticas introducidas, representa una de las principales amenazas para el desarrollo socioeconómico de esta región (Jones 2009).

### **1.5. Estado actual de *Azolla filiculoides* y *Stenopelmus rufinasus* en la República de Irlanda y Gran Bretaña**

Las islas oceánicas son los lugares más amenazados por especies exóticas debido a que estos lugares constituyen rutas de mercado y usualmente albergan a un rango más limitado de especies que los ecosistemas continentales (Tibbetts 1997, Reaser et al. 2007, Kueffer et al. 2010). De las especies no nativas establecidas en el Reino Unido, sólo el 8.5% de vertebrados, el 6.5% de insectos y el 13.6% de plantas son consideradas plagas, lo cual indica que la mayor parte de las especies no nativas establecidas no tienen un efecto significativo en la biodiversidad de este lugar (Manchester y Bullock 2000).

El helecho acuático invasivo, *Azolla filiculoides*, fue introducido en Europa en 1880 (Marsh 1914) seguido por una rápida colonización en Europa Occidental



(West 1953). La planta llegó al sureste de Gran Bretaña al final del Siglo XIX como planta ornamental (Janes 1998). Desde entonces, ha colonizado sistemas lénticos y riachuelos de poco movimiento en Gran Bretaña, causando varios problemas a los ecosistemas acuáticos y al potencial uso humano de dichos cuerpos de agua (Janes 1998). La supervivencia a largo plazo y mayor colonización de *A. filiculoides* en Gran Bretaña está limitada debido a la muerte causada por el invierno (Janes 1998).

El primer registro de *Azolla filiculoides* en la República de Irlanda fue hecho por Brunner (1949) en el Condado de Wicklow, donde observó aproximadamente 25 metros cuadrados de agua cubierta por *A. filiculoides*. Sin embargo, un mes después, Brunner visitó nuevamente el lugar y encontró que *A. filiculoides* estaba cubriendo alrededor de 85 metros cuadrados (Brunner 1949). Estos registros fueron confirmados años más tarde por Carvill y Curtis (1973).

Se sabe que el agente de control biológico, el gorgojo *Stenopelmus rufinasus*, vive naturalmente en el Reino Unido desde 1921, aunque no ha sido intencionalmente liberado (Baars y Caffery 2008). En Irlanda, se lo reportó por primera vez en el condado de Fermanagh en el año 2007 (Nelson 2007) y subsecuentemente fue reportado en el condado de Cork asociado con infestaciones de *Azolla filiculoides* (Baars y Caffery 2008). Luego de este último registro, las poblaciones del gorgojo han sido monitoreadas mensualmente para entender las interacciones entre ambas especies (Baars y Caffery 2008, Baars et al. 2009).

## 1.6. Especies de Estudio

### 1.6.1. *Azolla filiculoides* Lamarck

*Azolla filiculoides* Lam. es un helecho pequeño (1-2.5 cm), acuático, flotante, heterosporo, que es nativo de Sudamérica (Jacot Guillarmod 1979, Lumpkin y Plucknett 1980, McConnachie et al. 2004) y que pertenece a la familia Salviniaceae (Smith et al. 2006). Los miembros del género *Azolla* tienen una asociación simbiótica con la cianobacteria *Anabaena azollae*, la cual permite a la planta fijar nitrógeno de la atmósfera (Lumpkin y Plucknett 1980, Metzgar et al. 2007). Entre todos los organismos fijadores de nitrógeno, los sistemas simbióticos tienen la más alta tasa de fijación por unidad de área, y la tasa de *Azolla-Anabaena* es aún mayor que la de las leguminosas (Wagner 1997).

*Azolla* ha sido dividido en dos secciones que se basan en la estructura reproductiva: *Azolla* y *Rhizosperma*, las cuales aparentemente se separaron hace 50.7 Ma (Metzgar et al. 2007). Los miembros de la sección *Azolla* tienen tres flotadores en el aparato de la megaspora y los miembros de la sección *Rhizosperma* tienen nueve flotadores (Metzgar et al. 2007). Es así que *Azolla filiculoides* pertenece a la sección *Azolla*, al igual que *A. rubra*, *A. caroliniana*, *A. mycrophylla*, y *A. mexicana*. Mientras que *A. nilotica* y *A. pinnata* pertenecen a la sección *Rhizosperma* (Metzgar et al. 2007).

Cada planta de *Azolla filiculoides* consiste en un rizoma flotante ramificado con hojas alternas y sobrepuestas, y raíces que caen hacia dentro del agua (Hilll y Cilliers 1999). La planta cambia a un color rojizo cuando experimenta

temperaturas frías y luz solar directa (Janes 1998, Hill y Cilliers 1999, Metzgar et al. 2007). Este cambio de color es causado por pigmentos de antocianina dentro del tejido fotosintético (Janes 1998, Metzgar et al. 2007). Esta planta puede reproducirse asexualmente por producción de esporas durante el verano y la primavera, las cuales le permiten a la planta superar el invierno y la extrema sequía (Hill y Cilliers 1999).

### **1.6.2. *Stenopelmus rufinasus* Gyllenhal**

*Stenopelmus rufinasus* es un gorgojo pequeño, perteneciente a la familia Curculionidae; mide alrededor de 1,7 mm de largo con un color gris-negro cubierto con escamas tanto rojas, negras y blancas (Hill y Cilliers 1999). Los adultos pueden vivir alrededor de dos meses y las hembras pueden producir entre 128 y 474 crías durante toda su vida (Hill y Cilliers 1999). *S. rufinasus* basa su dieta en especies del género *Azolla*.

La hembra adulta inserta un huevo en la punta de una hoja de una planta de *Azolla*. Este huevo eclosiona luego de alrededor de cuatro días de la ovoposición. El tiempo que toma desde el huevo hasta el comienzo de la etapa adulta es alrededor de veinte días (Hill 1998b, Hill y Cilliers 1999). Existe dimorfismo sexual en *S. rufinasus* en el cual el primer esternito abdominal es plano o ligeramente cóncavo en la mitad en los machos, pero es extremadamente cóncavo en las hembras (Hill 1998b).

La efectividad del control usando a *S. rufinasus* como agente controlador contra *A. filiculoides* podría ser inclusive mejorada una vez que se entienda de mejor

manera cómo estos dos organismos interactúan en un contexto más amplio, es decir, tomando en cuenta las condiciones bióticas y abióticas del entorno.

## **1.7. Objetivo General**

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de los nutrientes Nitrógeno y Fósforo presentes en el agua sobre la relación entre el gorgojo *Stenopelmus rufinus* y el helecho acuático *Azolla filiculoides*.

### **1.7.1. Objetivos específicos**

- Entender, en un sentido más preciso, la relación existente entre el crecimiento del helecho *Azolla filiculoides* y la concentración de nutrientes presentes (Nitrógeno y Fósforo).
- Determinar cómo la presencia y depredación del gorgojo *Stenopelmus rufinus* afecta al crecimiento del helecho *Azolla filiculoides*.
- Precisar cómo el crecimiento de *Azolla filiculoides* es afectado tomando en cuenta tanto la presencia del gorgojo *S. rufinus*, como los nutrientes presentes (Nitrógeno y Fósforo).

### **1.7.2. Hipótesis**

Se esperaba que las plantas que crecen en agua con concentración Baja y Muy Baja de nutrientes tengan un crecimiento menor que aquellas que crecen en agua con una concentración Media y Alta de nutrientes. También se esperaba que las plantas sometidas a una densidad mayor de parejas de gorgojos tengan

un menor crecimiento que aquellas que crecen con un número más bajo de parejas de gorgojos, debido al efecto de depredación sobre las plantas. Por lo tanto, se esperaba que aquellas plantas que crecían bajo concentración Alta de nutrientes como bajo densidades menores de gorgojos tengan mayor crecimiento respecto a aquellas plantas sometidas tanto a concentraciones bajas de nutrientes y densidades mayores de gorgojos.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

Para evaluar la influencia de los nutrientes del agua sobre la relación existente entre los gorgojos *Stenopelmus rufinasus* y el helecho acuático *Azolla filiculoides*, se llevaron a cabo medidas del peso de las muestras del helecho.

### **2.1. Área y Período de Estudio**

El estudio se llevó a cabo en un invernadero en Rosemount Horticultural Station, ubicado en las coordenadas geográficas 53.305172 N; -6.232799 O, University College Dublin, Dublín, República de Irlanda, con una altitud de 32 msnm. El período de estudio fue desde junio 15 hasta agosto 15 de 2010. Los experimentos se realizaron en un invernadero para homogenizar las condiciones de luz y temperatura a las que estarían sometidos los distintos tratamientos. La temperatura fue registrada automáticamente cada media hora durante todo el período de estudio con un termómetro electrónico de marca Tintag Extra, modelo TGX – 3080, obteniendo así una  $\bar{x} = 20,41^{\circ}\text{C}$ ,  $S = 2,95$ . Por su parte, aunque no se tomaron medidas cuantitativas de luz, existieron dos tipos de tratamientos

control para el tratamiento de depredación sobre los helechos para descartar un posible efecto de la luz sobre el crecimiento del helecho.

## **2.2. Análisis y Colección de Datos**

El experimento, primeramente, consistió en criar los gorgojos hasta su etapa adulta, y luego usarlos en el experimento. Para obtener los gorgojos, se colectaron algunas plantas de *Azolla filiculoides* infestadas de este coleóptero, el 12 de junio de 2010 en una pequeña acequia junto al río Barrow, cerca de Bagnelstown, en el condado de Carlow ubicado en las coordenadas geográficas 52.712009° N; 6.956722° O.

Las plantas de *Azolla filiculoides* colectadas en el campo fueron separadas de *Lemna minor* (otra especie de planta acuática nativa) y colocadas en varios recipientes para criar a los gorgojos para los experimentos posteriores. Estos recipientes fueron chequeados diariamente, varias veces al día, para colectar a los adultos recién emergidos. Cada cierto número de días (alrededor de 5 a 6 días), nuevas plantas de *Azolla* eran colocadas dentro de dichos recipientes como suplemento alimenticio para las larvas y para los gorgojos adultos. Finalmente, cuando un suficiente número de gorgojos había alcanzado su adultez, estos fueron separados en parejas (macho y hembra) y colocados en el armado del experimento junto a su muestra correspondiente de *Azolla filiculoides*.

Los ensayos experimentales consistían en cuatro diferentes grupos de recipientes grandes (Largo, 70cm; Ancho, 45cm; Altura, 45cm) los cuales fueron armados bajo un invernadero localizado en Rosemount Horticultural Station. Cada uno de los grupos tenía una de las distintas concentraciones de nutrientes del agua (Muy Baja [MB], Baja [B], Media [M], y Alta [A]). Cada grupo estaba además formado por seis de dichos recipientes interconectados entre sí para albergar el mismo tipo de agua con la misma concentración de nutrientes. Dicha interconexión se llevó a cabo usando tubos PVC. Para cada grupo, un aparato de bombeo de agua fue colocado en el último recipiente para bombear el agua de regreso al primer recipiente, y de esta manera lograr que el agua circule a través del sistema dentro de cada tratamiento (Fig. 1 y 2).

Alrededor de 652 litros de agua fueron suministrados para cada grupo de recipientes. Adicionalmente, se añadió Kemira® Hydroponic Solution y una solución stock de Nitrato de Calcio a cada tratamiento para alcanzar las concentraciones deseables de Nitrógeno y Fósforo (Tabla 1). Calculé los valores de concentraciones de Nitrógeno y Fósforo basado en el informe “Water Quality in Ireland 2004 – 2006”, elaborado por la Agencia de Protección Ambiental de Irlanda (Environmental Protection Agency of Ireland, 2008). En este informe presentado por EPA de Irlanda, se considera a 0,03 mg/L de Fósforo como el límite máximo de concentración para agua libre de contaminación. Así mismo, para el Nitrógeno, se establece que el límite máximo de concentración para agua libre de contaminación es de 1,35 mg/L. Por esta razón, las concentraciones Bajas para ambos nutrientes cumplieron con estos valores, mientras que las

concentraciones Muy Bajas se establecieron en la mitad de dichos valores para N y P. En el caso de las concentraciones Medias y Altas de N y P, éstas se establecieron como el doble del valor de las concentraciones Baja y Media para ambos nutrientes, respectivamente (Tabla 1).

En cada tratamiento de concentración de nutrientes del agua, se colocaron recipientes flotantes con plantas de *Azolla filiculoides* con distintas densidades de gorgojos (Fig. 3). Estos recipientes flotantes carecían de base y tenían un diámetro de 21cm. La altura total de estos recipientes fue de aproximadamente 15cm, el nivel del agua alcanzaba los 12 cm desde la base.

Respecto al tratamiento de densidades de gorgojos, cinco tratamientos se corrieron por cada tratamiento con las concentraciones de nutrientes. Estos tratamientos de densidades diferentes consistieron en dos, cuatro y seis parejas de gorgojos, teniendo cada una cuatro réplicas para cada tratamiento de nutrientes. Adicionalmente, se establecieron dos tipos de control sin gorgojos para cada tratamiento, con tres réplicas de cada uno. Un control con tapa con malla (al igual que los recipientes que contenían gorgojos) y otro control sin malla. Esto, para discriminar la influencia del bloqueo de radiación ocasionado por la malla sobre el crecimiento de la planta.

Para medir la relación entre los distintos números de parejas de gorgojos en cada tratamiento de concentración de nutrientes, se midió el peso de cada planta cada cuatro días. Para llevar a cabo el proceso de medición, se introducía una malla por debajo del recipiente flotante (volviéndose esta malla su base) y luego



se sacaba todo el recipiente con su respectiva muestra de helecho flotante con sus gorgojos correspondientes. A este recipiente que tenía la base de malla, y sobre ella el helecho, se lo secaba sobre papel secante (cuyo peso era de 9 gramos aproximadamente) por dos minutos. Luego, este recipiente, con todo su contenido biótico adentro, era pesado usando una balanza Sartorius GMBH Cottingen, Fab. #:1403 MP8 – 1. La balanza tenía una precisión de un número decimal. El peso del recipiente vacío era de 106,9 gr. y fue restado de los pesos totales para obtener el peso del helecho.

Usando un ANOVA para medidas repetidas, comparé el efecto de las distintas concentraciones de nutrientes sobre el peso en gramos de las muestras vegetales. Así mismo, con un ANOVA para medidas repetidas, evalué la influencia de las distintas densidades de gorgojos sobre el peso en gramos de las muestras de *Azolla filiculoides*. Con un análisis preliminar de los promedios de pesos de aquellas muestras sometidas a las tres densidades de gorgojos y a los dos tipos de control de ausencia de gorgojos, determiné que la significancia estadística para esta prueba podría deberse a las comparaciones entre ausencia y presencia de gorgojos y no a las comparaciones entre todos y cada uno de los tratamientos (Tabla 2). Por esta razón, decidí renombrar los niveles de densidades de gorgojos. Así, en lugar de separar a las distintas densidades individualmente (cero [control], dos, cuatro y seis parejas de gorgojos), separé entre “presencia” y “ausencia” de gorgojos. Realicé nuevamente la prueba ANOVA para medidas repetidas usando esta variable independiente con los nuevos niveles.

Usando la misma prueba de ANOVA para medidas repetidas, comparé la interacción entre los tratamientos de nutrientes (Nitrógeno y Fósforo) y la presencia y ausencia de gorgojos con el crecimiento de *A. filiculoides*.

Para los análisis estadísticos se usó el programa StatView 5.0 para Windows, además de Microsoft Excel 2007 para la representación gráfica de los resultados.

### 3. RESULTADOS

Los resultados obtenidos mediante la prueba de ANOVA para medidas repetidas muestran que el crecimiento de *A. filiculoides* bajo los tratamientos de concentraciones de nutrientes es significativo ( $F_{3, 64} = 17,118, p < 0,0001$ ). *Azolla filiculoides* tuvo un crecimiento significativamente mayor en el tratamiento de Muy Baja concentración de nutrientes, seguido por el crecimiento en las concentraciones de nutrientes Baja y Media, para finalmente mostrar un crecimiento mucho menor en el tratamiento de concentración Alta (Fig. 4, Tabla 3). También encontré diferencias significativas en el crecimiento de las plantas en presencia y ausencia de gorgojos ( $F_{1, 64} = 42,122, p < 0,0001$ ). Las plantas que carecían de gorgojos crecieron más que aquellas que presentaban gorgojos (Fig. 5, Tabla 4). Sin embargo, la interacción entre los tratamientos de concentraciones de nutrientes y de presencia y ausencia de gorgojos no fue significativa sugiriendo que los efectos que causan estos tratamientos no son aditivos.

En casi todos los casos donde existió presencia de gorgojos, a partir del día 16 ya no hubo crecimiento de *Azolla filiculoides* (Fig. 4). La razón de esta detención de crecimiento pudo ser causada por la muerte de *A. filiculoides*, pues el color y la textura de las plantas (Fig. 6) más el detenimiento del crecimiento sugieren su muerte.

#### 4. DISCUSIÓN

Respecto al crecimiento de *Azolla filiculoides* frente a los tratamientos de concentraciones de nutrientes (N y P) en el agua, se obtuvo que su crecimiento fue significativamente *mayor* en el tratamiento de Muy Baja concentración de nutrientes que en el tratamiento de concentración Alta de nutrientes. Esto sucedió al contrario de la hipótesis planteada que predecía que el crecimiento de *A. filiculoides* sería *menor* en condiciones de Baja y Muy Baja concentración de nutrientes que en condiciones de Alta concentración de nutrientes.

Estos resultados pueden deberse a que en la concentración Alta de nutrientes, el exceso del nitrógeno podría haber resultado tóxico para la planta y así impedir su crecimiento normal (Fig. 7, 8 y 9) (Fenn et al. 1998, Fenn et al. 2003, Bobbink et al. 2010). Otro factor importante para explicar el bajo crecimiento de *A. filiculoides* en la concentración Alta de nutrientes pudo deberse a que su simbionte *Anabaena azollae* tiene un índice de fijación de  $N_2$  menor cuando se encuentra expuesto a niveles altos de nitrógeno inorgánico, como nitratos por ejemplo (De Nobel et al. 1997). Así mismo, bajo condiciones bajas de nitratos, *Anabaena azollae* tiene un índice mayor de fijación de  $N_2$  y posiblemente es en

parte responsable del mayor crecimiento de *A. filiculoides* bajo dichas condiciones de nutrientes. Así mismo, cambios en la concentración del fósforo en el medio son causantes de variaciones en la tasa de crecimiento de *Anabaena* sp. (Viner 1973).

Por otra parte, el pH del medio y las concentraciones de nutrientes presentes cumplen interacciones importantes en cuanto a la absorción de los nutrientes necesarios para la planta (Breeze et al. 1987, Valverde et al. 1997). Por esta razón, en el caso de que hubieran existido cambios en el pH del medio, éstos pudieron influir en las diferencias en los tratamientos de distintas concentraciones de nutrientes. Otra razón posible para explicar un menor crecimiento de *A. filiculoides* bajo condiciones Altas de nutrientes, se puede deber a que el exceso de fósforo impide la absorción normal de micronutrientes esenciales para el funcionamiento óptimo de las plantas. Entre dichos micronutrientes se pueden citar al zinc (Warnock 1970, Safaya 1975, Christensen y Jackson 1980), y al hierro (Biddulph y Woodbridge 1952, DeKock y Wallace 1965) el cual causa clorosis en la planta.

El hecho de que posiblemente no hubo diferencias reales en el crecimiento del helecho entre los tratamientos tomando en cuenta las diferentes densidades de gorgojos (2, 4 y 6 parejas), se puede deber a la compensación de biomasa que realizaría este helecho frente a la herbivoría causada por el gorgojo *Stenopelmus rufinasus*. Es ampliamente reconocido que muchas plantas compensan la herbivoría de artrópodos de varias maneras para recuperar su

aptitud o eficacia biológica y su producción de biomasa (Trumble et al. 1993, Stowe et al. 2000, Boege 2005, Newingham et al. 2007). La compensación de biomasa en las plantas frente a la herbivoría es principalmente asociada a altos índices de fotosíntesis y a la reubicación de recursos almacenados dentro de la planta (Chapin y McNaughton 1989, Trumble et al. 1993, Hochwender et al. 2000, Stowe et al. 2000). De esta manera, en el caso de que haya habido compensación de biomasa, la compensación en *A. filiculoides* no fue suficiente para alcanzar los niveles de biomasa que se dan en ausencia de gorgojos, pero sí pudo haber sido suficiente para eliminar diferencias entre los distintos niveles de predación bajo las diferentes densidades poblacionales del gorgojo. Sin embargo, las diferencias en densidades poblacionales pudieron también haber sido poco sustanciales entre sí y ser más bien ésta la razón de la carencia de diferencias estadísticas entre dichas densidades.

El helecho acuático *Azolla filiculoides* y el gorgojo *Stenopelmus rufinasus* tienen interacciones muy complejas, no solamente entre ellos, sino también con el medio en el que viven. Como se ha visto en este estudio, la depredación causada por *S. rufinasus* sobre *A. filiculoides* no disminuye su peso de manera lineal respecto al número de depredadores presentes en las muestras vegetales. Probablemente, la biomasa de *A. filiculoides* disminuye a una tasa mayor en aquellas muestras donde existe un número mayor de gorgojos presentes. Sin embargo, esto no pudo ser detectado en este estudio. Se requerirían estudios más profundos que evalúen directamente la compensación de biomasa frente a la depredación.

Es interesante observar que en agua contaminada con compuestos nitrogenados y fosforados, potenciales nutrientes de las plantas, el crecimiento de *Azolla filiculoides* fue menor que en agua no contaminada, es decir con menor concentración de dichos nutrientes. Si el objetivo de los programas de control biológico contra *A. filiculoides* es precisamente erradicar a esta planta, se pensaría que es más fácil llevar a cabo dicha erradicación cuando el agua esté contaminada con estos nutrientes, pues técnicamente la invasión de esta planta sería más lenta debido a que su crecimiento es menor bajo estas condiciones. Sin embargo, la contaminación de los cuerpos de agua naturales no necesariamente se relaciona sólo a estos dos nutrientes sino muchas veces a metales pesados u otros compuestos que podrían afectar de manera diversa la interacción de todos los organismos dentro del ecosistema (Oglesby y Edmonson 1966, Sawyer 1966, Fruh 1967, Lund 1972, Tapp 1978, Beltman et al. 2000, Cloern 2001, Scavia y Bricker 2006). La interacción del helecho con el gorgojo podría también resultar alterada en estas condiciones, además de la tasa de crecimiento de la planta invasiva en cuestión, al igual que sucede con el Jacinto de agua, *Eichhornia crassipes* (Coetzee et al. 2009). Por esta razón, recomiendo tratar la contaminación de dichos cuerpos de agua separada y anticipadamente del control biológico, pues las interacciones entre los organismos vivos y con los contaminantes en el cuerpo de agua podrían actuar negativamente frente a los programas de erradicación de especies invasivas a través de agentes biológicos.

De acuerdo a Møller-Jørgensen y León-Yáñez (1999), en el Ecuador existen cuatro especies de plantas del género *Azolla*, todas ellas nativas. Las especies presentes en el Ecuador son *Azolla caroliniana* Wild, *Azolla filiculoides* Lam., *A. mexicana* C. Presl., y *A. microphylla* Kaulf. Tanto *A. caroliniana* como *A. microphylla* son especies costeras continentales registradas hasta los 500 msnm en la provincia del Guayas, aunque *A. microphylla* también ha sido registrada en Galápagos (Møller-Jørgensen y León-Yáñez 1999). Por su parte, *A. mexicana* y *A. filiculoides* son especies andinas registradas a partir de los 2500 msnm. *A. mexicana* ha sido registrada en la provincia del Cotopaxi entre los 2500 y 3000 msnm. *A. filiculoides* ha sido registrada en las provincias del Cotopaxi, Imbabura, y Napo entre los 2500 y 3000 msnm y entre los 3500 y 4500 msnm (Møller-Jørgensen y León-Yáñez 1999).

En el Ecuador no se conoce prácticamente nada sobre la ecología de estas especies, ni tampoco ha habido registros de su depredador natural *Stenopelmus rufinasus*, ni de otras especies de artrópodos que se han identificado como depredadores naturales del género *Azolla*, tales como *Pseudolampsis guttata* LeConte (Chrysomelidae) y *Pseudolampsis darwini* Scherer (Chrysomelidae) (Buckingham y Buckingham 1981, Casari y Duckett 1997, Hill y Oberholzer 2002). *P. darwini* ha sido registrada en Brasil y Uruguay (Casari y Duckett 1997), lo cual adicionalmente sugeriría que esta especie se podría encontrar también en otros países de Sudamérica, como Ecuador por ejemplo.

Hasta el momento, el mayor conocimiento sobre el género *Azolla* en el Ecuador, publicado de manera científica, respecta a la asociación simbiótica *Azolla-Anabaena* en cuanto a la fijación de Nitrógeno. Montaña (2010) publicó como tesis doctoral la aplicación de *Azolla caroliniana* como fuente fijadora de Nitrógeno para los ecosistemas del Río Guayas. En esta publicación se explica cómo implementando la explotación de *Azolla-Anabaena* en el Ecuador se abastecería la demanda actual de Nitrógeno estimada en 387 357 toneladas. Montaña (2010) sugiere que la aplicación y explotación de *Azolla-Anabaena* podría ser la mejor opción de reemplazo a la úrea como fuente fertilizante de Nitrógeno en el Ecuador y el mundo. Sin embargo, al no conocerse nada sobre la ecología de *Azolla* en el Ecuador, y sabiendo todos los problemas de invasión que ha causado tanto en África como en Europa, pienso que sería conveniente estudiar la ecología en condiciones naturales de *Azolla caroliniana* antes de explotarla; pues, a pesar de que es una especie nativa para el Ecuador, es muy probable que al intentar manejar sus poblaciones, incrementándolas artificialmente, su sobreproducción sobrepase los límites controlados y colonice los hábitats naturales donde *A. caroliniana* no ha llegado aún. De esta forma, podría afectar los ecosistemas acuáticos naturales tanto de manera física (uso del agua para navegación, consumo, represas hidroeléctricas, etc.) como biológica (desplazamiento de otras especies nativas, modificaciones en las relaciones tróficas, competencia con otras especies vegetales acuáticas por nutrientes, etc.). Además, se debería también estudiar la posibilidad de colonización (en el caso de que no se encuentren aún en el país) de los



depredadores artrópodos naturales conocidos hasta el momento pues la invasión de cualquiera de ellos (*Stenopelmus rufinasus*, *Pseudolampsis guttata* y *Pseudolampsis darwini*) podría devastar la producción de *Azolla* como biofertilizante.

En las Figuras 10 y 11 se muestran los lugares donde se localizaría *Azolla filiculoides*, especie en cuestión del presente estudio, en el Ecuador según Møller-Jørgensen y León-Yáñez (1999), siguiendo los parámetros de hábitat descritos por ellos (provincias donde se ha registrado a *A. filiculoides* y altura en msnm). Según estos parámetros, existirían alrededor de 128 cuerpos de agua con un área en promedio de  $17,78 \text{ Km}^2, \pm 59,5$ . Sin embargo, el área total potencial a ser cubierta por *A. filiculoides* consistiría en la suma de las áreas de todos los cuerpos de agua resultando en  $2276,36 \text{ Km}^2$ .

La presente investigación provee resultados concretos respecto a cómo interactúan las dos especies, *Azolla filiculoides* y *Stenopelmus rufinasus*, en condiciones de laboratorio, respecto a la concentración de Nitrógeno y Fósforo disueltos en el agua, y cómo el helecho responde en términos de biomasa a los nutrientes disueltos (N y P) y a la presencia del depredador natural *Stenopelmus rufinasus* presente en el helecho.

Es necesario realizar más estudios de campo, tanto en lugares donde el helecho es invasivo como en lugares, como Ecuador, donde es nativo para entender mejor cuáles son los factores que controlan su dinámica poblacional y cómo se interrelaciona con las demás especies y el medio en que vive. Así mismo, se

recomienda hacer estudios donde se midan las condiciones físico – químicas del medio de crecimiento a lo largo del tiempo del experimento (pH, micronutrientes presentes, oxígeno disuelto, etc.) para que de esta manera dichas concentraciones sean siempre controladas experimentalmente. Se recomienda también tomar medidas de otros nutrientes en el medio que podrían resultar fundamentales para el crecimiento y la fisiología del helecho. Así mismo, recomiendo que se evalúe la tasa de mortalidad de los depredadores, la cual a su vez puede estar siendo afectada por el medio en que viven.

## 5. REFERENCIAS

- Adams, C. S., R. R. Boar, D. S. Hubble, M. Gikungu, D. M. Harper, P. Hickley, and N. Tarras-Wahlberg. 2002. The dynamics and ecology of exotic tropical species in floating plant mats: Lake Naivasha, Kenya. *Hydrobiologia* 488: 115 –122.
- Aiken, S. G., P. R. Newroth, and I. Wile. 1979. The biology of Canadian weeds. *Canadian Journal of Plant Science* 59: 201 – 215.
- Allan S. Hamill, Jodie S. Holt, Carol A. Mallory-Smith. 2004. Contributions of Weed Science to Weed Control and Management. *Weed Technology* 18: 1563 – 1565.
- Alpert, P., E. Bone, C. Holzapfel. 2000. Invasiveness, invasibility and the role of environmental stress in the spread of non-native plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 3: 52 – 66.
- Amatangelo, K. L. and P. M. Vitousek. 2009. Contrasting Predictors of Fern versus Angiosperm Decomposition in a Common Garden. *Biotropica* 41: 154 – 161.
- Arévalo, J.R., J.D. Delgado, R. Ottoa, A. Naranjo, M. Salas, J.M. Fernández-Palacios. 2005. Distribution of alien vs. native plant species in roadside communities along an altitudinal gradient in Tenerife and Gran Canaria

- (Canary Islands). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 7: 185 – 202.
- Ashton, P. J., and R. D. Walmsley. 1984. The taxonomy and distribution of *Azolla* species in southern Africa. *Botanical Journal of the Linnean Society* 89: 239 – 247.
- Baars, J-R, Caffery, J. 2008. Water fern, *Azolla filiculoides*, Under biological control in Ireland. *Invasive Species Ireland*.
- Baars, J-R., J.M. Caffrey, C. Millar, and P. Hickey. 2009. Potential for Weed Biocontrol in Ireland: *Azolla filiculoides* control by *Stenopelmus rufinasus*. 16th International Conference on Aquatic Invasive Species.
- Bais, H. P., R. V. Epachedu, S. Gilroy, R. M. Callaway, and J. M. Vivanco. 2003. Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions. *Science* 301:1377 – 1380.
- Barrat-Segretain, M. H. and A. Elger. 2004. Source Experiments on Growth Interactions between Two Invasive Macrophyte Species. *Journal of Vegetation Science* 15: 109 – 114.
- Beltman B., T. G. Rouwenhorst, M. B van Kerkhoven, T. van der Krift , J. T. A Verhoeven. 2000. Internal eutrophication in peat soils through competition between chloride and sulphate with phosphate for binding sites. *Biogeochemistry* 50: 183 – 194.
- Beltman, B., T. G. Rouwenhorst, M. B. Van Kerkhoven, T. Van Der Krift, J. T. A. 2000. Verhoeven Internal Eutrophication in Peat Soils through Competition between Chloride and Sulphate with Phosphate for Binding Sites. *Biogeochemistry* 50: 183 – 194.
- Biddulph, O. and C. G. Woodbridge. 1952. The Uptake of Phosphorus by Bean Plants with Particular Reference to the Effects of Iron. *Plant Physiology* 27: 431 – 444.
- Blossey, B. 1995. A comparison of various approaches for evaluating potential biological control agents using insects on *Lythrum salicaria*. *Biological Control* 5: 113 – 122.
- Blossey, B. 2003. A Framework for Evaluating Potential Ecological Effects of Implementing Biological Control of *Phragmites australis*. *Estuaries* 26: 607 - 617.
- Bobbink, R., K. Hicks, J. Galloway, T. Spranger, R. Alkemade, M. Ashmore, M. Bustamante, S. Cinderby, E. Davidson, F. Dentener, B. Emmett, J.-W. Erismann, M. Fenn, F. Gilliam, A. Nordin, L. Pardo, W. de Vries. 2010. Global

- assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis. *Ecological Applications* 20: 30 – 59.
- Boege, K. 2005. Influence of Plant Ontogeny on Compensation to Leaf Damage. *American Journal of Botany* 92: 1632 – 1640.
- Brunker, J. P. 1949. *Azolla filiculoides* Lam. in Co. Wicklow. *The Irish Naturalists' Journal* 9: 340.
- Bryson, C.T., R. Carter. Biology of Pathways for Invasive Weeds. *Technology* 18: 1216 – 1220.
- Buckingham, G. R., and M. Buckingham. 1981. A Laboratory Biology of *Pseudolamprosis guttata* (LeConte) (Coleoptera: Chrysomelidae) on Waterfern, *Azolla caroliniana* Willd. (Pteridophyta: Azollaceae). *The Coleopterists Bulletin* 35: 181 – 188.
- Burns, J. H. 2006. Relatedness and Environment Affect Traits Associated with Invasive and Noninvasive Introduced Commelinaceae. *Ecological Applications* 16: 1367 – 1376.
- Callaway, R. M. and E. T. Aschehoug. 2000. Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science* 290: 521 – 523.
- Campbell G. S., P. G. Blackwell, F. I. Woodward. 2002. Can landscape-scale characteristics be used to predict plant invasions along rivers? *Journal of Biogeography* 29: 535 – 543.
- Carpenter, S. R. 1980. The decline of *Myriophyllum spicatum* in a eutrophic Wisconsin lake. *Canadian Journal of Botany* 58: 527 – 535.
- Carpenter, S. R., and D. M. Lodge. 1986. Effects of submersed macrophytes on ecosystem processes. *Aquatic Botany* 26: 341 – 370.
- Carvill, P. H., and T. G. Curtis. 1973. New Plant Records for County Wicklow. *The Irish Naturalists' Journal* 17: 386 – 388.
- Casari, S. A. and C. N. Duckett. 1997. Description of Immature Stages of Two Species of *Pseudolamprosis* (Coleoptera: Chrysomelidae) and the Establishment of a New Combination in the Genus. *Journal of the New York Entomological Society* 105: 50 – 64.
- Chapin, F. S., and S. J. McNaughton. 1989. Lack of Compensatory Growth under Phosphorus Deficiency in Grazing-Adapted Grasses from the Serengeti Plains. *Oecologia* 79: 551 – 557.

- Chapin, F.S., E.S. Zavaleta, V.T. Eviner, R.L. Naylor, P.M. Vitousek, H.L. Reynolds, D.U. Hooper, S. Lavorel, O.E. Sala, S.E. Hobbie, M.C. Mack, S. Diaz. 2000. Consequences of changing biodiversity. *Nature* 405: 234 – 242.
- Christensen, N. W. and T. L. Jackson. 1980. Potential for Phosphorus Toxicity in Zinc-Stressed Corn and Potato. *Soil Science Society of America Journal* 45: 904–909.
- Cloern, J. E. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series* 210: 223 – 253.
- Coetzee, J. A., M. P. Hill, M. H. Julien, T. D. Center, and H. A. Cordo. 2009. *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms–Laub.(Pontederiaceae). *Biological Control of Tropical Weeds using Arthropods*, ed. R. Muniappan, G. V. P. Reddy, and A. Raman. Published by Cambridge University Press. Cambridge University Press.
- Cuda, J. P., J. C. Dunford, J. M. Leavengood. 2007. Invertebrate Fauna Associated with Torpedograss, *Panicum repens* (Cyperales: Poaceae), in Lake Okeechobee, Florida, and Prospects for Biological Control. *The Florida Entomologist* 90: 238 – 248.
- Cuda, J. P., P. E. Parker, B. R. Coon, F. E. Vasquez, and J. M. Harrison. 2002. Evaluation of Exotic *Solanum* spp. (Solanales: Solanaceae) in Florida as Host Plants for the Leaf Beetles *Leptinotarsa defecta* and *L. texana* (Coleoptera: Chrysomelidae). *The Florida Entomologist* 85: 599 – 610.
- Daehler, C. C, and D. A. Carino. 2000. Predicting invasive plants: prospects for a general screening system based on current regional models. *Biological Invasions* 2: 93 – 102.
- Daehler, C. C. 2003. Performance comparisons of co-occurring native and alien invasive plants: implications for conservation and restoration. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34: 183 – 211.
- D'Antonio, C. M., and P M. Vitousek. 1992. Biological invasions by exotic grasses, the grass/fire cycle, and global change. *Annual Review of Ecology and Systematics* 23: 63 – 87.
- De Nobel, W. T., J. Huisman, J. L. Snoep, and L. R. Mur. 1997. Competition for phosphorus between the nitrogen-fixing cyanobacteria *Anabaena* and *Aphanizomenon*. *FEMS Microbiology Ecology* 24: 259 – 267.
- DeKock P. C., and A. Wallace. 1965. Excess Phosphorus and Iron Chlorosis. *California Agriculture* 19: 3 – 4.

- Dennill, G.B. and D. Donnelly. 1991. Biological control of *Acacia longifolia* and related weed species (Fabaceae) in South Africa. *Agriculture, Ecosystems & Environment* . 37: 115 – 136.
- Denslow, J.S., 2003. Weeds in paradise: thoughts on the invasibility of tropical islands. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 90: 119 – 127.
- DeWalt, S.J., J.S. Denslow, K. Ickes. 2004. Natural enemy release facilitates habitat expansion of the invasive tropical shrub. *Ecology* 85: 471 – 483.
- Ehrenfeld, J. G. 2008. Exotic invasive species in urban wetlands: environmental correlates and implications for wetland management. *Journal of Applied Ecology* 45: 1160 – 1169.
- Eiswerth, M. E., T. D. Darden, W. S. Johnson, J. Agapoff, T. R. Harris. 2005. Input-Output Modeling, Outdoor Recreation, and the Economic Impacts of Weeds. *Weed Science* 53: 130 – 137.
- Environmental Protection Agency of Ireland. 2008. Water Quality in Ireland 2004-2006.
- Environmental Protection Agency of the U.S. 2009. Macrophytes as Indicators. In: <http://www.epa.gov/bioindicators/html/macrophytes.html>
- Fenn M. E., J. S. Baron, E. B. Allen, H. M. Rueth, K. R. Nydick, L. Geiser, W. D. Bowman, J. O. Sickman, T. Meixner, D. W. Johnson, and P. Neitlich. 2003. Ecological Effects of Nitrogen Deposition in the Western United States. *Bioscience* 53: 404 – 420.
- Fenn, M. E., M. A. Poth, J. D. Aber, J. S. Baron, B. T. Bormann, D. W. Johnson, A. D. Lemly, S. G. McNulty, D. F. Ryan, and R. Stottlemeyer. 1998. Nitrogen Excess in North American Ecosystems: Predisposing Factors, Ecosystem Responses, and Management Strategies. *Ecological Applications* 8: 706 – 733.
- Fourqurean, J. W., and J. C. Zieman. 2002. Nutrient content of the seagrass *Thalassiate studinum* reveals regional patterns of relative availability of nitrogen and phosphorus in the Florida Keys, U SA. *Biogeochemistry* 61: 229 – 245.
- Fruh, E. G. 1967. The Overall Picture of Eutrophication. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 39: 1449 – 1463.
- Giller, P. S. 2005. River restoration: seeking ecological standards. Editor's introduction. *Journal of Applied Ecology* 42: 201 – 207.

- Gordon, D.R. 1998. Effects of Invasive, Non-Indigenous Plant Species on Ecosystem Processes: Lessons from Florida. *Ecological Applications* 8: 975 – 989.
- Gratwicke, B., Marshall, B.E., 2001. The impact of *Azolla filiculoides* Lam. on animal biodiversity in streams in Zimbabwe. *African Journal of Ecology* 38: 1 – 4.
- Güsewell, S. 2004. N: P Ratios in Terrestrial Plants: Variation and Functional Significance. *New Phytologist* 164: 243 – 266.
- Hamill, A. S., J. S. Holt, C. A. Mallory-Smith. 2004. Contributions of Weed Science to Weed Control and Management. *Weed Technology*. 18: 1563 – 1565.
- Hariet L. H. and M. Schwarzlaender. 2004. Comparing Invasive Plants from Their Native and Exotic Range: What Can We Learn for Biological Control? *Weed Technology* 18: 1533 – 1541.
- Hill, M. P. 1998a. Herbivorous insect fauna associated with *Azolla* species in southern Africa. *African Entomology* 6:370 – 372.
- Hill, M. P. and I. G. Oberholzer. 2002. Laboratory Host Range Testing of the Flea Beetle, *Pseudolamprosis guttata* (LeConte) (Coleoptera: Chrysomelidae), a Potential Natural Enemy for Red Water Fern, *Azolla filiculoides* Lamarck (Pteridophyta: Azollaceae) in South Africa. *The Coleopterists Bulletin* 56: 79 – 83.
- Hill, M. P., and C. J. Cilliers. 1999. *Azolla filiculoides* Lamarck (Pteridophyta: Azollaceae), its status in South Africa and control. *Hydrobiologia* 415: 203 – 206.
- Hill, M. P., and I. G. Oberholzer. 2002. Laboratory Host Range Testing of the Flea Beetle, *Pseudolamprosis guttata* (LeConte) (Coleoptera: Chrysomelidae), a Potential Natural Enemy for Red Water Fern, *Azolla filiculoides* Lamarck (Pteridophyta: Azollaceae) in South Africa. *The Coleopterists Bulletin* 56: 79-83.
- Hill, M.P. 1998b. Life history and laboratory host range of *Stenopelmus rufinasus*, a natural enemy for *Azolla filiculoides* in South Africa. *Biological Control* 43: 215 – 224.
- Hobbs, R. J., and S. E. Humphries. 1995. An Integrated Approach to the Ecology and Management of Plant Invasions. *Conservation Biology* 9: 761 – 770.

- Hochwender, C. G., R. J. Marquis, K. A. Stowe. 2000. The Potential for and Constraints on the Evolution of Compensatory Ability in *Asclepias syriaca*. *Oecologia* 122: 361 – 370.
- Hoddle, M.S. 2004. Restoring Balance: Using Exotic Species to Control Invasive Exotic Species *Conservation Biology* 18: 38 – 49.
- Jacono, C. C., T. R. Davern, T. D. Center. 2001. The Adventive Status of *Salvinia minima* and *S. molesta* in the Southern United States and the Related Distribution of the Weevil *Cyrtobagous salviniae*. *Castanea* 66: 214-226.
- Jacot-Guillarmod, A. 1979. Water weeds in southern Africa. *Aquatic Botany* 6: 377 – 391.
- Janes, R. 1998. Growth and Survival of *Azolla filiculoides* in Britain. I. Vegetative Reproduction. *New Phytologist* 138: 367 – 375.
- Jones, R. W. 2009. The impact on biodiversity, and integrated control, of water hyacinth, *Eichhornia crassipes* (Martius) *Solms-Laubach* (Pontederiaceae) on the Lake Nsezi – Nseleni River System. Submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science - Ad Eundem Gradum at Rhodes University.
- Jorgensen, P., S. Yáñez, eds. 1999. Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Missouri Botanical Garden Press, Vol. 75. St. Louis, Missouri, USA.
- Josefsson, M., B. Andersson. 2001. The Environmental Consequences of Alien Species in the Swedish Lakes Mälaren, Hjälmaren, Vänern and Vättern. *Ambio* 30: 514 – 521.
- Kay, S.H., S.T. Hoyle. 2001. Mail Order, the Internet, and Invasive Aquatic Weeds. *Journal of Aquatic Plant Management* 39: 88 – 91.
- Kelly, D.J., I. Hawes. 2005. Effects of Invasive Macrophytes on Littoral-Zone Productivity and Foodweb Dynamics in a New Zealand High-Country Lake. *Journal of the North American Benthological Society* 24: 300 – 320.
- Knapp, S., I. Kühn, J. Stolle, S. Klotz. 2010. Changes in the functional composition of a Central European urban flora over three centuries. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 12: 235 – 244.
- Kueffer C., C. Daehler, C.W. Torres-Santana, C. Lavergne, J. Meyer, R. Otto, L. Silva. 2010. A global comparison of plant invasions on oceanic islands. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 12: 145 – 161.
- Kupferberg, S. J. 1997. Bullfrog (*Rana catesbeiana*) invasion of a California river: the role of larval competition. *Ecology* 78: 1736 – 1751.



- Lodge, D. M., S. Williams, H. J. MacIsaac, K. R. Hayes, B. Leung, S. Reichard, R. N. Mack, P. B. Moyle, M. Smith, D. A. Andow, J. T. Carlton, A. McMichael. 2006. Biological Invasions: Recommendations for U.S. Policy and Management. *Ecological Applications* 16: 2035 – 2054.
- Lonsdale, W. M. Global Patterns of Plant Invasions and the Concept of Invasibility. *Ecology* 80: 1522 – 1536.
- Louda, S., R. Pemberton, M. Johnson, and P. Follett. 2003. Non-target effects - the Achilles heel of biological control? Retrospective analyses to reduce risk associated with biocontrol introductions. *Annual Review of Entomology* 48: 365 – 96.
- Lumpkin, T.A., Plucknett, D.L., 1980. Azolla: Botany, physiology, and use as a green Manure. *Economic Botany* 34: 111 – 153.
- Lund, J. W. G. 1972. Eutrophication. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 180: 371-382.
- Mack, R. N., D. Simberloff, W. M. Lonsdale, H. Evans, M. Clout, F. A. Bazzaz. 2000. Biotic Invasions: Causes, Epidemiology, Global Consequences, and Control. *Ecological Applications* 10: 689 – 710.
- Manchester, S. J., and Bullock J. M. 2000. The Impacts of Non-Native Species on UK Biodiversity and the Effectiveness of Control. *Journal of Applied Ecology* 37: 845 – 864.
- Marsh, A. S. 1914. The history of the occurrence of *Azolla* in the British Isles and in Europe Generally. *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* 17: 1383.
- Masters, R.A., R.L. Sheley. 2001. Principles and Practices for Managing Rangeland Invasive Plants. *Journal of Range Management* 54: 502 – 517.
- McConnachie, A. J., M. P. Hill, and M. J. Byrne. 2004. Field assessment of a frond-feeding weevil, a successful biological control agent of red waterfern, *Azolla filiculoides*, in southern Africa. *Biological Control* 29: 326 – 331.
- McConnachie, A.J., Hill M.P., M.J. Byrne, and M.P. de Wit . 2003. Economic evaluation of the successful biological control of *Azolla filiculoides* in South Africa. *Biological Control* 28: 25 – 32.
- McFadyen, R. E. C. 1998. Biological control of weeds. *Annual Review of Entomology* 43: 369 – 393.
- Messing, R.H., M.G. Wright. 2006. Biological Control of Invasive Species: Solution or Pollution? *Frontiers in Ecology and the Environment* 4: 132 – 140.

- Metzgar, J. S., H. Schneider, and K. M. Pryer<sup>1</sup>. 2007. Phylogeny and divergence time estimates for the fern genus *Azolla* (Salviniaceae). *International Journal of Plant Science* 168:1045 – 1053.
- Montaño, M. 2010. Ecosistema Guayas (Ecuador): Recursos, Medio Ambiente y Sostenibilidad en la perspectiva de Conocimiento Tropical. Tesis Doctoral del Departamento de agroquímica y Medio Ambiente de la Universidad Miguel Hernández de Elche.
- Moran, V. C., J. H. Hoffmann, and H. G. Zimmermann. 2005. Biological control of invasive alien plants in South Africa: necessity, circumspection, and success. *Frontiers in Ecology and the Environment* 3: 71 – 77.
- Muramoto, S. and Oki, Y. (1983). Removal of some heavy metals from polluted water by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 30: 170 – 177.
- Nagel, J. M., and K. L. Griffin. 2001. Construction Cost and Invasive Potential: Comparing *Lythrum salicaria* (Lythraceae) with Co-Occurring Native Species along Pond Banks. *American Journal of Botany* 88: 2252 – 2258.
- Nelson, B. 2007. *Bagous lutosus* and *Stenopelmus rufinasus* new to Ireland and recent records of two other rare Irish weevils (Curculionidae and Eirrhinidae). *The Coleopterist* 16: 141 – 145 .
- Newingham, B. A., R. M. Callaway, and H. BassiriRad. 2007. Allocating Nitrogen Away from a Herbivore: A Novel Compensatory Response to Root Herbivory. *Oecologia* 153: 913 – 920.
- Oglesby, R. T. and W. T. Edmondson. 1966. Control of Eutrophication. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 38: 1452 – 1460.
- Oosthuizen, G. J., and M. M. Walters. 1961. Control of water fern with diesoline. *Farming in South Africa* 37:35-37.
- Paynter, Q., and G. J. Flanagan. 2004. Integrating Herbicide and Mechanical Control Treatments with Fire and Biological Control to Manage an Invasive Wetland Shrub, *Mimosa pigra*. *Journal of Applied Ecology* 41: 615 – 629.
- Pemberton, R. W. 1996. The Potential of Biological Control for the Suppression of Invasive Weeds of Southern Environments. *Castanea* 61: 313-319.
- Pemberton, R. W. 2000. Predictable Risk to Native Plants in Weed Biological Control. *Oecologia* 125: 489-494.

- Pemberton, R. W., and J. M. Bodle. 2009. Native North American Azolla Weevil, *Stenopelmus rufinasus* (Coleoptera: Curculionidae), Uses the Invasive Old World *Azolla pinnata* as a Host Plant. *Florida Entomologist* 92: 153 – 155.
- Pheloung, P. C, P. A. Williams, and S. R. Halloy. 1999. A weed risk assessment model for use as a biosecurity tool evaluating plant introductions. *Journal of Environmental Management* 57: 239 – 251.
- Pimentel, D., L. Lach, R. Zuniga, D. Morrison. 2000. Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States. *BioScience* 50: 53 – 65.
- Randall, J.M. 1996. Weed Control for the Preservation of Biological Diversity. *Weed Technology* 10: 370 – 383.
- Reaser, J.K., L.A. Meyerson, Q. Cronk, M. De Poorter, L.G. Eldrege, E. Green, M. Kairo, P. Latasi, R.N. Mack, J. Mauremootoo, D. O'Dowd, W. Orapa, S. Sastroutomo, A. Saunders, C. Shine, S. Thrainsson, L. Vaiutu. 2007. Ecological and socioeconomic impacts of invasive alien species in island ecosystems. *Environmental Conservation* 34: 98 – 111.
- Reddy, K. R., and W. F. DeBusk. 1984. Growth Characteristics of Aquatic Macrophytes Cultured in Nutrient-Enriched Water: I. Water Hyacinth, Water Lettuce, and Pennywort. *Economic Botany* 38: 229 – 239.
- Richardson, D. M., P. Pysek, M. Rejmanek, M. G. Barbour, F. D. Panetta, and C. J. West. 2006. Naturalization and invasion of alien plants: concept and definitions. *Diversity and Distributions* 6: 93 – 107.
- Rivera, L. W., J. K. Zimmerman, and T. M. Aide. 2000. Forest recovery in abandoned agricultural lands in a karst region of the Dominican Republic. *Plant Ecology* 148: 115 – 125.
- Room, P. M. 1990. Ecology of a simple plant-herbivore system: biological control of *Salvinia*. *Trends in Ecology and Evolution* 5: 74 – 79.
- Room, P. M., K. L. S. Harley, I. W. Forno, and D. P. A. Sands. 1981. Successful control of the floating weed *Salvinia*. *Nature* 294: 78 – 80.
- Ruiz, G. M., P. Fofonoff, A. H. Hines, E. D. Grosholz. 1999. Non-Indigenous Species as Stressors in Estuarine and Marine Communities: Assessing Invasion Impacts and Interactions. *Limnology and Oceanography* 44: 950 – 972.
- Safaya, N. M. 1975. Phosphorus-zinc Interaction in Relation to Absorption Rates of Phosphorus, Zinc, Copper, Manganese, and Iron in Corn. *Soil Science Society of America Journal*. 40: 719 – 722.

- Sakai, A., F.W. Allendorf, J.S. Holt, D.M. Lodge, J. Molofsky, K.A. With, S. Baughman, R.J. Cabin, J.E. Cohen, N.C. Ellstrand, D.E. McCauley, P. O'Neil, I.M. Parker, J.N. Thompson, S.G. Weller. 2001. The Population Biology of Invasive Species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32: 305 – 332.
- Sallie P. Sheldon and Robert P. Creed. 1995. Use of a Native Insect as a Biological Control for an Introduced Weed. *Ecological Applications* 5: 1122 – 1132.
- Sawyer, C. N. 1966. Basic Concepts of Eutrophication. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 38: 737 – 744.
- Scavia, D and S. B. Bricker. 2006. Coastal Eutrophication Assessment in the United States. *Biogeochemistry* 79: 187 – 208.
- Schutzenhofer, M. R., and T. M. Knight. 2007. Population-Level Effects of Augmented Herbivory on *Lespedeza cuneata*: Implications for Biological Control. *Ecological Applications* 17: 965 – 971.
- Shea, K. and P Chesson. 2002. Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 17: 170 – 176.
- Shea, K., and D. Kelly. 1998. Estimating Biocontrol Agent Impact with Matrix Models: *Carduus nutans* in New Zealand. *Ecological Applications* 8: 824-832
- Simberloff, D., and P. Stiling. 1996. How Risky is Biological Control? *Ecology* 77: 1965 – 1974.
- Smith, A.R., K.M. Pryer, E. Schuettpelz, P. Korall, H. Schneider, R. Cranfill, P.G. Wolf. 2006. A classification for extant ferns. *Taxon* 55: 705 – 731.
- Solarz, S.L., R.M. Newman. 2001. Variation in Hostplant Preference and Performance by the Milfoil Weevil, *Euhrychiopsis lecontei* Dietz, Exposed to Native and Exotic Watermilfoils. *Oecologia* 126: 66 – 75.
- Stowe, K. A., R. J. Marquis, C. G. Hochwender, E. L. Simms. 2000. The Evolutionary Ecology of Tolerance to Consumer Damage. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 565 – 595.
- Strong, D. R., and R. W. Pemberton. 2000. Biological Control of Invading Species: Risk and Reform. *Science, New Series* 288: 1969 – 1970.
- Suren, A. M., P. S. Lake. 1989. Edibility of fresh and decomposing macrophytes to three species of freshwater invertebrate herbivores. *Hydrobiologia* 178: 165 – 178.

- Tapp, J. S. 1978. Eutrophication Analysis with Simple and Complex Models. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 50: 484-492.
- Tibbetts, J. 1997. Exotic Invasion. *Environmental Health Perspectives* 105: 590 – 593.
- Trumble, J. T., D. M. Kolodny-Hirsch, and I. P. Ting. 1993. Plant Compensation for Arthropod Herbivory. *Annual Review of Entomology* 38: 93 – 119.
- Viner, A. B. 1973. Responses of a Mixed Phytoplankton Population to Nutrient Enrichments of Ammonia and Phosphate, and Some Associated Ecological Implications. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 1073: 351 – 370.
- Vitousek, P. M. 1990. Biological Invasions and Ecosystem Processes: Towards an Integration of Population Biology and Ecosystem Studies. *Oikos* 57: 7 – 13.
- Wagner, G. 1997. *Azolla*: A Review of Its Biology and Utilization. *Botanical Review* 63: 1 – 26.
- Wardill, T. J., G. C. Graham, M. Zalucki, W. A. Palmer, J. Playford, and K. D. Scott. 2005. The importance of species identity in the biocontrol process: identifying the subspecies of *Acacia nilotica* (Leguminosae: Mimosoideae) by genetic distance and the implications for biological control. *Journal of Biogeography* 32: 2145 – 2159.
- Warnock, R. E. 1970. Micronutrient Uptake and Mobility Within Corn Plants (*Zea mays* L.) in Relation to Phosphorus-induced Zinc Deficiency. *Soil Science Society of America Journal* 34: 765–769
- Wilcove, D. S., D. Rothstein, J. Dubow, A. Phillips, and E. Losos. 1998. Quantify threats to imperiled species in the United States. *Bioscience* 48: 607 – 615.
- Williams, M. M., D. B. Walsh, R. A. Boydston. 2004. Integrating Arthropod Herbivory and Reduced Herbicide Use for Weed Management. *Weed Science* 52: 1018 – 1025.
- Williamson, M. 1999. Invasions. *Ecography* 22: 5 – 12.
- Zhang Y., J. L. Hanula, J. Sun. 2008. Survey for Potential Insect Biological Control Agents of *Ligustrum sinense* (Scrophulariales: Oleaceae) in China. *The Florida Entomologist* 91: 372 – 382.
- Zhu, Y. L., Zayed, A. M., Qian, J. H., Souza, M. and Terry, N. (1999). Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants. II. Water hyacinth. *Journal of Environmental Quality*. 28: 339 – 344.

## 6. TABLAS

**Tabla 1.** Concentraciones de Nitrógeno y Fósforo añadidas a cada tratamiento de concentración de nutrientes.

Tratamiento para concentraciones de nutrientes del agua	Cantidad añadida de Kemira® Hydroponic y de Solución Stock de Nitrato de Calcio		Concentraciones de nutrientes alcanzadas	
	Solución (ml)	Nitrógeno (mg/L)	Fósforo (mg/L)	
Muy Baja	1,5	0,675	0,15	
Baja	3	1,35	0,03	
Media	7,02	3,15	0,07	
Alta	14	6,3	0,14	

**Tabla 2.** Promedios y desviaciones estándar del peso de *Azolla filiculoides* bajo los tratamientos de densidades de gorgojos. El símbolo " $\bar{x}$ " representa al promedio de crecimiento dentro de cada tratamiento medido en gramos y "S" es la desviación estándar.

Tratamiento gorgojos	Tratamientos de Nutrientes							
	Alto		Medio		Bajo		Muy Bajo	
	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S
2 parejas	17,49	7,49	21,79	12,79	22,72	10,94	26,72	15,21
4 parejas	19,73	9,48	19,79	10,50	19,18	7,93	26,31	14,79
6 parejas	16,37	7,74	18,98	11,00	20,45	8,48	25,94	14,10
Control malla	20,25	9,85	27,41	14,38	30,07	16,42	31,30	19,35
Control sin malla	20,64	10,07	28,54	16,15	32,39	18,77	35,01	21,16

**Tabla 3.** Promedios y desviaciones estándar del peso de *Azolla filiculoides* bajo los cuatro tratamientos de nutrientes. El símbolo " $\bar{x}$ " representa al promedio de crecimiento dentro de cada tratamiento medido en gramos y "S" es la desviación estándar.

Tratamientos de nutrientes	Peso de <i>A. filiculoides</i>	
	$\bar{x}$	S
Alta	18,72	8,89
Media	22,78	13,22
Baja	24,26	13,45
Muy Baja	28,60	16,84

**Tabla 4.** Promedios y desviaciones estándar del peso de *Azolla filiculoides* bajo los tratamientos de ausencia y presencia de gorgojos. El símbolo " $\bar{x}$ " representa al promedio de crecimiento dentro de cada tratamiento medido en gramos y "S" es la desviación estándar.

Tratamientos de gorgojos	Peso de <i>A. filiculoides</i>	
	$\bar{x}$	S
Ausencia	28,20	16,27
Presencia	21,29	9,55

## 7. FIGURAS



**Figura 1.** Armado del experimento donde se muestran los cuatro tratamientos de concentraciones de nutrientes del agua. Invernadero localizado en Rosemount Horticultural Station.

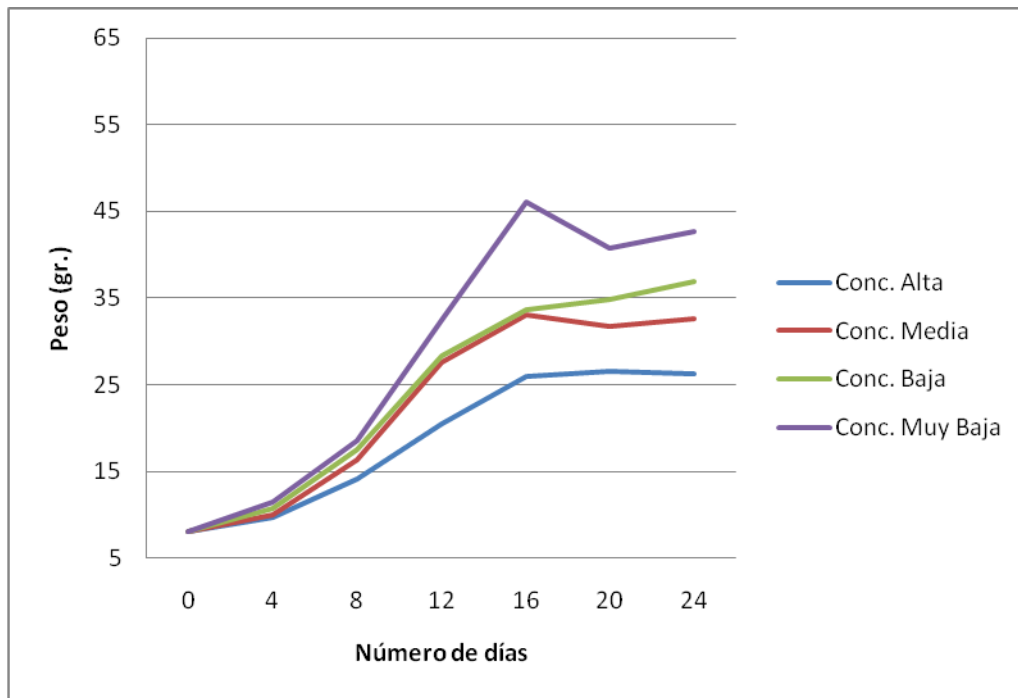




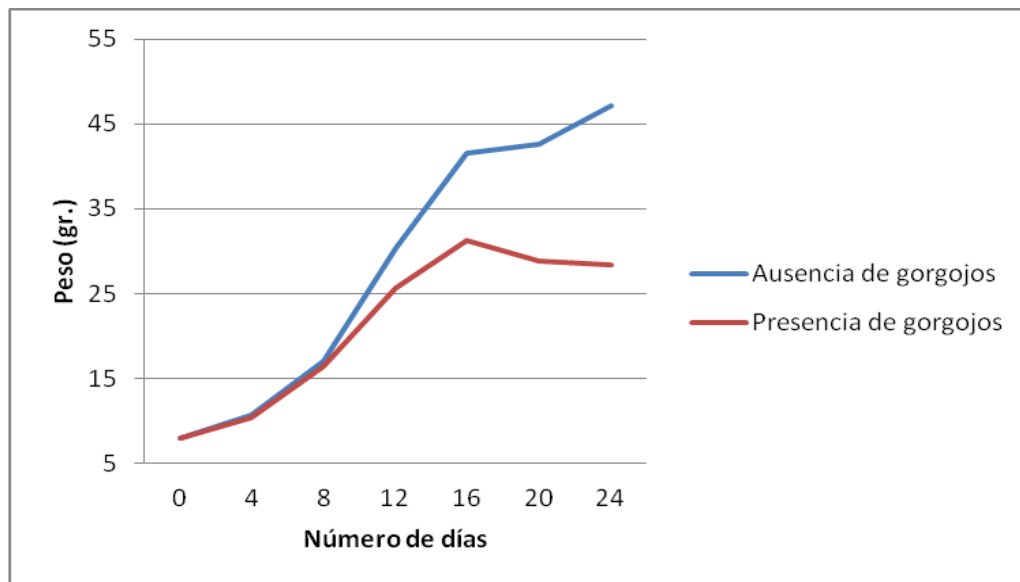
**Figura 2.** Tratamiento de concentración de nutrientes con los seis recipientes del grupo correspondientes. Además, se muestran los recipientes blancos pequeños flotantes donde *Azolla filiculoides* crecía con las diferentes densidades de gorgojos.



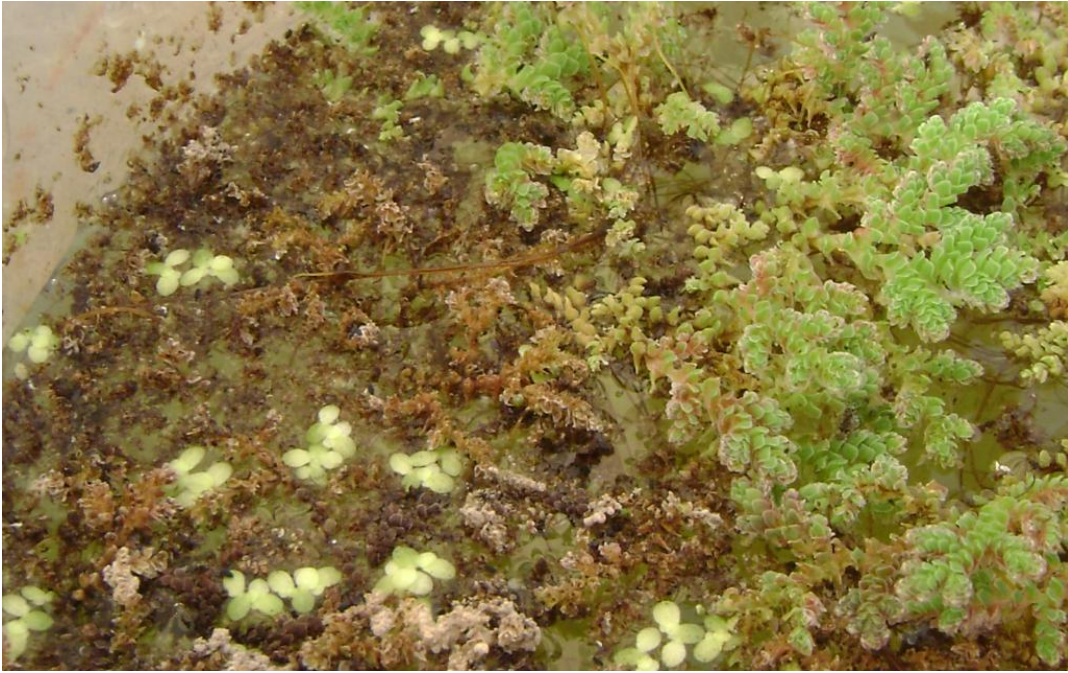
**Figura 3.** Recipientes flotantes donde *Azolla filiculoides* crecía junto a su respectiva densidad de parejas de gorgojos. Estos recipientes fueron colocados en cada una de los tratamientos de concentraciones de nutrientes.



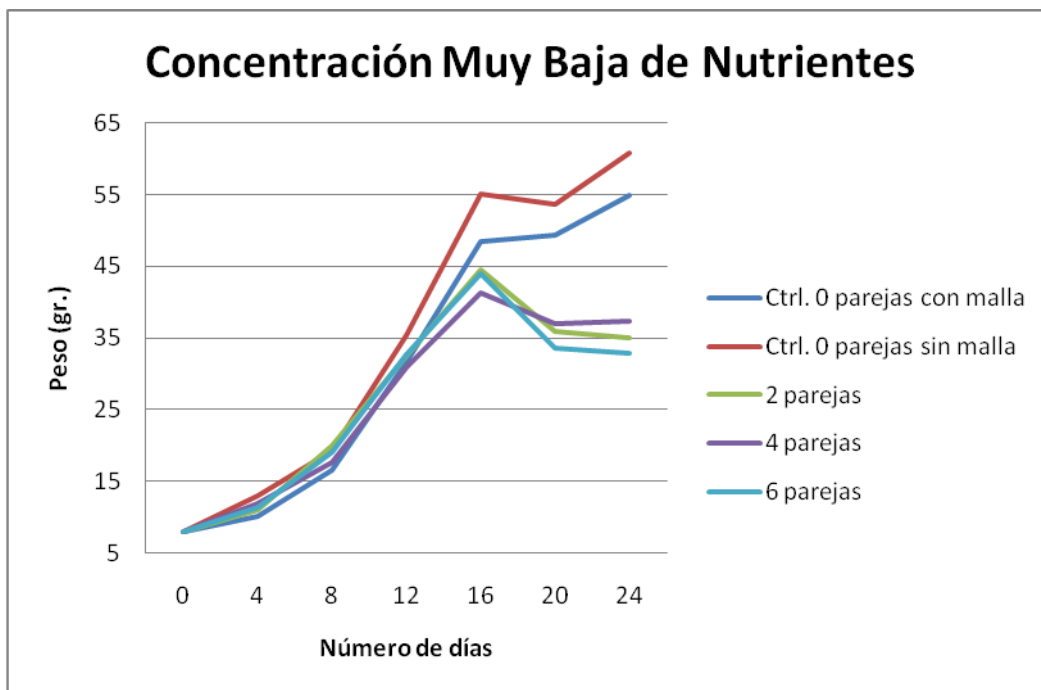
**Figura 4.** Peso total promedio de *Azolla filiculoides* bajo los cuatro tratamientos de concentración de nutrientes. Las líneas de colores muestran las distintas concentraciones de nutrientes del agua.



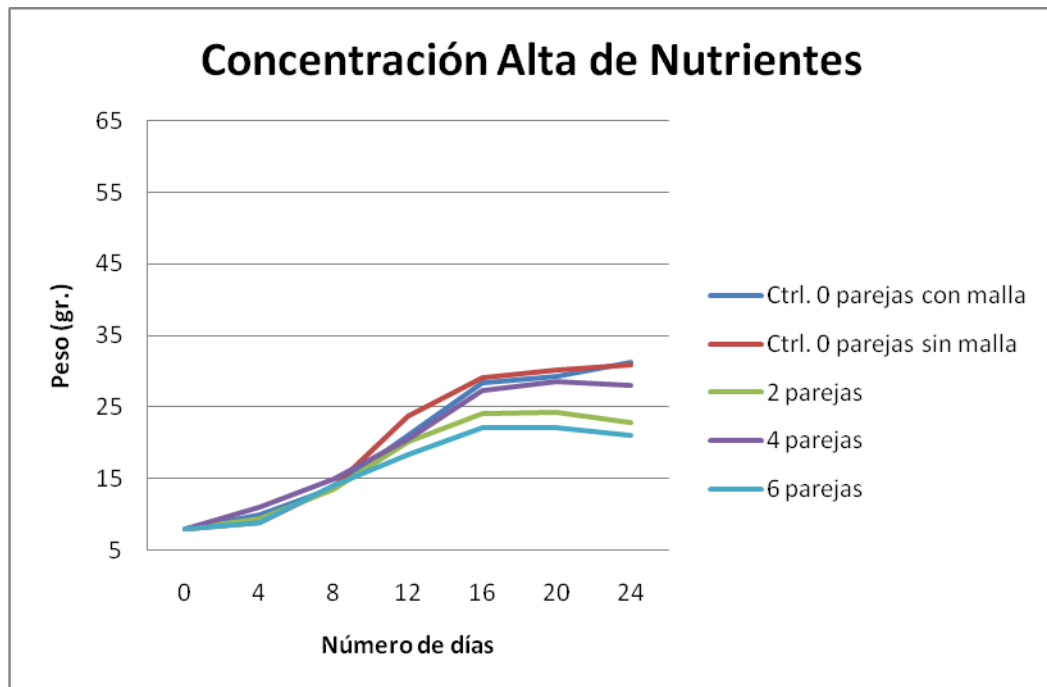
**Figura 5.** Peso total promedio de *Azolla filiculoides* bajo los tratamientos de ausencia y presencia de gorgojos.



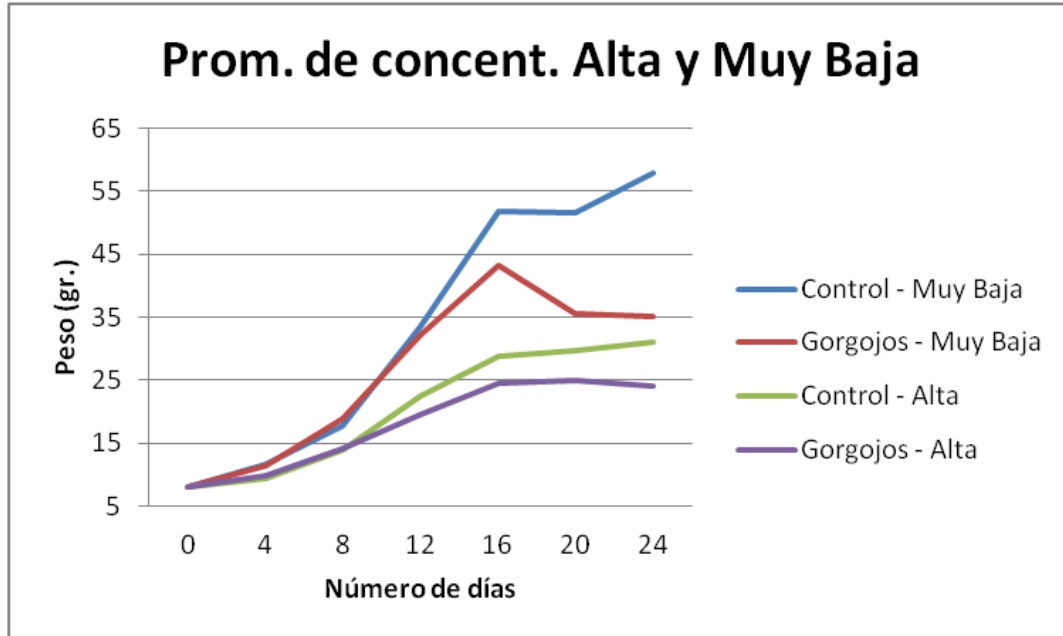
**Figura 6.** Al lado izquierdo de la figura se encuentran muestras de *Azolla filiculoides* destruida por acción del gorgojo *Stenopelmus rufinusus*, presentando despigmentación y textura rugosa. Al lado derecho de la figura se encuentran muestras de *Azolla filiculoides* intacta y sin gorgojo.



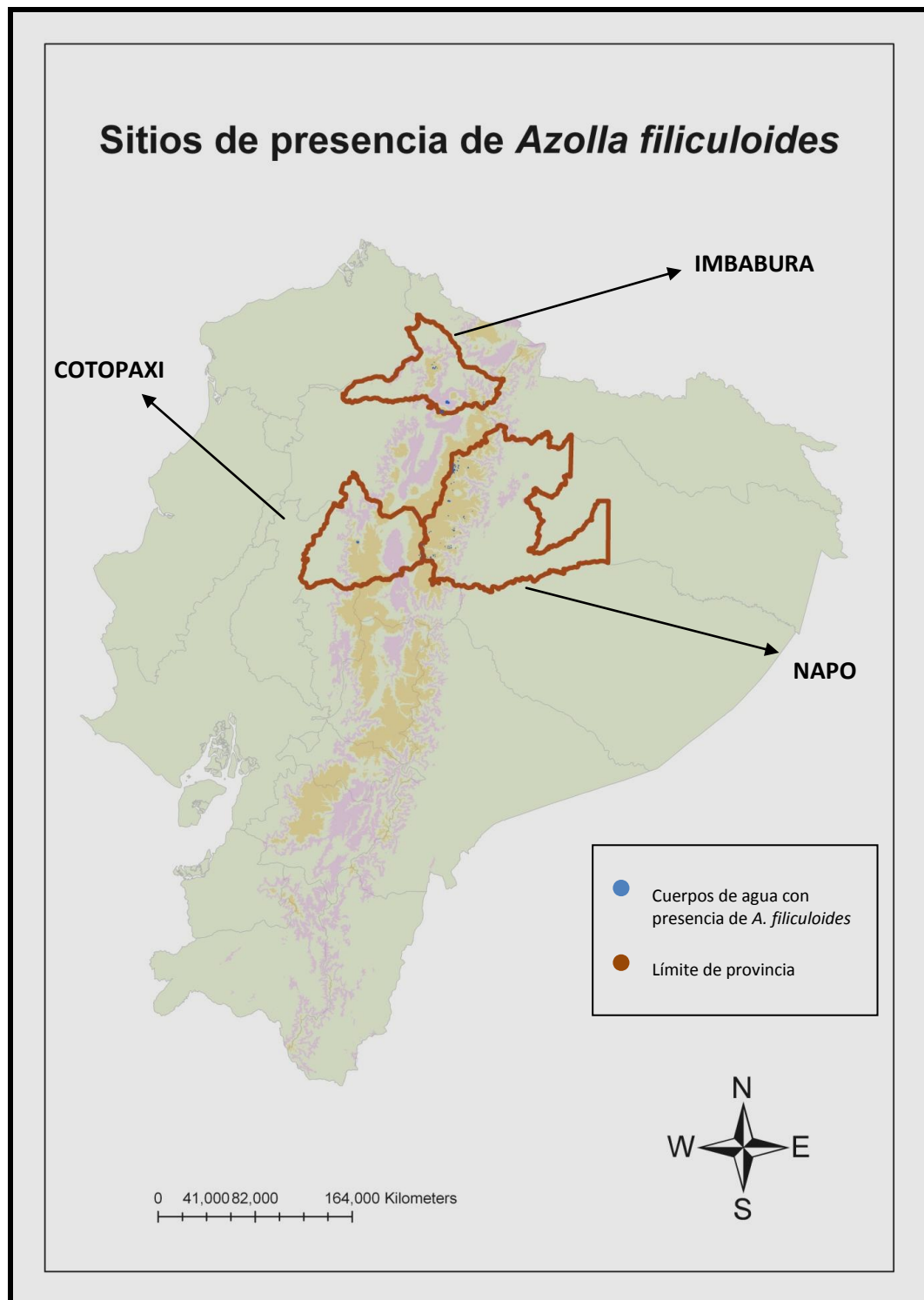
**Figura 7.** Peso total de *Azolla filiculoides* bajo el tratamiento de Muy Baja concentración de nutrientes. Las líneas de colores muestran las distintas densidades de gorgojos presentes.



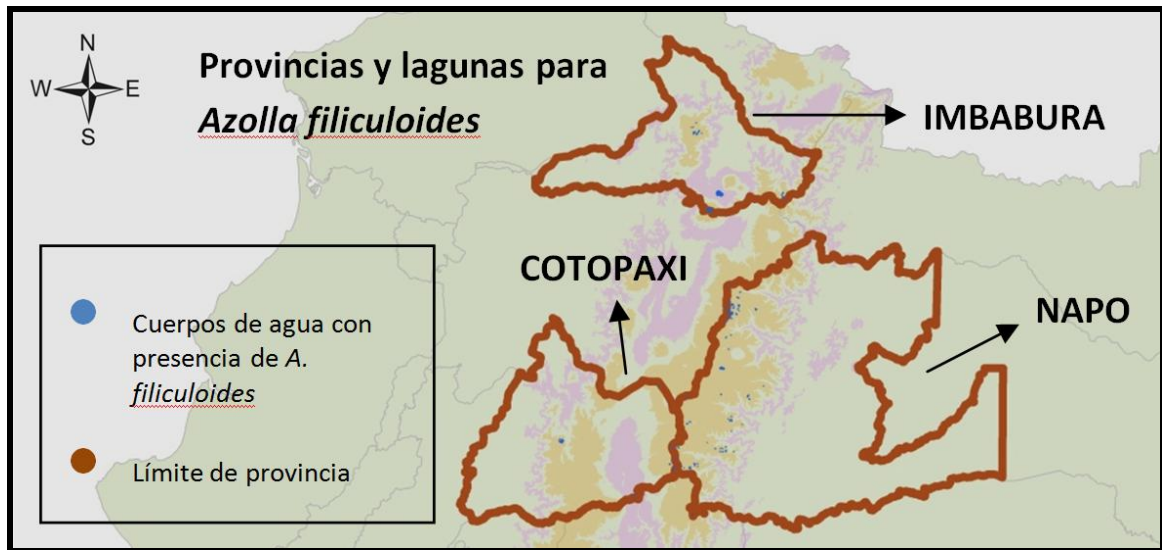
**Figura 8.** Peso total de *Azolla filiculoides* bajo el tratamiento de Alta concentración de nutrientes. Las líneas de colores muestran las distintas densidades de gorgojos presentes.



**Figura 9.** Peso total promedio de *Azolla filiculoides* bajo los tratamientos de concentraciones Alta y Muy Baja de nutrientes. Las líneas de colores representan la ausencia y presencia de gorgojos.



**Figura 10.** Sitios de localización de *Azolla filiculoides* en el Ecuador, resaltando las provincias de Cotopaxi, Imbabura, y Napo (Møller-Jørgensen y León-Yáñez 1999).



**Figura 11.** Ubicación de los cuerpos de agua dentro de cada provincia del Ecuador (Cotopaxi, Imbabura, y Napo) donde se encuentra *A. filiculoides* (Møller-Jørgensen y León-Yáñez 1999).