



**UNIVERSIDAD NACIONAL
PEDRO RUIZ GALLO**



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA
Y PARASITOLOGÍA**

**Potencial de *Distichia muscoides* en la
biorremediación de un bofedal impactado con
drenaje ácido de roca en Áncash**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADA EN BIOLOGÍA
MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA**

PRESENTADA POR:

AUTORA

Bach. María Cristina Otoyá Fernández

ASESORA

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

**LAMBAYEQUE-PERÚ
2023**

Potencial de *Distichia muscoides* en la biorremediación de un bofedal impactado con drenaje ácido de roca en Áncash

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN BIOLOGÍA
MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

APROBADA POR:

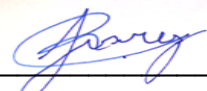
Dr. Eduardo Julio Tejada Sánchez

PRESIDENTE



Mc. Ana María Juárez Chunga

SECRETARIA



Msc. José Eliseo Ayasta Varona

VOCAL



Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

ASESORA



María Cristina Otoyá Fernández

AUTORA



LAMBAYEQUE-PERÚ

2023

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	9
II. MARCO TEÓRICO	11
2.1 Antecedentes de la investigación	11
2.2 Base teórica	12
2.2.1 Cambio climático: riesgo climático.....	12
2.2.2 Drenaje ácido de roca	17
2.2.3 Metales pesados	18
2.2.4 Bofedales: <i>D. muscoides</i>	19
2.2.6 Fitorremediación.....	22
2.2.5 Bacterias sulfato reductoras	23
III. MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1 Muestras de trabajo.....	25
3.2 Población y muestra	25
3.3 Variables.....	25
3.4 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis	26
3.5 Lugar de estudio y obtención de muestras.....	26
3.6 Características del agua, turba, <i>D. muscoides</i> y presencia de bacterias sulfato reductoras en el sedimento de cuerpos de agua de dos bofedales sin aparante y con impacto de drenaje ácido de roca, en la subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash, 2021	28
3.7 Factores de bioacumulación y traslocación calculados en la turba y cojines <i>D. muscoides</i> trasplantados para la biorremediación de una zona experimental del bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash.	40
3.8 Análisis estadístico de los datos.....	48
IV. RESULTADOS.....	49
4.1 Características del agua, turba, tejido radicular y aéreo de <i>D. muscoides</i> y presencia de bacterias sulfato reductoras en el sedimento de cuerpos de agua de dos bofedales 1 y 2 sin aparente y con impacto de drenaje ácido de roca, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021	49
4.2 Factores de bioacumulación y traslocación calculados en la turba y cojines de <i>D. muscoides</i> trasplantados para la biorremediación de una zona experimental en el bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash	59
V. DISCUSIÓN	69
VI. CONCLUSIONES	76
VII. RECOMENDACIONES	77
VIII. REFERENCIAS.....	78
ANEXOS.....	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ubicación georeferencial y altitud de puntos de muestreo en bofedales 1 y 2 en la Subcuenca Pachacoto, Cátac, en Áncash 2021.....	28
Tabla 2. Concentración (mg/kg) de metales pesados en el agua, turba , tejido radicular y aéreo de <i>D. muscoides</i> en el bofedal 1, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021.....	50
Tabla 3. Concentración (mg/kg) de metales pesados en el agua, turba , tejido radicular y aéreo de <i>D. muscoides</i> en el bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021.....	51
Tabla 4. Comparación de la capacidad potencial de los cojines de <i>D. muscoides</i> de los bofedal 1 y 2 con base a los factores de bioacumulación y traslocación , Subcuenca Pachacoto,Cátac en Áncash.....	52
Tabla 5. Concentración promedio de metales pesados y arsénico en la turba y tejidos de cojines de <i>D. muscoides</i> trasplantados y no trasplantados para la biorremediación de una zona experimental en el bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash.....	60
Tabla 6. Factores de bioacumulación y capacidad potencial de cojines de <i>D. muscoides</i> trasplantados y no trasplantados para la biorremediación de una zona experimental en el bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash.....	62
Tabla 7. Comparación de la capacidad potencial para la biorremediación de los cojines de <i>D. muscoides</i> trasplantados y no trasplantados en una zona experimental en el bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash.....	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de los bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Parque Nacional Huascarán, Cátac, Áncash, 2021 (INAIGEM, 2021).....	29
Figura 2. Señalización de la zona B del bofedal 1, Subcuenca Pachacoto, Cátac. Áncash 2021.....	520
Figura 3. Medición del pH en el agua en la zona B del bofedal 1, Subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.....	320
Figura 4. Obtención de muestra de sedimento del cuerpo de agua de la zona B del bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2022.....	3735
Figura 5. Acondicionamiento de muestra de sedimento del cuerpo de agua de la zona B del bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2022...3735	
Figura 6. Obtención de la disolución de sulfato de sodio, Pimentel 2022.....	3836
Figura 7. Enriquecimiento del sedimento de cuerpo de agua con papel higiénico, Pimentel 2022.....	3836
Figura 8. Enriquecimiento del sedimento de cuerpo de agua con sales de calcio, Pimentel 2022.....	3937
Figura 9. Mezcla de sedimento de cuerpo de agua enriquecido y no enriquecido, Pimentel 2022.....	37
Figura 10. Acondicionamiento de mezcla de sedimento de cuerpo de agua enriquecido y no enriquecido en probeta, Pimental 2022.....	38
Figura 11. Columnas de Winogradsky para la detección de bacterias sulfatorreductoras en el sedimento de cuerpos de agua del bofedal 1, Pimental 2022.....	4038
Figura 12. Columnas de Winogradsky para la detección de bacterias sulfato reductoras en el sedimento de cuerpos de agua del bofedal 2, Pimentel 2022.....	41
Figura 13. Cultivos de bacterias sulfato reductoras en medio Postgate C más etanol, Pimentel 2022.....	431
Figura 14. Área BOF2 – BT delimitada en el bofedal 2 impactado con drenaje ácido de roca, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021.....	453

- Figura 15.** Espejo de agua observado entre los cojines de *D.muscoides* en el bofedal 1 sin aparente impacto de drenaje ácido de roca, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021.....453
- Figura 16.** Cobertura de *D. muscoides* en un cojín del área BOF1-BT en el bofedal 1 sin aparente impacto de drenaje ácido de roca, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021.....464
- Figura 17.** Rectángulo de cojín de *D. muscoides* extraído de zona B1-AT, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021.....46
- Figura 18.** Rectángulos de cojines de *D.muscoides* acondicionados en bolsas de polietileno, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021.....486
- Figura 19.** Trasplante de rectángulos de cojín de *D. muscoides* en el área BOF2-BT, Subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.....486
- Figura 20.** Monitoreo de la adaptación de los cojines de *D. muscoides*, (a) primeo, (b) 2 segundo (c) 3 tercero, (d) 4 cuarto, (e) 5 quinto, (f) 6 sexto, (g) 7 séptimo y (h) 8 octavo en la zona BOF2-BT, subcuenca Pachacoto, 7Cátac, Áncash 2021.....497
- Figura 21.** Temperatura y pH promedio del agua de los bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.....52
- Figura 22.** Temperatura y pH promedio de la turba de cojines de *D.muscoides* extraídos de los diferentes sitios de muestreo de los bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.....52
- Figura 23.** Coloraciones anaranjado (a), rojiza (b,c) y blanco (d), en las columnas de Winogradksy, Pimentel 2022.....56
- Figura 24.** Coloraciones verde (a) y verde-amarillenta (b), gas (c) y turbidez (d) en las columnas de Winogradsky, Pimentel 2022.....57
- Figura 25.** Ennegrecimiento observado en la columna de Winogradsky del sedimento de cuerpo de agua del bofedal 1 sin aparente impacto de DAR, Pimentel 2022.....58
- Figura 26.** Ennegrecimiento observado en la columna de Winogradsky del sedimento de cuerpo de agua del bofedal 2 con impacto de DAR, Pimentel 2022.....58
- Figura 27.** Aspecto de zona experimental en proceso de biorremediación en el bofedal 2 durante los monitoreos 1(a), 2 (b), 3 (c) y 4 (d), Áncash.....62
- Figura 28.** Aspecto de zona experimental en proceso de biorremediación en el bofedal 2 durante los monitoreos 5(a), 6 (b), 7 (c) y 8 (d), Áncash....62
- Figura 29.** Variación de la temperatura del agua a la entrada y salida de la zona experimental con cojines de *D. muscoides* trasplantados para la biorremediación en el bofedal 2 , Subcuenca Pachacoto, Cátac Áncash.....64

Figura 30. Variación del pH del agua a la entrada y salida de la zona experimental con cojines de *D. muscoides* trasplantados para la biorremediación en el bofedal2 , Subcuenca Pachacoto, Cátac Áncash.....64

AGRADECIMIENTO

Valga esta oportunidad para agradecer muy profundamente al INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION EN GLACIARES Y ECOSISTEMAS DE MONTAÑA quien ha permitido la realización de esta investigación científica cumpliendo con los estándares, requisitos y fines de la entidad, en beneficio de la población, no solamente por su generosa subvención económica sin la cual no habría podido llevarse a cabo este modesto trabajo, sino también por la dedicación, paciencia y guía de la excelente plana profesional de asesores y coasesores quienes con sus conocimientos y experiencias expresadas en opiniones, orientaciones y correcciones precisas no hubiera podido llegar a culminar esta instancia tan anhelada. Gracias por su guía y todos sus consejos, los llevaré grabados para siempre en la memoria en mi futuro profesional.

RESUMEN

El retroceso de los glaciares andinos expone el mineral sulfurado, que al oxidarse genera el drenaje ácido de roca, DAR. Se investigó el potencial de *Distichia muscoides* en la biorremediación de un bofedal impactado con DAR en la subcuenca Pachacoto, distrito Cátac, región Áncash. Se realizó la comparación de las características del agua, turba, tejido radicular y aéreo de *D. muscoides* y la presencia de bacterias sulfato reductoras en el sedimento de cuerpos de agua de dos bofedales 1 (sin aparente impacto de DAR) y 2 (con impacto de DAR), así como también se comparó el potencial de biorremediación con base a los factores de bioacumulación y traslocación de metales en la turba y cojines de *D. muscoides* trasplantados y no trasplantados. En el agua, turba, tejido radicular y aéreo de *D. muscoides* de los bofedales 1 y 2 se cuantificaron los metales Al, Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn y se evidenció la presencia de bacterias sulfato reductoras, condición que calificó a ambos bofedales como impactados por DAR. Los cojines de *D. muscoides* sin y con trasplante demostraron potencial de biorremediación en el área experimental del bofedal 2. El factor de bioacumulación calificó los cojines de *D. muscoides* trasplantados como acumuladores de Cr, Fe, Mn, Zn y As y a *D. muscoides* no trasplantados como acumuladores de Al, Mn y Cu. El factor de traslocación calificó a los cojines de *D. muscoides* trasplantados como fitoextractores de Cr, Fe, Al, Mn y As y fitoestabilizadores de Pb y Cu en comparación con los cojines no trasplantados que fueron fitoextractores de Al, Mn y Cu y fitoestabilizadores de Cr, Fe, As, Zn y Pb. Se demostró la adaptación

y la acumulación de metales pesados en el tejido radicular y aéreo de *D. muscoides* trasplantada en el bofedal con mayor impacto de DAR.

Palabras clave: Biorremediación, bofedal, drenaje ácido de roca, *Distichia muscoides*, metales pesados

ABSTRACT

The retreat of the Andean glaciers exposes the sulphide mineral, which, when oxidized, generates acid rock drainage, DAR. The potential of *Distichia muscoides* in the bioremediation of a wetland impacted with ARD in the Pachacoto sub-basin, Cátac district, Áncash region was investigated. A comparison was made of the characteristics of the water, peat, root and aerial tissue of *D. muscoides* and the presence of reducing sulfate bacteria in the sediment of water bodies of two bogs 1 (without apparent impact of DAR) and 2 (with impact of DAR), as well as the potential of bioremediation based on the factors of bioaccumulation and translocation of metals in the peat and cushions of transplanted and non-transplanted *D. muscoides* was compared. In the water, peat, root and aerial tissue of *D. muscoides* from bofedales 1 and 2, the metals Al, Cd, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn were quantified and the presence of reducing sulfate bacteria was evidenced, a condition that qualified both bofedales as impacted by DAR. The cushions of *D. muscoides* without and with transplantation demonstrated bioremediation potential in the experimental area of bofedal 2. The bioaccumulation factor qualified the transplanted cushions of *D. muscoides* as accumulators of Cr, Fe, Mn, Zn and As and *D. muscoides* not transplanted as accumulators of Al, Mn and Cu. The translocation factor qualified transplanted *D. muscoides* cushions as Cr, Fe, Al, Mn, and As phytoextractors and Pb and Cu phytostabilizers compared to non-transplanted cushions that were Al, Mn, and Cu

phytoextractors and Pb and Cu phytostabilizers. Cr, Fe, As, Zn and Pb. The adaptation and accumulation of heavy metals occurred in the root and aerial tissue of *D. muscoides* transplanted in the bofedal with the highest ARD impact.

Keywords: Bioremediation, wetland, acid rock drainage, *Distichia muscoides*, heavy metals

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú, la Reserva de Biósfera Huascarán es un patrimonio natural, ubicado en la región Áncash, con una superficie de 1 155 800 ha y comprende la zona núcleo o Parque Nacional Huascarán (PNH), la zona de amortiguamiento y la zona de transición. En el PNH se encuentra la mayoría (95 %) de la cordillera Blanca (Hirsh, 2016), que concentra la superficie glaciaria más grande a nivel nacional (Ministerio del Ambiente [MINAM], 2016). En el período 1962-1970, la cordillera Blanca presentaba 722 glaciares, que ocupaban 723,4 km² (Organización de las Naciones Unidas para la Educación [UNESCO], 2018); no obstante, en el 2016 el área glaciaria disminuyó a 448,81 km², valor que evidencia 38,2 % de reducción, con una pérdida de 277,45 km² (Instituto Nacional de Investigación en Glaciares y Ecosistemas de Montaña [INAIGEM], 2018).

Los ecosistemas del PNH estabilizan el suelo, almacenan y abastecen agua y constituyen hábitats para la fauna y flora (Hirsh, 2016); sin embargo, son impactados por diversos factores, como el calentamiento global, que acelera la desglaciación (UNESCO, 2018). El ejemplo emblemático es lo sucedido con el glaciar Pastoruri, ubicado en la cabecera de la subcuenca del río Pachacoto, distrito Cátac, provincia Recuay, en la región Ancash, que desde 1975 a 2016 ha perdido el 60 % de su superficie, con un retroceso de 610 m en su frente glaciario (Autoridad Nacional del Agua [ANA], 2018).

En el Perú, el mayor potencial hídrico está en las cuencas de los ríos Santa, Marañón, Inambari y Urubamba, las dos primeras ubicadas en la cordillera Blanca y las de Inambari y Urubamba en las cordilleras Vilcanota y Vilcabamba respectivamente, que en el 2003 perdieron 58,85 y 33,23 % de su superficie glaciar respectivamente en comparación con 1970 (MINAM, 2016). Los glaciares occidentales de la cordillera Blanca alimentan el río Santa, en el que se ha demostrado presencia de metales pesados, con valores que superan los Límites Máximos Permisibles (LMP) de los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua, como consecuencia de los procesos naturales de erosión glaciar, meteorización de las rocas y erosión pluvial, además de la actividad antrópica (Hirsh, 2016; Álvarez y Amancio, 2014).

La escasez de agua es uno de los problemas más importantes de la región andina. Muchos valles andinos son impactados por la sequía estacional y es vital la escorrentía glaciar para satisfacer sus requerimientos. El retroceso de los glaciares favorece la formación de DAR y genera escasez de agua para el consumo, además del deterioro de los ecosistemas de montaña o región sierra que abarca 30 millones de ha y representa el 20 % de la superficie total cultivable del Perú (Schoolmeester et al, 2018; Bernex y Tejada, 2010).

El retroceso de los glaciares andinos expone el material rocoso, que generalmente contiene mineral sulfurado (pirita) y que al oxidarse y lixiviarse genera el drenaje ácido de roca (DAR) con pH ácido y elevada concentración de metales, que impactan los cuerpos de agua y ecosistemas (Luna, 2018). Los drenajes ácidos de roca (DAR) así como los drenajes ácidos de mina (DAM) de socavones de mina, son frecuentes en las cabeceras de las cuencas, donde afectan el agua y los seres vivos presentes (Hirsh, 2016). El proceso de formación del DAR y DAM se inicia cuando los minerales sulfurosos son expuestos al oxígeno atmosférico, se vuelven inestables y se oxidan (The International Network for Acid Prevention [INAP], 2014).

La oxidación de la pirita que es el principal mineral responsable de la generación del DAR requiere oxígeno y agua, además para la aceleración de la reacción requiere la participación de la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Durante la oxidación se generan sulfatos, ion ferroso y la acidez para que el ion se mantenga estable y sea oxidado hasta sulfato férrico. Éste puede oxidar más pirita hasta sulfato ferroso, en una reacción más rápida y con mayor acidez que

cuando participa el oxígeno. Las reacciones de neutralización también influyen en el DAR. La mayoría de los minerales de carbonato se disuelven rápidamente; sin embargo, la hidrólisis del hierro o del manganeso, que se genera después de la disolución de su respectivos carbonatos y posterior precipitación, puede generar acidez (INAP, 2014).

Los metales del DAR se originan de la oxidación de los sulfuros y la disolución de los minerales consumidores de ácido. En el DAR el pH es ácido, la concentración de sulfatos es elevada y el hierro (Fe) y el aluminio (Al) son los principales metales disueltos, aunque los metales trazas como el plomo (Pb), zinc (Zn), cobre (Cu), cadmio (Cd), manganeso (Mn), cobalto (Co) y níquel (Ni) también pueden alcanzar altas concentraciones (INAP, 2014). El sulfato reacciona con el hidrógeno del agua y forma ácido sulfúrico. Por su tejido, el ión férrico se une con el agua para formar hidróxido de hierro, que es de color rojo. Ambos compuestos generados son tóxicos para la vida acuática y seres humanos (Zimmer et al., 2018).

Los metales pesados son contaminantes persistentes, se bioacumulan, no son biodegradables y presentan elevada toxicidad aún en baja concentración, por lo que afectan a plantas, animales y humanos (Pabón et al., 2020). Tienen la capacidad de persistir en los ecosistemas por un largo periodo y acumularse en niveles superiores de la red trófica (Akport y Muchie, 2010). La contaminación por metales es un problema recurrente en el Perú (Chang Kee et al., 2018). Para la remediación del DAR puede obtenerse por la biorremediación que reduce los contaminantes del ambiente y se puede utilizar para limpiar suelos o aguas impactados (Garzón et al., 2017) no obstante, debido a la complejidad de las comunidades vegetales, antes de su utilización se requiere analizar la factibilidad técnica, ecológica y económica, considerando las condiciones del ecosistema dañado y las posibilidades de aplicación (Garzón et al., 2017).

El uso de grupos vegetales con potencial biorremediador y que han sido utilizadas para el tratamiento de drenajes de relaves y desmontes mineros, se encuentran las familias Poaceae, Cyperaceae, Juncaceae y Plantaginaceae (Palomino, 2007). Las especies vegetales como *Distichia muscoides* y *Juncus bufonius*, se clasifican como hiperacumuladoras, tienen la capacidad de bioconcentración de plata, aluminio, arsénico, boro, hierro, cadmio, cromo, cobre

y plomo (Palomino, 2007; Nájuez, 2016; Medina et al., 2013; Chang Kee et al., 2018) y son eficientes en la remoción de metales pesados (Zimmer et al., 2018);

El problema de la investigación fue: ¿Cuál es el potencial de *Distichia muscoides* en la biorremediación de un bofedal impactado con drenaje ácido de roca en la subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash? La hipótesis fue: *D. muscoides* tiene potencial para biorremediar un bofedal impactado con drenaje ácido de roca en la subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash. El objetivo general fue: Determinar el potencial de *Distichia muscoides* en la biorremediación de un bofedal impactado con drenaje ácido de roca, en la subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash.

Los objetivos específicos de la investigación fueron: Comparar las características del agua, turba, tejido radicular y aéreo de *D. muscoides* y la presencia de bacterias sulfato reductoras en el sedimento de cuerpos de agua de dos bofedales denominados 1 (sin aparente impacto de DAR) y 2 (con impacto de DAR), en la subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash, así como también comparar el potencial de biorremediación con base a los factores de bioacumulación y traslocación de metales en la turba y cojines de *D. muscoides* trasplantados y no trasplantados para la biorremediación de una zona experimental en el bofedal 2 subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Morales (2019) investigó la absorción y acumulación de metales pesados en épocas de estiaje y lluvia. Se realizaron muestreos de agua, suelo y plantas, se cuantificaron As, Mn, Pb y Zn y se calcularon los factores de bioacumulación (FBA) y traslocación (FBT). En el agua, suelo y plantas los valores de los metales pesados superaron los LMP. Los FBA y FBT oscilaron entre 0,01-0,95 a excepción de *D. muscoides* cuyo rango fue de 0,42-1,07 (As) y FBT cuyo rango fue de 0,26-1,67(As); 0,19-1,17 (Mn); 3,54-4,61 (Pb) y 0,93-5,0 (Zn). Se concluyó que *J. articus* y *D. muscoides* son plantas excluyentes y *D. muscoides* es más eficiente en la traslocación de los metales pesados.

Chang Kee et al. (2018) estudiaron la capacidad para acumular metales de nueve plantas nativas, bajo condiciones controladas, en Áncash. Las plantas se colectaron en áreas impactadas por la minería y suelo acidificado de forma natural. *Achyrocline alata*, *Calamagrostis recta*, *Cortaderia jubata*, *Festuca glyceriantha* y *Stipa ichu* se propagaron mediante semillas y *Juncus bufonius*, *Medicago lupulina*, *Pennisetum clandestinum* y *Werneria nubigena* mediante esquejes. Transcurridos 5 meses se cuantificaron el Cd, Cu, Ni, Pb y Zn en las raíces, follaje y suelo y se calcularon los FBA y FT. Las mayores concentraciones de metales se encontraron en el follaje de *W. nubigena*, *P. clandestinum* y *M. lupulina* y en las raíces de *J. bufonius* y *M. lupulina*. Los

mayores FT (>1) con *W. nubigena*, *A. alata*, *J. bufonius* y *P. clandestinum*. Se demostró que estas especies pueden ser utilizados para la fitorremediación de suelo, por su capacidad de acumular y transferir metales pesados.

Zimmer et al. (2018) evaluaron dos sistemas de biorremediación para la mitigación de los efectos del DAR en la cordillera Blanca, Áncash. En humedales de la Comunidad Campesina Olleros, subcuenca del río Negro y del Comité de Usuarios de Agua Shallap-Huapish-Tocllao, microcuenca Auqui, se implementó el sistema con un área potencial de riego de 110-173 ha. En la subcuenca del río Negro se trasplantó *J. arcticus* y en la microcuenca Auqui se propagaron y trasplantaron: *C. ligulata*, *C. ovata*, *J. arcticus*, *J. bufonius* y *Distichia sp.* Se recuperaron 40 ha del sistema de riego y se incrementó la producción de pastos cultivados con el agua del sistema de biorremediación, así como también se logró la multiplicación de las plantas trasplantadas y nuevas especies no trasplantadas, con potencial para la biorremediación. En Shallap – Huapish-Toclla el sistema no empezó a funcionar porque se decidió construir dos reservorios para el almacenamiento del agua tratada. Se demostró la eficiencia de la metodología participativa en la remediación del agua contaminada con DAR.

Jara et al. (2017) investigaron los metales pesados en *C. rigida* y *M. quitense*, desarrolladas en cuatro humedales altoandinos en Lima y Cerro de Pasco. Las plantas se colectaron en los bordes y dentro de la laguna. Los metales en los tejidos vegetales se cuantificaron por espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado y se calcularon los factores de bioacumulación (FBC) y factor de traslocación (FBT). Las mayores concentraciones de Cd (7,93 mgkg⁻¹MS), Cu (96,43 mgkg⁻¹MS), Pb (160,15 mgkg⁻¹MS) y Zn (597,4 mgkg⁻¹MS) correspondieron a las raíces de *C. rigida*. En los tejidos de *M. quitense* se determinaron las menores concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn y esta especie se consideró como bioindicadora de contaminación del agua con metales pesados. Se concluyó que ambas especies tienen potencial como fitoestabilizadoras porque la mayor concentración de los contaminantes metálicos se determinó en las raíces, en comparación con la biomasa aérea.

Becerril et al. (2017) investigaron los aspectos ecofisiológicos y el potencial para la fitorremediación en especies de suelos contaminados con metales en las escombreras de una mina abandonada. Se colectaron ejemplares de cada

especie vegetal y suelo radicular para cuantificar los metales. Se identificaron *Festuca rubra*, *Agrostis capillaris* y *Pteridium aquilinum* como especies pseudometalofitas con un mínimo contenido de metales en sus tejidos. Las especies vegetales hipertolerantes en suelos con elevados concentración de metales fueron *Thlaspi caerulescens*, *Jasione montana*, *Rumex acetosa* y *Festuca rubra*. La especie *T. caerulescens* se caracterizó como hiperacumuladora de Zn ($14000 \text{ mgkg}^{-1} \text{ MS}$). En *R. acetosa* provenientes de suelos contaminados (LAN) y no contaminados (ILAR) sembrados en un sustrato artificial contaminado con Pb (500 mgkg^{-1}), Zn (250 mgkg^{-1}) y Cd (1 mgkg^{-1}) se demostró mayor tolerancia a los metales en las plantas de grupo LAN en las que se registró mayor actividad fotosintética, conductividad estomática, concentración de pigmentos fotosintéticos, biomasa foliar y radicular. Se concluyó que *R. acetosa* tiene potencial para su utilización en la fitoextracción de metales.

Bobadilla et al. (2013) investigaron la capacidad de bioacumulación de metales en *C. ligulata* y *J. imbricatus* en la cordillera Negra y Blanca de los Andes Centrales en Áncash, donde la contaminación procedía de la extracción de Pb, Zn, Ag y Cu. Las plantas con potencial de biorremediación se seleccionaron con base a su abundancia en el área muestreada y se utilizó la escala "Braun Blanket" para evaluar la vegetación emergente, con valores de 1<5%, 2=5-25%, 3=25-50%, 4=50-75% y 5 =75-100%. En este contexto, *C. ligulata* y *J. imbricatus* alcanzaron la escala 5 con 90% y escala 4 con 60%, respectivamente. *J. imbricatus* alcanzó mayores factores de acumulación (FBC) que *C. ligulata* en las estaciones lluviosa y seca y en ambas especies el mayor valor correspondió al As seguido del Pb y Al. En la estación lluviosa *C. ligulata* presentó tasas de acumulación de $\text{Zn} > \text{Fe} > \text{As}$ y *J. imbricatus* acumuló $\text{Fe} > \text{Zn} > \text{Pb}$. En la estación seca *C. ligulata* acumuló $\text{Zn} > \text{Fe} > \text{Al}$ y *J. imbricatus* acumuló $\text{Fe} > \text{Zn} > \text{As}$. Se demostró que *J. imbricatus* y *C. ligulata* presentan potencial para la remediación de lugares contaminados con metales pesados.

2.2 Base teórica

2.2.1 Cambio climático: riesgo climático

El clima es un sistema con cinco componentes: atmósfera, hidrósfera, criósfera, superficie terrestre y biósfera. La variabilidad climática se define como

las fluctuaciones relativamente pequeñas del clima. El cambio climático es un fenómeno dinámico caracterizado por olas de enfriamiento y calentamiento, cuya contemporaneidad es la de la Tierra. Desde 1960 la temperatura aumentó en los cinco continentes (Bernex y Tejada, 2010). El efecto invernadero es cuando los gases de la atmósfera retienen la energía que el suelo emite y no permiten que regrese al espacio (Portocarrero, 2009). Los gases con efecto invernadero son el vapor de agua, dióxido de carbono, metano, óxidos de nitrógeno, ozono y clorofluorocarbonados (CFCI3). A excepción de los CFCI3, todos estos gases son naturales; no obstante, el uso intensivo de los combustibles fósiles ha incrementado en forma notable los óxidos de nitrógeno y el dióxido de carbono. (Schoolmeester et al., 2018)

Los glaciares son masas de hielo formadas por la precipitación atmosférica de nieve, granizo, hielo granulado y bolillas de nieve acumuladas con el tiempo, en las cumbres de las cordilleras (igual o menos de 0°C). Los glaciares son muy dinámicos y generan procesos de erosión, transporte y sedimentación con base al desplazamiento del hielo (Kargel et al., 2014). Para que se mantengan los glaciares la pérdida de su masa debe ser menor a la acumulada en las nevadas (Bernex y Tejada, 2010). Un glaciar es una masa de hielo gruesa que fluye lentamente por efecto de la gravedad y en el que se distinguen la zona de acumulación superior y la zona de ablación donde se pierde más masa del glaciar que la que se gana con las nevadas. La ablación es consecuencia del deshielo, erosión por el viento y los desprendimientos frontales (Lliboutry, 1973). Los glaciares son muy sensibles a los cambios ambientales y climáticos. A mayor incremento de la temperatura, desaparece la cubierta de nieve, aumenta la absorción de la radiación por el suelo descubierto (oscuro), se incrementa el calentamiento y como consecuencia el deshielo (Schoolmeester et al., 2018).

Los Andes son la cordillera continental que atraviesa siete países y abarca los Andes septentrionales (montañas de Venezuela, Colombia y Ecuador), los Andes Centrales (montañas del Perú y Bolivia) y los andes meridionales (montañas de Chile y Argentina). Los Andes septentrionales y los Andes centrales forman los Andes Tropicales que se extienden desde su punto más septentrional (islas elevadas en el Caribe) hasta la frontera de Bolivia. Los glaciares de los Andes tropicales constituyen más del 95 % de los glaciares

tropicales del mundo y la mayoría de los glaciares tropicales están en los Andes peruanos (Schoolmeester et al., 2018).

El Perú tiene el 71 % de los glaciares tropicales del mundo. La distribución de las cordilleras de nevados en el Perú es en el norte (cordilleras Blanca, Huayhuash y Huallanca en Ancash, Huánuco y Lima y cordillera Raura en Lima, Huánuco y Pasco), en el centro (Cordilleras La Viuda o Central en Lima, Junín y Huancavelica, cordillera Huaytapallana en Junín y cordillera Chonta en Huancavelica), en el sureste (cordilleras de Vilcabamba, Urubamba, Vilcanota y La Raya en Cusco y Puno y cordilleras de Apolobamba y Carabaya en Puno) y en el suroeste (Cordillera Huanzo en Arequipa, Apurímac, Ayacucho y cordilleras Volcánica y Shila en Arequipa). La cordillera Blanca tiene 192 glaciares con una extensión de 215,85 km². Entre 1980 y 2006 esta cordillera perdió 33 % de su superficie (9,3 km² por año). Entre 1995 y 2007 el Pastoruri perdió 40 % de su superficie. En los Andes Peruanos se ha calculado una reducción de la superficie glaciar o retroceso de 10-40 % (Bernex y Tejada, 2010).

Los glaciares tropicales del mundo se encuentran en América del Sur, México, África y Papúa, con las cimas más altas de las montañas (5000 m tiene una temperatura inferior a 32,5 °C); no obstante, desde el 2000 la caída de nieve ha sido menos abundante y la evaporación aumenta favorecida por la irradiación solar. Como consecuencia, los glaciares pierden masa en el denominado retroceso glaciar (Bernex y Tejada, 2010). En el siglo XX en países de los Andes tropicales como Perú, Ecuador, Colombia y Venezuela la temperatura media anual incrementó 0,8 °C y la altitud de la cota de congelación también aumentó 45 m en promedio. La caída de nieve mostró una tendencia a la disminución con el aumento de la temperatura, especialmente en la parte central y vertientes orientales de los Andes. El rápido retroceso de los glaciares andinos está asociado con el cambio climático antropogénico. Esta situación es muy preocupante porque el agua del deshielo de los glaciares es vital en la región de los andes tropicales y representa el 67 % del suministro de agua en Huaraz en un año normal y el 9 % en un año con sequía (Schoolmeester et al., 2018).

Los glaciares son los mejores reservorios de agua para los seres vivos. La presencia del agua es indispensable para la vida de humanos, animales y plantas; no obstante, sólo el 2,6 % del agua del planeta es dulce y 75% de ella se encuentra en los polos. La costa del Perú (11 % del territorio) concentra el 52

% de la población y solo cuenta con el 2 % del total de agua disponible en el país. El retroceso de los glaciares a nivel nacional disminuirá la disponibilidad de agua, incrementará la desertificación, los insectos-plaga y las enfermedades en los cultivos agrícolas e impactará con severidad las actividades económicas y salud de los humanos. El retroceso de los glaciares en la cordillera Blanca afectará la generación de la hidroelectricidad de la central hidroeléctrica del Cañón del Pato, con graves consecuencia para la economía nacional (Schoolmeester et al., 2018; Bernex y Tejada, 2010).

El agua es el elemento clave de los glaciares y de los ecosistemas de montaña. Los glaciares acumulan el agua y proveen este elemento a los ecosistemas de montaña y a su vez éstos mediante la evapotranspiración devuelven el agua en forma de nubes y neblinas que ascienden y precipitan nuevamente sobre los glaciares (Ocaña, 2017). Los cambios en la cultura del agua además de la modificación del uso y la tecnología, implican retomar elementos culturales que permitan el manejo sostenible en un país que tiene la costa con características de un desierto, una región andina que además de la deglaciación utiliza el agua sin recuperarla para el ciclo hidrológico por el abandono de las prácticas culturales y una selva con la capacidad disminuida para conservar el agua por la tala indiscriminada de los bosques (Bernex y Tejada, 2010).

El cambio climático ocasionado por la quema de combustibles fósiles, deforestación y algunos productos agrícolas que favorecen el incremento de los gases de efecto invernadero es responsable del retroceso glaciar por lo que se requiere urgente la gestión integrada de los recursos hídricos (GIRH). La GIRH se define como "el proceso que promueve el manejo y desarrollo del agua suelo y los recursos relacionados para maximizar el bienestar social y económico resultante, sin comprometer la sostenibilidad de los ecosistemas vitales". A pesar del significativo retroceso de los glaciares, la cordillera Blanca cuenta con 20 nevados de más de 6 000 m.s.n.m, lo que significa que aún se puede tomar medidas para disminuir el impacto negativo del cambio climático (Bernex y Tejada, 2010).

En el Perú, el Instituto Nacional de Investigación en Glaciares y Ecosistemas de Montaña (INAIGEM) creado por el Ministerio del Ambiente (Ley N° 30286, 15 de diciembre de 2014) es el ente rector en los temas de glaciares

y ecosistemas de montaña. Su finalidad es fomentar y expandir la investigación científica y tecnológica en el ámbito de los glaciares y ecosistemas de montaña en beneficio de las poblaciones.

2.2.2. Drenaje ácido de roca

Al drenaje producto de la oxidación del mineral sulfuroso se le denomina drenaje ácido de roca (DAR), drenaje ácido de mina (DAM), drenaje metalífero ácido, agua influenciada por minería, drenaje salino y drenaje neutro de mina. El DAR se forma por la oxidación natural de los minerales sulfurosos expuestos al aire y el agua por efecto de la deglaciación o la minería. El drenaje formado puede ser neutro ó ácido, con o sin metales pesados disueltos, pero siempre con una elevada concentración de sulfatos. La formación de DAR es continua y se detiene solo cuando se terminan los minerales sulfurosos, el oxígeno o el agua (INAP,2014).

El drenaje ácido de roca (DAR) es el contaminante generado por la oxidación de los minerales sulfurosos expuestos al aire y agua. Se caracteriza por el pH ácido (1,5 a <5), concentración elevada de sulfatos, metales disueltos de forma prioritaria Fe, Mn y Al y un color rojizo por la alta concentración de Fe oxidado (Luna, 2018). Los metales Fe y Al son los principales metales disueltos en el DAR, aunque también se puede encontrar Cu, Pb, Zn, Cd, Mn, Co y Ni (INAP,2014). El DAR se forma cuando los minerales sulfurosos son expuestos al oxígeno atmosférico o a las aguas oxigenadas. En su mayoría el DAR proviene de la oxidación del mineral sulfurado pirita (FeS_2) que genera Fe^{+2} , sulfato e hidrógeno. Además el óxido ferroso (Fe^{2+}) en aerobiosis se oxida a óxido férrico (Fe^{+3}). Las bacterias aumentan la tasa de oxidación y la hidrólisis y precipitación de hidroxiaácidos de Fe favorece la acidez. Si el pH es menor de 2 los productos de la hidrólisis férrica como el $\text{Fe}(\text{OH})_3$ no son estables y el Fe^{+3} permanece en solución. Por su parte, el sulfato (SO_4^{2-}) reacciona con el hidrógeno y agua y forma ácido sulfúrico, que disuelve la roca (La Matta, 2020):

En presencia de oxígeno y agua la pirita se oxida en forma directa, reacción que puede ser acelerada por la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* que oxida el Fe^{+2} a Fe^{+3} . Asimismo, la pirita puede ser disuelta y luego oxidada, en su mayoría con el oxígeno como aceptor de electrones, pero también el Fe^{+3} puede oxidarla. Esta reacción es más rápida y genera más acidez; sin embargo, se requieren cantidades significativas de Fe^{+3} , así como también condiciones

ácidas y oxígeno para que *A. ferrooxidans* oxide el Fe^{+2} hasta Fe^{+3} . El Fe^{+2} resultante puede ser removido de la solución mediante la oxidación seguida de la hidrólisis y formación de hidróxido de Fe (INAP, 2014).

La pirita, así como marcasita, pirrotita y enargita son sulfuros cuya proporción metal: sulfuro <1 y su oxidación genera acidez. La tendencia de una roca a generar acidez está en función del balance entre los minerales sulfurosos productores de acidez y los minerales alcalinos consumidores de acidez. Los sulfuros con una proporción metal: sulfuro $=1$ como la esfalerita, galena y calcopirita generalmente no producen acidez en aerobiosis. La mayoría de los minerales de carbonato se disuelven en forma rápida y son consumidores de acidez (INAP, 2014).

2.2.3 Metales pesados

Los metales pesados son aquellos metales y metaloides tóxicos que presentan una densidad atómica mayor de 6 g cm^{-3} , no son biodegradables y se bioacumulan o se biomagnifican. Se consideran metales pesados el cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr) manganeso (Mn), zinc (Zn), plomo (Pb), mercurio (Hg) y cadmio, Cd (Pinto et al., 2015). La presencia de metales pesados en los diversos ambientes además de la desglaciación es consecuencia de múltiples factores como la erosión, depósitos atmosféricos, procesos industriales, aguas residuales, actividades agrícolas y emisiones de vehículos. Los metales pesados constituyen indicadores de la calidad ecológica de un ecosistema debido a su toxicidad, sin embargo, pueden estar presentes aunque la concentración no sea lo suficientemente elevada para alcanzar nivel no permitido (Custodio et al., 2019).

Marrugo et al. (2020) evaluaron el sedimento de un río impactado por la actividad minera, cuantificaron $\text{Cu} > \text{Cd} > \text{Zn} > \text{Ni} > \text{Pb} > \text{As} > \text{Hg}$, todos procedentes del proceso de extracción de oro y los valores máximos fueron de $16,227 \text{ ug/g}$ (Cd); $13,843 \text{ ug/g}$ (Zn); $11,7 \text{ ug/g}$ (Pb) y 860 ug/g (Cu). Por su parte, Custodio y Peñaloza (2021) investigaron la distribución de metales pesados y arsénico en el agua, sedimentos y vegetación acuática de humedales de los Andes Centrales del Perú (Junín) y en el sedimento determinaron $\text{Fe} > \text{Zn} > \text{Pb} > \text{As}$; en el agua $\text{Zn} > \text{Fe} > \text{Pb} > \text{As}$ y en *Schoenoplectus californicus* (junco o totora) $\text{Zn} > \text{Fe} > \text{Pb} > \text{As}$. En los sedimentos el Pb ($30,20 \text{ mg/kg}$) y el As ($7,24 \text{ mg /kg}$) y en el agua el Pb ($0,019 \text{ mg/L}$) superaron los límites establecidos por la normativa.

Custodio et al. (2019) investigaron los metales potencialmente tóxicos en las aguas superficiales de un área natural protegida en el lago Chinchaycocha de Junín, a 4 090 m.s.n.m y cuantificaron metales (Fe>Cu>Zn>Pb>Cr>Cd>As), no obstante, las concentraciones fueron mínimas y el agua fue calificada como “buena”. Por su parte, Custodio et al. (2021) cuantificaron los metales pesados en el agua y sedimentos de humedales naturales influenciados por la actividad antrópica en la región central del Perú. En los sedimentos cuantificaron Fe>Zn>Pb>Mn. Se concluyó que la elevada concentración de Pb (0,0117-0,0255 mg /kg), Zn (0,0793-0,0920 mg /kg) y As (0,0042-0,0251 mg/kg) en los cuerpos de agua es consecuencia de la actividad humana, las aguas residuales y las escorrentías agrícolas adyacentes a los humedales.

2.2.4 Bofedales: *D. muscoides*

Los bofedales son un tipo de humedales o formaciones vegetales que se encuentran en el fondo de las quebradas, en las pendientes o en los valles en la región alta de los Andes Tropicales (Gonzales et al., 2016; Meneses et al., 2015). Tipo de humedal altoandino que presenta vegetación hidromórfica y generalmente acumula turba. Saturado de agua estacional o permanentemente (MINAM, 2016). Están constituidos por turba que almacena el agua y la libera poco a poco (Hirsh, 2016). La turba o suelo orgánico contiene hasta 78 % de carbono y un grosor de más de 7 m (tipo histosol). Los bofedales con suelo de turba y tipo histosol (con abundante materia orgánica) crecen en forma continua (1 año) sobre los suelos orgánicos saturados de agua y forman praderas constituidas por grupos de cojines en forma de almohadillas laxas o compactas mezcladas con arroyos y ojos de agua (Meneses et al., 2015). En el Perú el término bofedales describe lugares con vegetación característica tipo almohadilla, que tienen capas de turba adyacentes (Maldonado, 2014).

El agua proviene de los ríos, lagunas, deshielo de glaciares, precipitaciones o las aguas subterráneas. Los bofedales dependen de las lluvias y de la infiltración glaciar y además de almacenar y purificar el agua retienen y remueven los sedimentos, porque la escorrentía es lenta y el agua se filtra en el suelo antes de reanudar el flujo en un nivel superior (Maldonado, 2014). Los bofedales pueden acumular metales pesados en su biomasa y por tanto mejoran la calidad del agua contaminada con DAR. El ambiente donde se desarrollan los

bofedales presenta condiciones de altitud y temperatura extremas por lo que el crecimiento de las plantas es muy lento y la descomposición de los vegetales muertos es mínima por lo que estos humedales posibilitan la acumulación de carbono. Asimismo, retienen metales, minimizan la erosión, constituyen un hábitat de aves (nidificación, apareamiento, alimentación) y fuente de alimentación para camélidos y ovinos. La principal función de los bofedales es la regulación del caudal de agua, recarga de los acuíferos, remoción de contaminantes y almacenamiento del agua de lluvia para que se convierta en un flujo constante de vertido en los ríos (Meneses et al., 2015).

En el distrito de Cátac (Áncash, Perú) se han reportado 56 humedales del tipo bosque húmedo montano tropical (tres perennes y cinco estacionales), páramo muy húmeda subandina tropical (12 perennes y 14 estacionales) y tundra pluvial andino tropical con 13 humedales perennes y 9 estacionales. Los humedales de la comunidad Campesina de Cátac al igual que la mayoría de la Reserva de Biósfera de Huascarán están afectados por las actividades humanas, así como también por las sequías (Hirsh, 2016).

La Ley General del Ambiente del Perú (Ley N° 28611), en su artículo 99 establece que los bofedales son ecosistemas frágiles por lo que deben ser áreas de protección de acuerdo con el Reglamento de Zonificación Ecológico-Económica Peruana (DS N° 087-2004-PCM, artículo 9); no obstante los humedades tienen una fuerte presión por la minería, los asentamientos humanos, quema de pastos, especies invasoras, extracción de turba, cambio climático, construcción de embalses, pastoreo, construcción de drenajes, botadero de residuos, actividad turística, aguas residuales y apertura de vías (Hirsh, 2016; Maldonado, 2014).

La vegetación de los bofedales corresponde a las familias Ciperaceae, Juncaceae, Poaceae, Plantagonaceae, Briophyteae y algunas Asteraceae (Hirsh, 2016). En los bofedales se han descrito plantas hidrófitas, turberas de *Distichia*, turberas de musgos y arbustos y praderas turbosas. Las turberas de *Distichia* spp. forman cojines duros en el centro y el sur del Perú. El principal componente de los bofedales en Sudamérica son las plantas del género *Distichia* Nees y Meyen (Gonzáles et al., 2016) que agrupa tres especies: *D. muscoides* (3600-5200 msnm, Colombia, Perú, Argentina, *D. acicularis* (Andes del Norte en Ecuador) y *D. filamentosa* restringida a la puna de Chile, Bolivia y Perú (Ramirez,

2012).

En los bofedales del Perú predomina *D. muscoides* Nees & Meyen (Juncaceae), así como también *D. acicularis* Balslev & Legaard en el norte del país (Maldonado, 2014). *D. muscoides* agrupa plantas perennes dioicas con flores unisexuales y forman almohadillas densas y duras que pueden alcanzar metros de diámetro (Gonzáles et al., 2016). Las plantas crecen en promedio 3 cm cada año y forman islas flotantes en los suelos pantanosos o crecen en los márgenes de los arroyos. Constituyen los llamados “Oconales” de la Puna (3900-4600 msnm). Las hojas de las plantas son muy pequeñas (3-7 mm) y muy comprimidas con el ápice calloso (Meneses et al., 2015).

En la altura de los andes (4100 msnm) predominan las plantas formadoras de cojines *D. muscoides* y *Plantago rigida*. Los cojines transportan oxígeno a las raíces y de esta manera posibilitan el crecimiento de las raíces en turbas sumergidas anóxicas. Esta adaptación permite una producción significativa de raíces y favorece la acumulación de materia orgánica a mayor profundidad en la turba. La producción de raíces por *D. muscoides* (2000-2800 $\text{gm}^{-2}\text{año}^{-1}$) es en promedio el doble de *P. rigida* (1030-1080 $\text{gm}^{-2}\text{año}^{-1}$). La biomasa de *P. rigida* (684-864 gm^{-2}) es aproximadamente 40 % más que *D. muscoides* (507-620 gm^{-2}). La productividad subterránea (como carbono) en estos ecosistemas es de 0,55-1,5 $\text{kg m}^{-2} \text{año}^{-1}$ y a estas especies les corresponde el 30 % del valor estimado (Suarez et al., 2022).

Las plantas de *D. muscoides* se reproducen de manera asexual. En los tallos ascendentes se forman las raíces que desarrollan ramas nuevas con similar fenotipo al de la rama principal. Las flores pistiladas tienen pedúnculos cortos y solo sobresalen los estigmas receptores a diferencia de las flores estaminadas que presentan pedúnculos largos y se observan encima de las almohadillas. La floración inicia en agosto y finaliza en noviembre, los frutos se observan entre enero y mayo. Los granos de polen pueden presentar hasta 100% de viabilidad y tienen forma y tamaño similar, adaptados para ser transportados por el vector viento. El número promedio de semillas por fruto es 25, con un tiempo promedio de germinación de 18,4 días (Gonzáles et al., 2016).

Las plantas de *D. muscoides* están amenazadas por el uso no controlado como forraje fresco por los camélidos y ovinos todo el año y como fuente de combustible para lo cual son quemados a pesar de constituir ecosistemas

sensibles y con alta fragilidad. Asimismo, las plantas son depredadas cuando se extraen para constituir sustrato para la propagación de otras plantas (Meneses et al., 2015; Gonzáles et al., 2016).

2.2.5 Fitorremediación

La biorremediación es el proceso en el que los entes biológicos: microorganismos, plantas o enzimas se utilizan para reducir o eliminar los contaminantes en el ambiente. En la biorremediación se distingue la degradación enzimática (enzimas de microorganismos naturales o modificados genéticamente), remediación microbiana (microorganismos del mismo sitio o de otros ecosistemas) y la fitorremediación o uso de plantas para acelerar la degradación de los contaminantes. Las tecnologías de fitorremediación son la rizofiltración, fitoestabilización, fitovolatilización, fitoextracción y fitodegradación o fitoestabilización. La tecnología más conocida es la fitoextracción en la que las raíces capturan los contaminantes, los traslocan y acumulan en los tejidos cosechables y luego éstas son llevadas a vertederos o son procesadas para recuperar los metales Pb, Cd, Cu, Cr, Ni y V (Montenegro et al., 2019).

En la fitoestabilización las plantas reducen la movilización y biodisponibilidad de los contaminantes en el ambiente así como también evitan su migración a las aguas subterráneas. Las plantas inmovilizan los metales pesados mediante la absorción por las raíces, precipitación, complejación o reducción de valencia. El problema es que la fitoestabilización no es una solución permanente puesto que los metales permanecen en el suelo (Luna, 2018).

Las plantas metalofitas son aquellas que se han adaptado y crecen en ambientes con metales pesados y pueden ser exclusoras, indicadoras e hiperacumuladoras de metales. Las plantas exclusoras acumulan metales en las raíces, pero no los transportan a los tejidos aéreos y son eficientes para la estabilización de estos contaminantes. Las plantas indicadoras acumulan los metales pesados en el tejido aéreo en una concentración similar a la del ambiente donde se encuentran. Las plantas hiperacumuladoras contienen concentraciones de los metales pesados muy superiores a las del ambiente donde se desarrollan. Según Brooks y Braker citados por Luna (2018) las plantas hiperacumuladoras acumulan más de 100 mg /kg de peso seco en Cd; 10 000 mg/kg en peso seco en Ni, Cu y Pb o más de 10 000 mg/kg en peso seco en Zn

y Mn en los brotes.

2.2.6 Bacterias sulfato reductoras

Las bacterias sulfato reductoras (BSR) son microorganismos procariotas de los dominios Bacteria y Archaea que utilizan el sulfato como aceptor de electrones en la respiración anaerobia (López y Fuentes, 2015). estrictamente anaerobios; sin embargo, se les puede encontrar en ambientes aerobios específicamente lugares anóxicos. Son heterótrofos que obtienen su energía de la oxidación de compuestos orgánicos acoplada a la reducción disimilatoria de los sulfatos hasta sulfuro. El sulfuro precipita en el suelo como sulfuro ferroso o es liberado como sulfuro de hidrógeno, un fuerte agente reductor muy tóxico para otros microorganismos (Van Vliet et al., 2020). El sulfuro de hidrógeno puede ser oxidado por bacterias quimiolitótrofas, en aerobiosis o por bacterias fototróficas del azufre, en condiciones anóxicas. En las BSR se diferencian dos grupos las que oxidan en forma incompleta el compuesto orgánico hasta acetato y los que lo degradan en forma completa hasta dióxido de carbono (López y Fuentes, 2015).

Las BSR están distribuidas en ambientes anóxicos en los que la reducción de sulfato predomina en la mineralización anaerobia. Se encuentran en el agua, suelo, sedimentos, acuíferos, yacimientos de petróleo, suelo rizosférico, emisiones hidrotermales y en el tracto gastrointestinal de los animales (López y Fuentes, 2015).

Las BSR pueden remover metales pesados de aguas contaminadas, en dos etapas: en la primera las BSR oxidan los compuestos orgánicos (lactato, acetato, propionato), con el sulfato como aceptor de electrones y los productos sulfuro de hidrógeno y ion bicarbonato. En la segunda etapa el sulfuro de hidrógeno reacciona con los metales pesados (Cu, Zn, Ni) disueltos para formar sulfuros metálicos insolubles (López y Fuentes, 2016). En diversas investigaciones se ha demostrado la reducción de cromo (VI) por *Desulfovibrio vulgaris* (Mabbelt y Macaskie, 2001), la reducción del hierro por *D. desulfuricans* (Li et al., 2006), la remoción de arsénico del agua por un cultivo mixto de BSR (Teclu et al., 2008), de zinc durante el tratamiento de aguas residuales con alta concentración de sulfato (Castillo et al., 2011), zinc y cobre (Wnag et al., 2014),

cadmio (Jiang y Fan, 2008); cromo (Pagnanelli et al., 2012) y cobre de aguas residuales (Bai et al., 2013).

En la detección y enumeración de BSR se usa el método del Número Más Probable (NMP) con un medio de cultivo que tiene lactato como donador de electrones. También se utiliza la técnica molecular de la reacción de cadena de polimerasa (PCR) cuantitativa en tiempo real y un colorante fluorescente, la técnica de fluorescencia de hibridación in situ (FISH), cromatografía líquida de alto desempeño con desnaturalización, el método basado en la inhibición de la actividad de la enzima cisteína proteasa, los anticuerpos a BSR cultivadas, la inmunodetección de la enzima adenosin-5'- fosfo sulfato (APS) reductasa y el análisis de la secuencia de genes que codifican para el RNA16S (López y Fuentes, 2015; Zamora y Malaver, 2012).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Muestras de trabajo

Muestras de agua, turba, tejido radicular y aéreo de *Distichia muscoides* y bacterias sulfato reductoras del sedimento de los cuerpos de agua de los bofedales 1 y 2 de la subcuenca Pachacoto en el distrito de Cátac, provincia Recuay, región Áncash.

3.2 Población y muestra

En la investigación descriptiva la población correspondió a los bofedales de la subcuenca Pachacoto, en el distrito de Cátac, provincia Recuay, región de Áncash y se investigó la muestra no probabilística y por conveniencia de dos bofedales 1 y 2 sin aparente impacto y con impacto de DAR. En la investigación explicativa la población y muestra de estudio no probabilística correspondió a ocho rectángulos de cojines de *D. muscoides*, seis trasplantados y dos no trasplantados en el bofedal 2 impactado con DAR.

3.3 Variables

Variables cuantitativas: Características físicas (pH y temperatura, conductividad eléctrica) y químicas (metales pesados) del agua, turba, tejido radicular y aéreo de *D. muscoides*

Variables de la fase explicativa

Variable independiente : Potencial de *Distichia muscoides*

Variable dependiente : Biorremediación de bofedal impactado con drenaje ácido de roca.

Variable	Definición conceptual	Indicadores	Técnica
Dependiente: Biorremediación de un bofedal impactado con DAR	Disminución o eliminación de contaminantes en un ambiente (Garzón et al., 2017)	Concentración de metales pesados Características fisicoquímicas de agua y suelo Presencia de bacterias sulfato reductoras	Instrumentos de medición: pHmetro, multiparámetro Análisis: ICP-AES
Independiente: Potencial de <i>Distichia muscoides</i>	Capacidad de la planta para remediar el entorno ambiental contaminado	Factor de bioacumulación en tejido aéreo y raíz Factor de traslocación	Medición Fórmulas de medición de la capacidad de remediación

(Jara et al.,
2017))

Comparación de
la concentración
de metales
pesados agua,
planta, suelo
(ICP-AES)

3.4 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

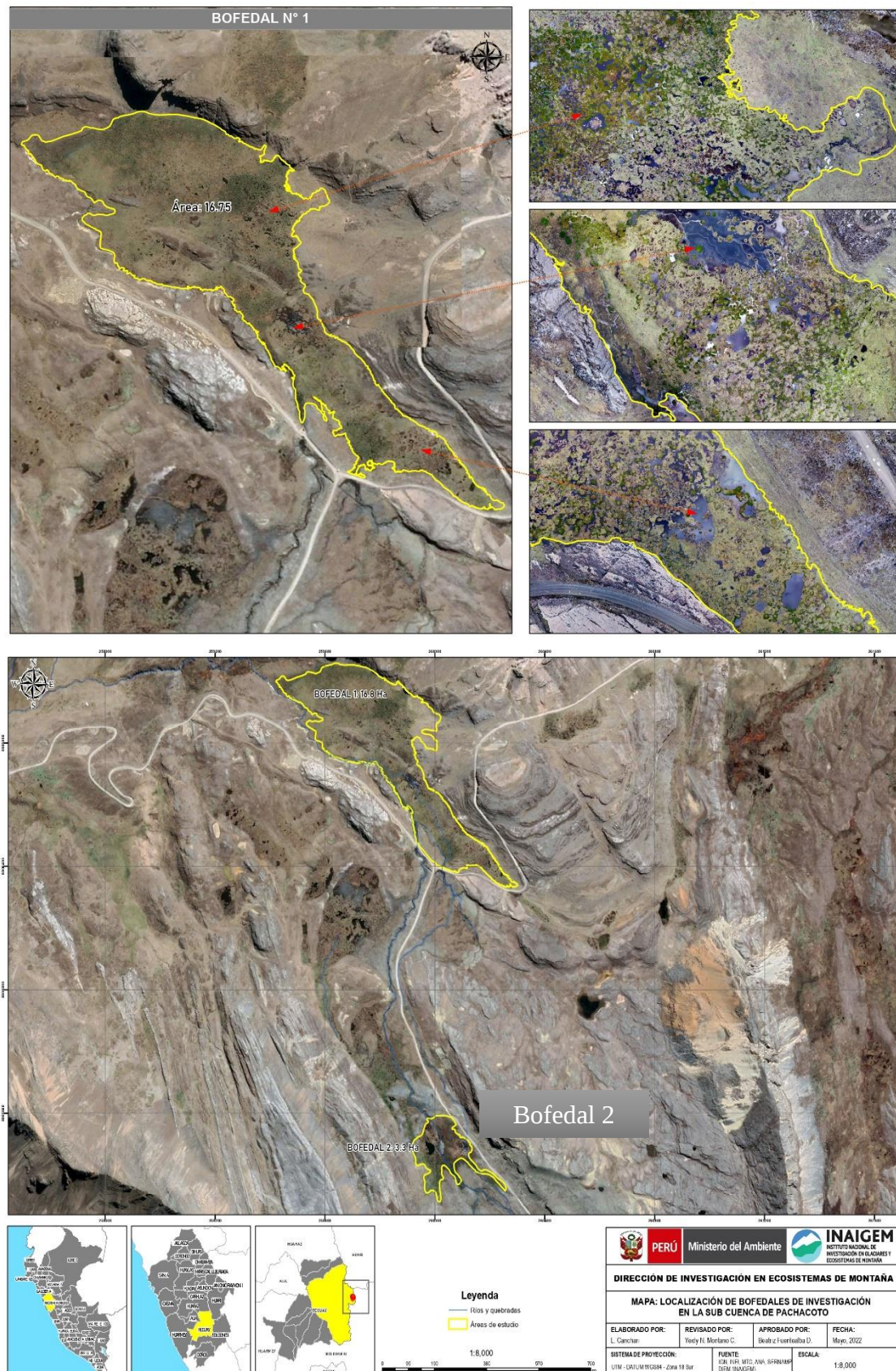
La investigación se realizó en dos etapas, la primera descriptiva y la segunda explicativa. El diseño de investigación en la segunda etapa fue el Clásico, con dos grupos, uno experimental y un control.

3.5 Lugar de estudio y obtención de muestras

El estudio se realizó dentro del Parque Nacional Huascarán (PNH), en el distrito de Cátac, provincia de Recuay, región de Áncash. El PNH tiene una superficie de 340 mil ha, a 2400 - 6768 m.s.n.m (SERNANP, 2014), entre las coordenadas 9° 27' S y 77° 26' O. En el PNH se seleccionaron dos bofedales altoandinos con predominio de cojines de *D. muscoides* (Figura 1), ambos pertenecientes a la Unidad Hidrográfica o Subcuenca Pachacoto.

Figura 1

Ubicación de los bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Parque Nacional Huascarán, Cátac, Áncash, 2021 (INAIGEM, 2021).



3.6 Características del agua, turba, *D. muscoides* y presencia de bacterias sulfato reductoras en el sedimento de cuerpos de agua de dos bofedales sin aparente y con impacto de drenaje ácido de roca, en la subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash, 2021

El proceso metodológico siguió una secuencia de fases de gabinete, campo y post campo. En la fase de gabinete se ubicaron y delimitaron las zonas de trabajo, en los bofedales 1 y 2 sin aparente impacto y con impacto de DAR respectivamente, se calculó el número de unidades muestrales, se determinó su distribución y se establecieron los puntos de muestreo (MINAM, 2019).

En la fase de campo se registraron el pH y temperatura en los espejos de agua circundante a los cojines y se colectaron muestras de agua, turba y tejido radicular y aéreo de *D. muscoides* para la cuantificación de la concentración de metales pesados. En la fase de post campo se recolectó y analizó la información obtenida.

a) Fase de gabinete

En un inicio se procedió al reconocimiento visual de los bofedales 1 y 2 en la subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash. A continuación, con ayuda de un profesional técnico en sistemas de información, un GPS (Garmin Monterra) y un dron (Phantom 4 pro) se determinó el área total de cada bofedal y se establecieron los sitios de estudio georeferenciados, que posteriormente se utilizaron para el mapeo. En los mapas se establecieron tres zonas A, B y C con base a las mediciones de pH, temperatura, altura (m.s.n.m) y el estado de los cojines de *D. muscoides*.

Una vez delimitada la zona de estudio, se calculó el número de unidades muestrales y se delimitó su distribución. Para el muestreo se consideraron tres zonas (A, B y C), en cada zona tres puntos de muestreo (A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 y C3) en ambos bofedales y en cada uno de ellos se especificaron las coordenadas y altitud correspondiente. El número de unidades muestrales de agua fueron tres, de turba fueron tres, nueve de tejido radicular y nueve de tejido aéreo de *D. muscoides* por bofedal.

b) Fase de campo

Previo a la delimitación de las zonas de muestreo se realizaron tres salidas de campo: de reconocimiento, de señalización y de colecta de muestras. En cada salida se seleccionaron al azar cinco puntos para la medición in situ del pH y la temperatura, para conocer de forma general las condiciones del agua en cada bofedal de estudio. Con esta información se procedió a la delimitación de las zonas A, B y C en los bofedales 1 y 2. Se establecieron los puntos georeferenciales de muestreo, con ayuda del GPS y se realizó la señalización con banderines (0,60 m alto) en cada punto de muestreo (Tabla 1, figura 2)

En cada zona de los bofedales 1 y 2 se evaluó la uniformidad, el color de la vegetación, el tamaño, la compactación y la extensión de los cojines de *D. muscoides*. Asimismo, en el agua de cada zona se midieron los parámetros fisicoquímicos pH y temperatura con un medidor manual (HANNA HI8424). (Figura 3). También se utilizó la información registrada por la microestación climatológica en la zona B del bofedal 1.

Tabla 1

Ubicación georeferencial y altitud de puntos de muestreo en bofedales 1 y 2 en la Subcuenca Pachacoto, Cátaç, Áncash 2021

Puntos de muestreo	Coordenadas		Altitud msnm
	E	N	
BOF1 – A	260270	8906362	4506
BOF1 – B	260095	8906532	4662
BOF1 – C	259682	8906812	4730
BOF2 – A	260235	8905365	4818
BOF2 – B	260136	8905445	4811
BOF2 – C	260015	8905583	4806

Los valores del pH, temperatura, caudales registrados, la evaluación del estado fenotípico de los cojines de *D. muscoides* y la concentración de metales pesados se utilizaron para la caracterización de los bofedales y el establecimiento de la condición sin aparente impacto y con impacto de DAR.

Figura 2

Señalización de la zona B del bofedal 1, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.

**Figura 3**

Medición del pH en el agua en la zona B del bofedal 1, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.



b1) Muestreo de agua

La toma de muestras de agua se realizó siguiendo el Protocolo Nacional de la Calidad de Cuerpos Naturales de Agua Superficial (ANA, 2011). Para el muestreo de agua, en el centro del triángulo formado imaginariamente por los tres puntos de muestreo en cada zona se colectó una muestra de agua (1 L), es decir en cada bofedal se analizaron tres muestras de agua. Para el muestreo se utilizaron frascos de polietileno estériles, con una capacidad de 500 mL. Éstos se sumergieron boca abajo y se tomó la muestra en dirección contraria a la corriente de agua a una profundidad de 20-30 cm y se dejó el 1% de los frascos sin llenar. A continuación, se depositó 1 mL del preservante químico ácido nítrico, se realizó el etiquetado y los frascos se acondicionaron en una caja térmica (8 °C) para su traslado al laboratorio del INAIGEM.

b2) Muestreo de turba

La toma de muestra de turba orgánica se estableció bajo el criterio establecido en la Guía para muestreo de suelos (MINAM, 2016). Para la extracción de las muestras de turba se utilizó una pala pequeña y una palana recta mediana. En cada punto de muestreo se seleccionaron tres cojines de *D. muscoides* y de cada uno se extrajo un rectángulo de 20 x 15 cm constituido por turba, raíces y tejido aéreo de *D. mucoides*, con una profundidad de 30 cm. De esta manera en cada zona se colectaron tres rectángulos, con un total de nueve por bofedal. Éstos se acondicionaron en bolsas de polietileno debidamente rotuladas y se trasladaron al INAIGEM, donde se midió el pH y temperatura, se separaron otras plantas de la turba y en cada zona de muestreo se seleccionó la turba con mayor descomposición, se pesaron 300 g y se introdujeron en bolsas con cierre hermético debidamente codificadas.

b3) Muestreo de *D. muscoides*

El muestreo se inició con un trabajo previo en gabinete para identificar las características básicas y representativas de la especie *D. muscoides*, posterior a ello se evaluó en campo la predominancia de dicha especie para obtener una muestra homogénea, considerando aquellas plantas con hojas de 3-7 mm de longitud, con el ápice obtuso, calloso y coloración verdosa (Heike, 2011). Se realizó un muestreo aleatorio en las tres zonas del bofedal (A, B y C). Para el muestreo de plantas se consideró el Protocolo de Muestreo de Vegetación y Suelos (Programa Iberoamericano de Ciencia y

Tecnología para el Desarrollo – CYTED) y los análisis se realizaron en un laboratorio acreditado utilizando el método ICP-AES. Previo al análisis en el laboratorio del INAIGEM el tejido radicular se separó del tejido aéreo en cada muestra de *D. muscoides* se pesaron 250g de tejido radicular y se acondicionaron en bolsas herméticamente cerradas.

Finalizado el muestreo en los bofedales 1 y 2, las muestras procesadas (seis de agua, seis de turba, 18 de tejido radicular y 18 de tejido aéreo de *D. muscoides*) se enviaron al laboratorio acreditado PACIFIC CONTROL SA, en Lima, donde se determinó la concentración de metales pesados en el agua con el “Method 200.7. Determination of metals and trace elements in water and wastes by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry y en la turba y tejido radicular y aéreo con el método EPA 3050-B (1996)/ EPA Method 200.7. Revision 4.4, 1994” (agua) y “Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils Revision 2/ Determination of metals and trace elements in water and waster by Inductively Couple Plasma – Atomic Emission Spectrometry”.

Los valores en la concentración de metales presentes en el agua se compararon con los estándares de calidad de agua (ECA) categoría 4, subcategoría 1 según el D.S. N°004-2017 - MINAM de fecha 07 junio de 2017 (Anexo 1) y se calcularon los factores de bioacumulación y traslocación por *D. muscoides*. El factor de bioacumulación (FBA) se calculó al dividir la concentración del metal en el tejido radicular (FBA –R) o en el tejido aéreo (FBA – A) de la planta entre la concentración del metal en la turba (Luna, 2018):

$$FBA - R = \frac{(MP) \text{Concentración del tejido radicular}}{(MP) \text{Concentración de la turba}}$$

$$FBA - A = \frac{(MP) \text{Concentración del tejido aéreo}}{(MP) \text{Concentración de la turba}}$$

Donde:

FBA= factor de bioacumulación

MP = concentración de metales pesados totales

La planta es exclusora cuando el FBA es <1, acumuladora cuando el FBA se encuentra entre 1 y 10 e hiperacumuladora cuando FBA es >10. El

factor de traslocación (FT) se calculó dividiendo la concentración del metal en el tejido aéreo entre la concentración del metal en el tejido radicular (Olivares y Peña, 2009):

$$FT = \frac{(MP)_{\text{Tejido aéreo}}}{(MP)_{\text{Tejido radicular}}}$$

Donde:

FT= Factor de traslocación

MP= Concentración de metales pesados totales

Cuando el FT es <1, la planta es fitoestabilizadora o no trasloca de manera eficaz los metales pesados de la raíz al tejido aéreo y cuando el FT es >1 la planta es fitoextractora o trasloca los metales pesados de la raíz al tejido aéreo de la planta.

b4) Bacterias sulfato reductoras en el sedimento de los cuerpos de agua de dos bofedales 1 y 2 sin aparente impacto y con impacto de drenaje ácido de roca, en la subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash, 2021

Las bacterias sulforeductoras de dos bofedales impactado y sin aparente impacto con drenaje ácido de roca de la subcuenca Pachacoto (Recuay, Áncash), se detectaron en columnas de Winogradsky, con base al sulfuro o ennegrecimiento producido.

a. Obtención y enriquecimiento de muestras de sedimento de cuerpos de agua de los bofedales

Para el muestreo se consideraron tres zonas (A, B y C) en cada bofedal y en cada zona dos puntos de muestreo (A1, A2, B1, B2, C1 y C2), en donde se colectaron muestras de 1000 g de sedimento de los cuerpos de agua, empleando una herramienta que extrae material sólido perforado (barreno) en el sitio de muestreo (Zheng et al., 2022), a una profundidad de 70 cm, por debajo de la superficie y las muestras obtenidas se depositaron inmediatamente en frascos de vidrio transparente de boca ancha (Figuras 4, 5) con tapa rosca (Liu et al., 2002), debidamente identificados y se transportaron en una caja térmica (10±1°C) hacia el laboratorio del Centro de Investigación para el Fomento Sustentable (CIFOS) en el distrito de Pimentel, Lambayeque, donde las bacterias sulfato reductoras se llevaron a enriquecimiento en doce columnas de Winogradsky (Orrego, 2019). Los componentes necesarios para

las columnas de Winogradsky se calcularon con base a la capacidad de 0,5 L de las probetas (306,6 mg de sedimento de los cuerpos de agua, 4 g de CaCO_3 , 4 g de CaHPO_4 y 25 g de papel higiénico). En un balón de vidrio de 1 L de capacidad se depositaron 200 mL del sobrenadante de cada muestra de sedimento de los cuerpos de agua colectados, se mezclaron con 0,88 g de sulfato de sodio (Na_2SO_4) y se obtuvo una disolución de sulfato de sodio (Figura 6).

El sedimento fue enriquecido con papel higiénico y sales de calcio. En un mortero se depositó papel higiénico (25g) previamente remojado en agua potable por 12 horas, se maceró con 100 g de sedimento de los cuerpos de agua durante 10 minutos (Figuras 7,8) y después se incorporaron las sales de calcio. En un envase (0,5 kg), con ayuda de una espátula se depositó un tercio (102,2 g) del sedimento previamente calculado y se mezcló en forma rápida con la mezcla del mortero, se añadió el resto del sedimento (204,40 g), se mezcló y se tapó (Figura 9).

Las columnas de Winogradsky constituidas por 12 probetas de vidrio de 0,5 L capacidad se lavaron con agua potable y con hipoclorito de sodio comercial 5% (p/v) durante 12 horas. En cada probeta se depositó el sedimento enriquecido, 150 g de sedimento no enriquecido (2/3 del volumen útil) y una capa de 10 cm de aceite estéril (Figura 10). A continuación, se vertieron 200 mL de la disolución de sulfato de sodio en agua del bofedal, tal que la probeta se llenó hasta 5 cm antes del extremo superior, se depositaron 10 mL de aceite y la probeta se tapó (parafilm y papel aluminio). Las columnas se incubaron a temperatura ambiente ($18^\circ - 24^\circ \text{C}$), en un lugar cercano a una ventana para asegurar la iluminación, por 40 días (Figuras 11, 12).

Figura 4

Obtención de muestra de sedimento del cuerpo de agua de la zona B del bofedal 2, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2022.

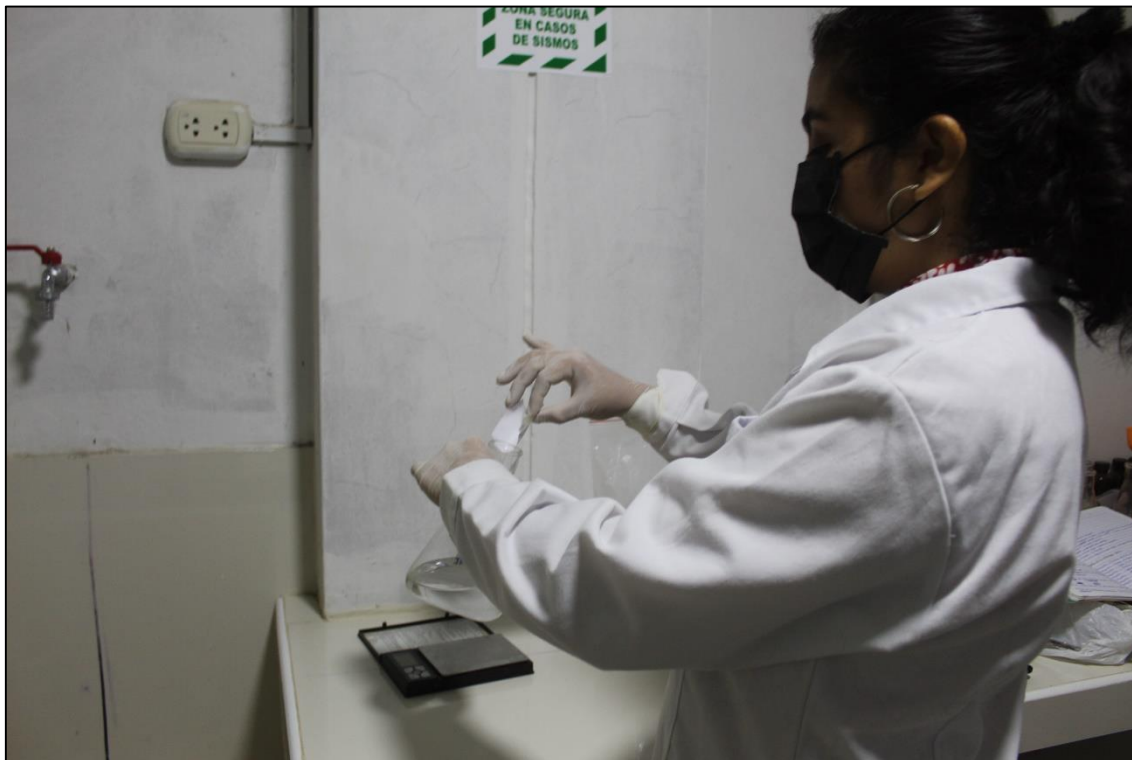
**Figura 5**

Recolección de muestra de sedimento del cuerpo de agua de la zona B del bofedal 2, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2022.



Figura 6

Obtención de la disolución de sulfato de sodio, Pimentel 2022.

**Figura 7**

Enriquecimiento del sedimento de cuerpo de agua con papel higiénico, Pimentel 2022.



Figura 8

Enriquecimiento del sedimento de cuerpo de agua con sales de calcio, Pimentel 2022.

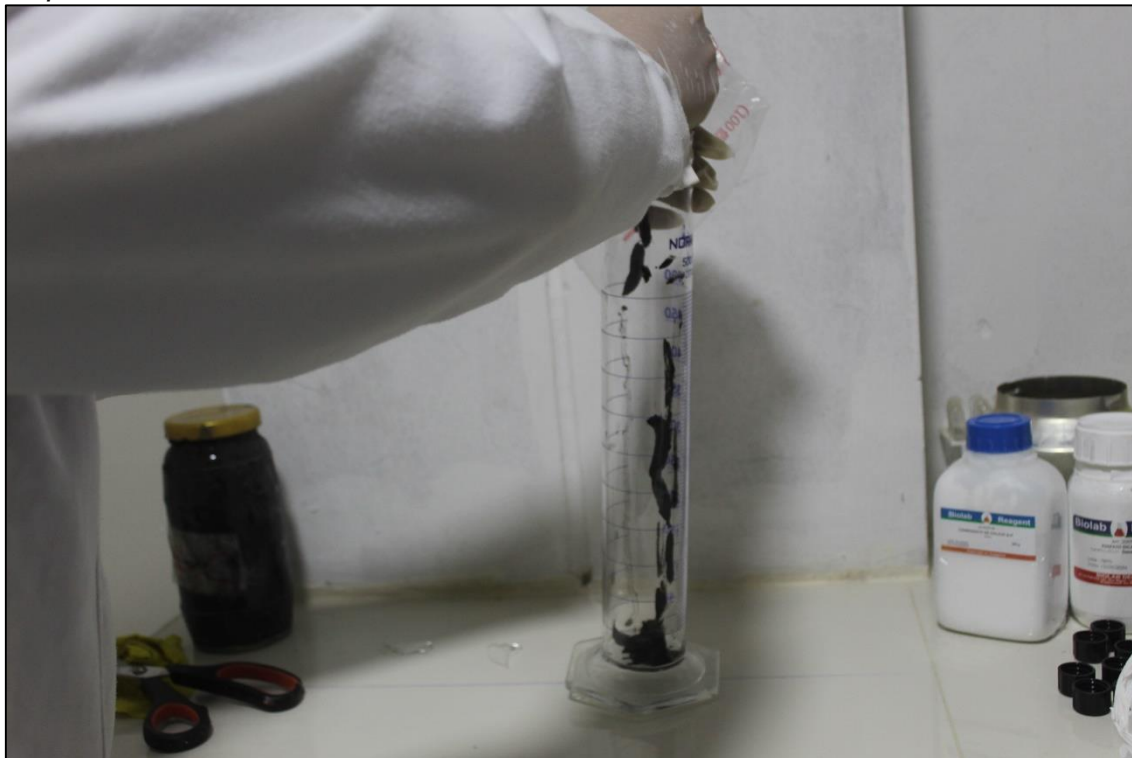
**Figura 9**

Mezcla de sedimento de cuerpo de agua enriquecido y no enriquecido, Pimentel 2022.



Figura 10

Vertido de mezcla de sedimento de cuerpo de agua enriquecido y no enriquecido en probeta, Pimentel 2022

**Figura 11**

Columnas de Winogradsky para la detección de bacterias sulfato reductoras en el sedimento de cuerpos de agua del bofedal 1, Pimentel 2022.



Figura 12

Columnas de Winogradsky para la detección de bacterias sulfato reductoras en el sedimento de cuerpos de agua del bofedal 2, Pimentel 2022.



Trascurridos 48 horas se realizó una observación minuciosa de cada columna de Winogradsky cada 24 horas para describir los cambios ocurridos hasta el día 40. La aparición de una coloración negra en la parte media e inferior de la columna demostró la aparición de bacterias sulfato reductoras y se registró el resultado como positivo o negativo.

b. Detección de bacterias sulfato reductoras

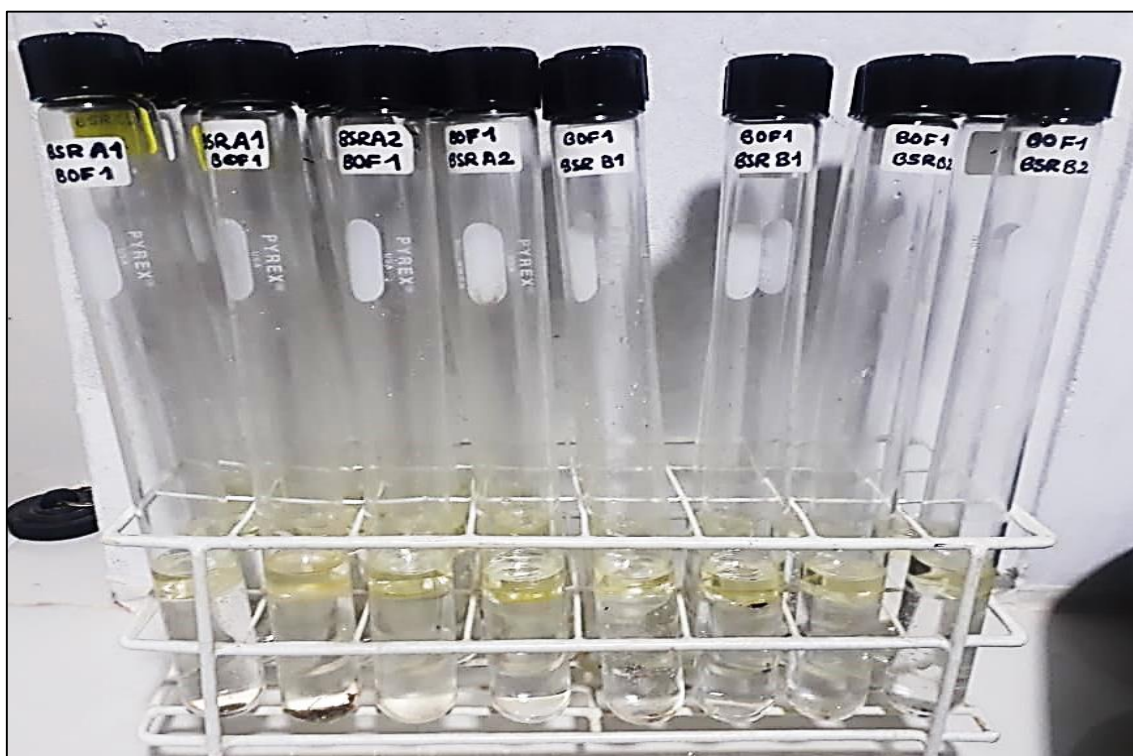
Para la detección de las bacterias sulfato reductoras a los 40 días con una asa bacteriológica se tomaron muestras de la zona negra de las columnas de Winogradsky (región sulfato reductora) y se inocularon por duplicado en 10 mL de medio Postgate C modificado más 1% de etanol como fuente de carbono (Figura 13, anexo 2), se agregaron 2 mL de aceite esterilizado y los tubos se taparon en forma hermética. Después de la incubación a 30° C, por 30 días, los tubos se destaparon y se cubrieron con círculos de papel filtro (1 cm de diámetro), humedecidos con 1% acetato de plomo. Después de 15 minutos, la presencia de bacterias sulfato reductoras se evidenció por el ennegrecimiento plateado del papel filtro, por el sulfuro de plomo formado (Orrego, 2019).

3.7. Factores de bioacumulación y traslocación calculados en la turba y cojines de *D. muscoides* trasplantados para la biorremediación de una zona experimental del bofedal 2, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash

El proceso de biorremediación se realizó en una zona experimental del bofedal 2 con cojines de *D. muscoides* previamente trasplantados y adaptados. Se incluyeron como testigo cojines de *D. muscoides* no trasplantados y desarrollados de forma natural en la zona experimental del bofedal 2. Transcurridos 5 meses se cuantificaron los metales pesados en el agua, turba, tejido radicular y aéreo de *D. muscoides* y se calcularon los factores de bioacumulación y traslocación.

Figura 13

Cultivos de bacterias sulfato reductoras en medio Postgate C más etanol, Pimentel 2022.



a) Adaptación de *D. muscoides* en un bofedal impactado con drenaje ácido de roca en la subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash

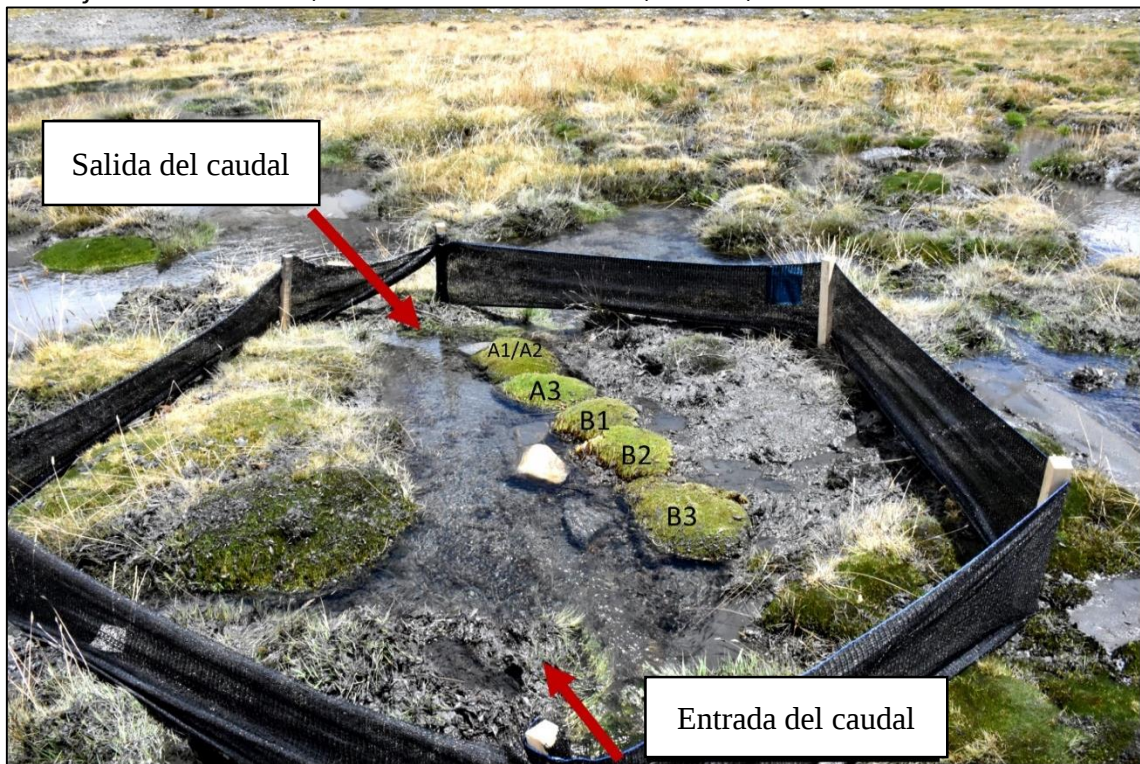
El ensayo se ejecutó entre el 15 de diciembre de 2021 a mayo de 2022, en los bofedales 1 y 2 previamente caracterizados como “sin aparente y con impacto de DAR” respectivamente. El bofedal 2 presenta un área total de 3,3 ha y en la zona B, por donde discurre el agua de la quebrada Pastoruri se seleccionó un área de 5x5 m², cuyos puntos georeferenciados son E: 260088 y N: 8905452, con una altura de 4804 msnm. El área codificada como BOF2-BT se delimitó con una malla de plástico negro sostenida por seis postes de madera de 1 metro de altura, dispuestos de una forma continua, con un distanciamiento de 1,5 m entre ellos (Figura 14). En el área BOF2-BT de la zona B se observaron parches de cojines de *D. muscoides* en buen estado, suelo lodoso de textura arcillosa, color oscuro y en la parte central el caudal natural por donde discurre el agua proveniente de la quebrada, a través de una entrada y salida natural.

El bofedal 1 presenta un área total aproximada de 16,8 ha, donde se seleccionaron las zonas A y B, codificadas como B1-AT y B1-BT, ambas con similitud en el pH ligeramente neutro (6,93 – 7,57) y temperatura (6,3 – 9,1 °C). Las coordenadas de ubicación de la zona A son E: 260210 y N: 8906423 con una altura de 4689 msnm y de la zona B E: 260076 y N: 8906529 con una altura de 4749 msnm. En cada una de las zonas A y B del bofedal 1 se seleccionaron cuatro cojines (ocho en total) que estaban formando un cuadrilátero imaginario, en cuyo centro se observaba un espejo de agua (Figura 15). Los cojines presentaron en promedio 3,40 m de largo y 2,40 m de ancho, con una cobertura de *D. muscoides* del 80 – 100 % (Figura 16).

En el borde en contacto con el agua de cada cojín seleccionado, se extrajo un rectángulo de 30 x 15 cm, constituido por raíces y tejido aéreo de *D. muscoides* y la turba radicular con una profundidad de 30 cm (Figura 17). Los rectángulos extraídos en las zonas A y B del bofedal 1 fueron ocho, seis destinados al trasplante y dos para el análisis de la concentración inicial de metales en el tejido radicular y aéreo de *D. muscoides*, en la turba y el agua circundante del espejo.

Figura 14

Área experimental BOF2 – BT delimitada en el bofedal 2 impactado con drenaje ácido de roca, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.

**Figura 15**

Espejo de agua observado entre los cojines de D.muscoides en el bofedal 1 sin aparente impacto de drenaje ácido de roca, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.



Figura 16

Cobertura de D. muscoides en un cojín del área BOF1-BT en el bofedal 1 sin aparente impacto de drenaje ácido de roca, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.



Figura 17

Rectángulo de cojín de D. muscoides extraído de zona B1-AT, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.



Los ocho rectángulos extraídos de los cojines de bofedal 1 se codificaron como A1, A2, A3 y A4 (zona A) y B1, B2, B3 y B4 (zona B) y se depositaron en bolsas de polietileno identificadas. Dos rectángulos se trasladaron al laboratorio del INAIGEM y seis al bofedal 2 (Figura 18), donde inmediatamente se procedió al trasplante. Los dos rectángulos de cojín de *D. muscoides* identificados como A4 y B4 extraídos del bofedal 1, así como un rectángulo extraído en la zona experimental del bofedal 2 (BOF2-BT) con sus respectivas muestras de agua (3), turba (3) y tejido radicular (3) y aéreo (3) de *D. muscoides*, se analizaron en el laboratorio acreditado PACIFIC CONTROL S.A.C. en Lima y se cuantificaron los metales pesados por espectroscopía de emisión acoplada a plasma (ICP-AES).

El trasplante se realizó en el área BOF2-BT entre el margen izquierdo del canal natural y el margen derecho del suelo lodoso, donde previamente se eliminaron las malezas existentes. Los seis rectángulos de cojines se depositaron en forma adyacente, sobre el suelo del bofedal, se presionaron ligeramente y se rodearon con dos piedras para asegurar su permanencia (Figura 19). La monitorización de la adaptación de los rectángulos de cojines de *D. muscoides* trasplantados se realizó durante 5 meses, cada 10 días el primer y segundo mes y cada 15 días el tercer, cuarto y quinto mes. En cada rectángulo de cojín se observaron las características fenotípicas, como el vigor y la persistencia del color verde y se midió el pH y temperatura del agua circundante en cuatro puntos de unión de los rectángulos a la entrada y salida del canal natural del agua (Figura 20).

Transcurridos 5 meses del trasplante, en el último monitoreo se realizó un muestreo aleatorio de cuatro cojines entre los seis trasplantados los mismos que se extrajeron (ítem 3.2.5, muestreo de *D. muscoides*). En los cojines seleccionados se determinó de forma observacional el porcentaje de la cobertura negra y verde y con una cinta métrica se midió el radio mayor (a) y menor (b) del cojín y de las áreas con cobertura negra, verde para calcular el área total ($axbx\pi$), área verde y área negra. La presencia de pocas, regular cantidad o abundantes raíces determinó la adaptación de los cojines al trasplante. Por el contrario, la ausencia de raíces evidenció la falta de adaptación de los cojines al trasplante.

Figura 18

*Rectángulos de cojines de *D.muscoides* acondicionados en bolsas de polietileno, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.*



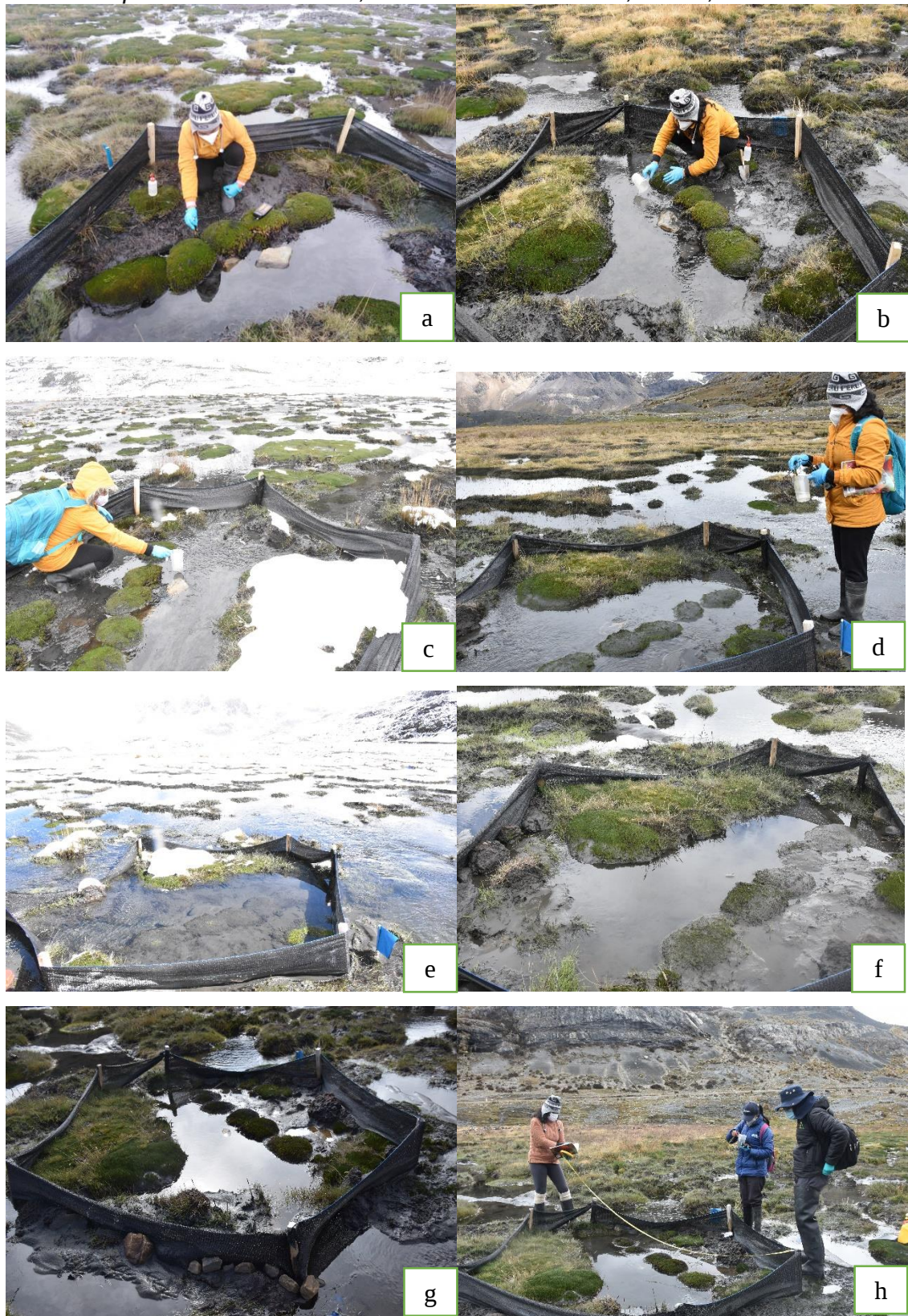
Figura 19

*Trasplante de rectángulos de cojín de *D. muscoides* en el área experimental BOF2-BT, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.*



Figura 20

Monitoreo de la adaptación de los cojines de *D. muscoides*, (a) primero, (b) segundo (c) tercero, (d) cuarto, (e) quinto, (f) sexto, (g) séptimo y (h) octavo, en la zona experimental BOF2-BT, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.



En las seis muestras (rectángulos de cojines trasplantados y testigo) de *D. muscoides*, se separaron las raíces del tejido aéreo y en cada una de ellas se determinó la concentración de metales pesados. Se extrajeron dos muestras de agua (entrada y salida del caudal natural) y seis muestras de turba en los cuatro cojines seleccionados y dos testigos no trasplantados (ítem 3.2.5, muestreo de agua y turba).

b) Concentración de metales pesados y factores de bioacumulación y traslocación por *D. muscoides* en el bofedal impactado con DAR

Trascurridos 5 meses del inicio de la fase experimental donde se trasplantó rectángulos de cojines de *D. muscoides* en un área del bofedal 2, se colectaron muestras de agua, turba, tejido radicular y aéreo de *D. muscoides* y se trabajó en campo para determinar los parámetros de pH y temperatura. Asimismo, estas muestras se enviaron al laboratorio acreditado Pacific Control S.A.C en Lima, para la cuantificación de metales pesados mediante espectroscopía de emisión acoplada a plasma (ICP-AES). Con los valores de la concentración de metales pesados obtenidos se calcularon los factores de bioacumulación (FBA) y traslocación, FT (ítem 3.2.5)

3.8 Análisis estadístico de los datos

Los valores de la concentración de metales pesados fueron analizados con la prueba de Shapiro – Wilk (contrastación de la normalidad) y Fisher (significancia). Para muestras paramétricas se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y para las muestras no paramétricas se realizó la prueba de Kruskal Wallis, para determinar las diferencias de concentraciones y establecer la significancia entre ellos ($p < 0,05$). Los datos fueron procesados en el programa estadístico Infostat y las figuras fueron elaboradas en Microsoft Excel 2016.

IV. RESULTADOS

4.1 Características del agua, turba, tejido radicular y aéreo de *D. muscoides* y presencia de bacterias sulfato reductoras en el sedimento de cuerpos de agua de dos bofedales 1 y 2 sin aparente y con impacto de drenaje ácido de roca, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021

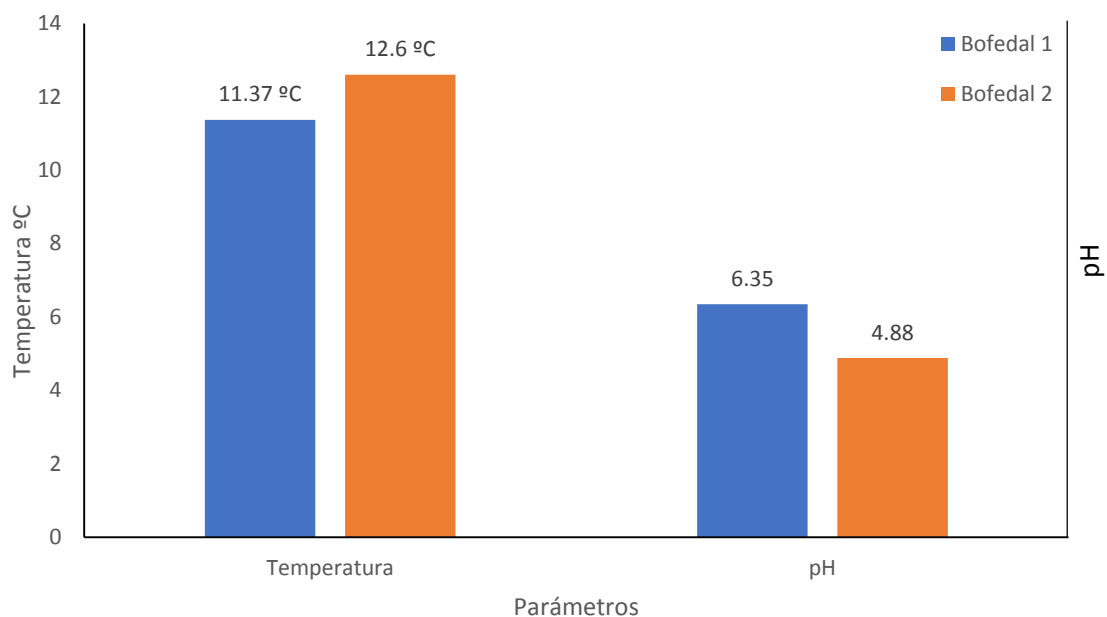
En el bofedal 2 (impactado con DAR), los promedios de pH del agua (4,88) y la turba (5,3) fueron más ácidos que en el bofedal 1, (sin aparente impacto con DAR) con 6,35 y 6,6 respectivamente. En cuanto a la temperatura del agua los promedios fueron de 11,37 °C y 12,6 °C en los bofedales 1 y 2 (Figuras 21, 22, anexo 3). En el bofedal 2 el promedio de la concentración de metales en el agua (Fe, Mn, Zn), turba (Cd, Cu, Fe, Pb), tejido radicular (Cd, Cu, Fe, Mn, Zn) y tejido aéreo (Cd, Fe, Mn, Pb, Zn) fue mayor que en el bofedal 1 (Tabla 2, 3). En el agua, tejido radicular y aéreo las concentraciones de Mn y Fe en el tejido aéreo de *D. muscoides* en el bofedal 2 fueron mayores que las concentraciones del bofedal 1, siendo estadísticamente diferentes (Anexos 4 a 7). La concentración promedio de Mn en el bofedal 2 superó los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua, categoría 4, subcategoría 1 (Anexo 8).

Los factores de bioacumulación clasificaron a *D. muscoides* desarrolladas en el bofedal 1, como exclusoras de Fe, acumuladoras de Cd, Cu, Pb y Mn en el tejido radicular, así como también hiperacumuladoras de Zn en el tejido aéreo y radicular. Estos factores clasificaron a las plantas del bofedal 2 como acumuladoras de Cd, Cu, Fe, Pb, Mn y Zn en el tejido aéreo, acumuladoras de Cd, Cu, Pb y Zn e hiperacumuladoras de Fe y Mn en el tejido radicular. El factor de traslocación clasificó a *D. muscoides* en el bofedal 1 como fitoestabilizadoras de Fe y Zn y fitoextractoras de Cd, Cu, Pb y Mn y en el bofedal 2 como fitoestabilizadoras de Pb y fitoextractoras de Cd, Cu, Fe, Mn y Zn (Tabla 4, anexo 9).

En las columnas de Winogradsky del sedimento de cuerpos de agua se observaron diversas coloraciones, gas y turbidez (Figuras 23,24, anexo 10), ennegrecimiento a partir de los 18 días (bofedal 1) y 33 días (bofedal 2) y la presencia de bacterias sulfato-reductoras en las zonas ennegrecidas se verificó las columnas de ambos bofedales 1 y 2 (Figuras 25, 26, anexos 11 a 13).

Figura 21

Temperatura y pH promedio del agua de los bofedales 1 y 2, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.

**Figura 22**

Temperatura y pH promedio de la turba de cojines de D.muscoides extraídos de los diferentes sitios de muestreo de los bofedales 1 y 2, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.

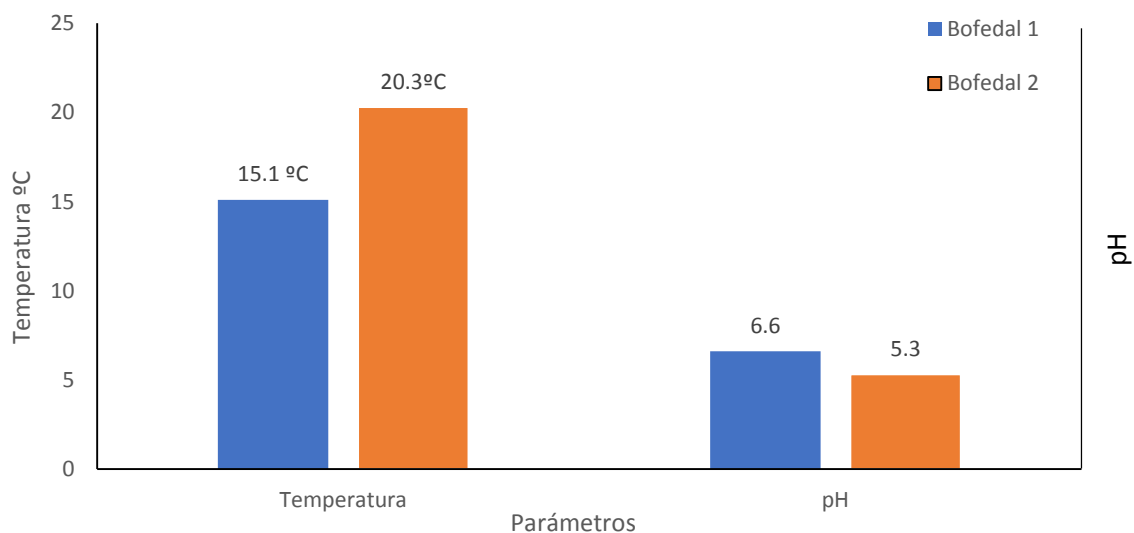


Tabla 2

Concentración promedio (mg/kg) de metales pesados en el agua, turba , tejido radicular y aéreo de D. muscoides en el bofedal 1, Subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021.

Metales	Agua	Turba	Tejido radicular	Tejido aéreo
Aluminio (Al)	0,0200	<2,00	<2,00	<2,00
Cadmio (Cd)	0,0029	4,05	15,52	4,00
Cobre (Cu)	0,001	1,45	1,00	2,04
Hierro (Fe)	0,6520	1545,80	447,72	774,56
Manganeso (Mn)	0,0002	119,86	395,98	74,91
Plomo (Pb)	0,006	9,72	50,84	5,99
Zinc (Zn)	0,0267	7,02	25,27	35,60

Tabla 3

Concentración promedio (mg/kg) de metales pesados en el agua, turba , tejido radicular y aéreo de D. muscoides en el bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash 2021

Metales	Agua	Turba	Tejido radicular	Tejido aéreo
Aluminio (Al)	0,0200	2,00	2,00	2,00
Cadmio (Cd)	0,0009	11,52	14,23	5,11
Cobre (Cu)	0,001	13,17	4,19	3,13
Hierro (Fe)	2,8807	16980,97	6583,57	7830,47
Manganeso (Mn)	0,4844	106,63	136,50	183,11
Plomo (Pb)	0,006	51,90	19,79	15,64
Zinc (Zn)	0,0643	161,74	80,34	93,29

Tabla 4

Comparación de la capacidad potencial de los cojines de D. muscoides de los bofedal 1 y 2 con base a los factores de bioacumulación y traslocación , Subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash

Metales	<i>D. muscoides</i> bofedal 1			<i>D. muscoides</i> del bofedal 2		
	Capacidad según FBA		Capacidad según FT	Capacidad según FBA		Capacidad según FT
	Tejido radicular	Tejido aéreo	Cojín	Tejido radicular	Tejido aéreo	Cojín
Aluminio (Al)	Acumuladora	Acumuladora	Fitoextractora	Acumuladora	Acumuladora	Fitoextractora
Cadmio (Cd)	Acumuladora	Acumuladora	Fitoextractora	Acumuladora	Acumuladora	Fitoextractora
Cobre (Cu)	Acumuladora	Acumuladora	Fitoextractora	Acumuladora	Acumuladora	Fitoextractora
Plomo (Pb)	Acumuladora	Acumuladora	Fitoextractora	Acumuladora	Acumuladora	Fitoestabilizadora
Hierro (Fe)	Exclusora	Exclusora	Fitoestabilizadora	Acumuladora	Hiperacumuladora	Fitoextractora
Manganeso(Mn)	Acumuladora	Acumuladora	Fitoextractora	Acumuladora	Hiperacumuladora	Fitoextractora
Zinc (Zn)	Hipercumuladora	Hipercumuladora	Fitoestabilizadora	Acumuladora	Acumuladora	Fitoextractora

Figura 23

Coloraciones anaranjado (a), rojiza (b, c) y blanco (d), en las columnas de Winogradsky, Pimentel 2022.

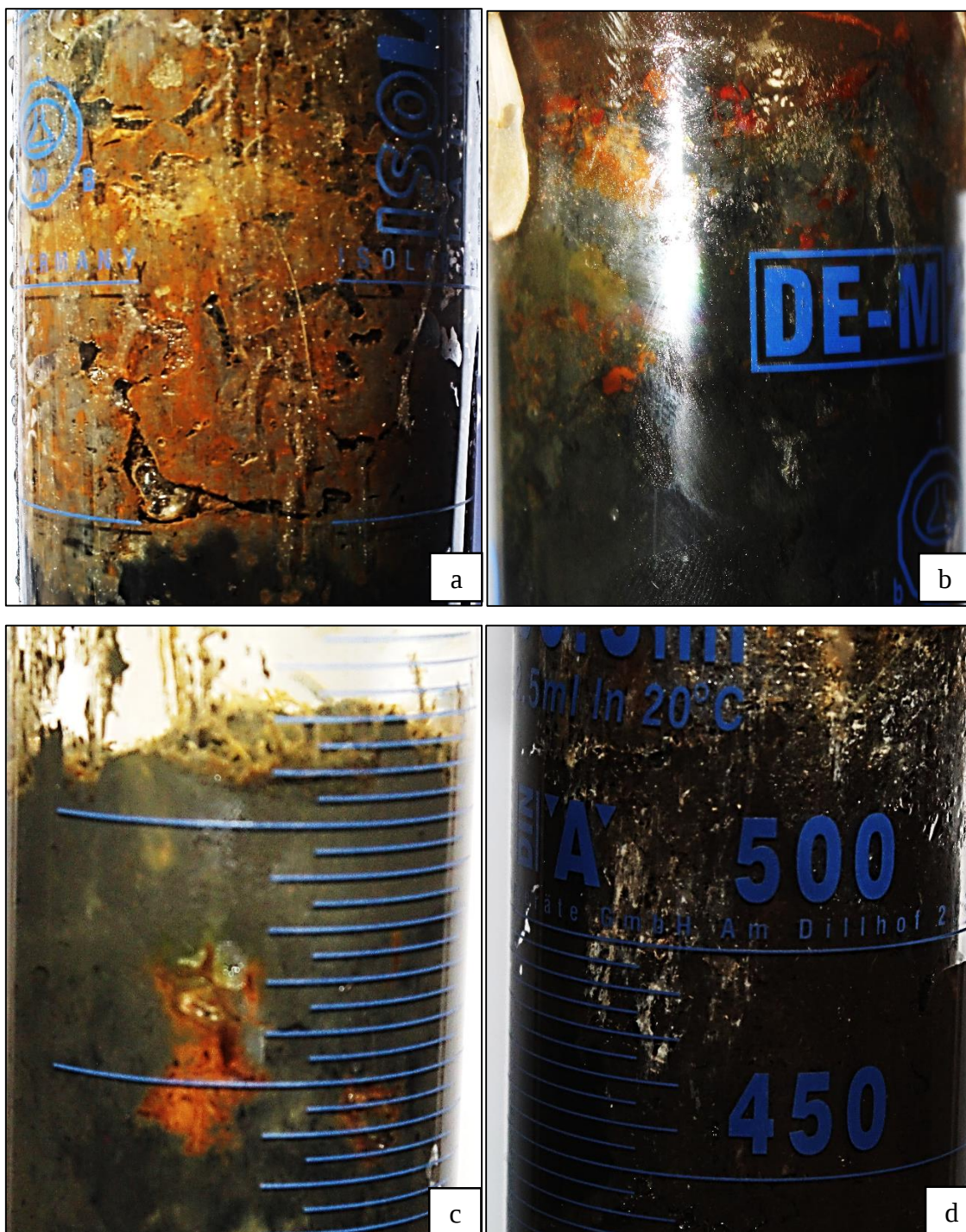


Figura 24

Coloraciones verde (a) y verde-amarillenta (b), gas (c) y turbidez (d) en las columnas de Winogradsky, Pimentel 2022

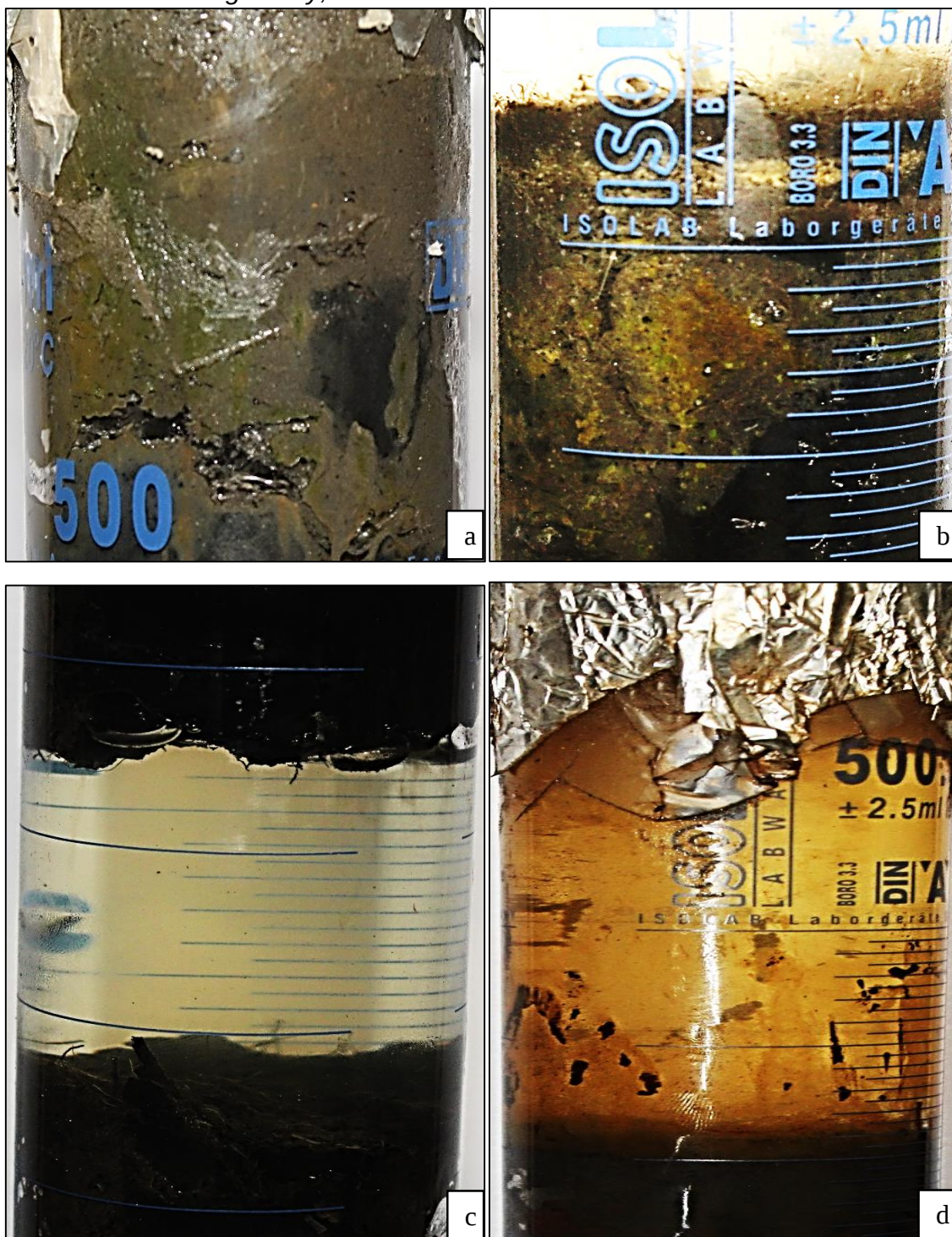


Figura 25

Ennegrecimiento observado en la columna de Winogradsky del sedimento de cuerpo de agua del bofedal 1 sin aparente impacto de DAR, Pimentel 2022.

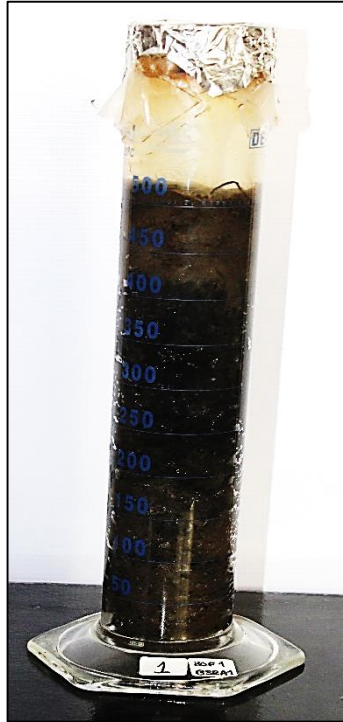


Figura 26

Ennegrecimiento observado en la columna de Winogradsky del sedimento de cuerpo de agua del bofedal 2 sin aparente impacto con DAR, Pimentel 2022.



En el agua del bofedal 1, el promedio de las concentraciones (mg/L) de metales fueron de 0,0029 de cadmio; 0,6520 de hierro, 0,0002 de manganeso y 0,0267 de zinc. En el bofedal 2 el promedio de las concentraciones de metales (mg/L) fueron de 0,0009 de cadmio; 2,8807 de hierro; 0,4844 de manganeso y 0,0643 de zinc (Anexo 4).

En la turba de los cojines de *D. muscoides* extraídos en los diferentes puntos de muestreo del bofedal 1, los promedios (mg/kg) fueron de 4,05 de cadmio; 1,45 de cobre; 1545,80 de hierro; 119,86 de manganeso; 7,02 de plomo y 9,72 de zinc. En el bofedal 2 los promedios (mg/kg) fueron de 11,52 de cadmio; 13,17 de cobre; 16980,97 de hierro; 106,63 de manganeso; 51,90 de plomo y 161,74 de zinc (Anexo 5).

En el tejido radicular de los cojines de *D. muscoides* extraídos en los diferentes puntos de muestreo del bofedal 1, los promedios de la concentración (mg/kg) de metales pesados fueron: 4,18 de cadmio; 1,58 de cobre, 1020,81 de hierro; 79,92 de manganeso; 22,11 de plomo y 53,82 de zinc. En el bofedal 2 los promedios (mg/kg) fueron de 14,23 de cadmio; 4,19 de cobre; 6583,57 de hierro; 136,50 de manganeso; 19,79 de plomo y 80,34 de zinc (Anexo 6).

En el tejido aéreo de los cojines de *D. muscoides* extraídos en los diferentes puntos de muestreo del bofedal 1, los promedios (mg/kg) fueron: 4,00 de cadmio; 2,04 de cobre; 774,56 de hierro; 74,91 de manganeso; 5,99 de plomo; y 35,60 de zinc. En el bofedal 2 los promedios (mg/kg) fueron 5,11 de cadmio; 3,13 de cobre; 7830,47 de hierro; 183,11 de manganeso; 15,64 de plomo y 93,29 de zinc (Anexo 7).

El análisis de los valores de la concentración de metales se realizó con la aplicación del programa estadístico Infostat. La prueba de “box plot” o caja y bigotes verificó la presencia de valores altos o extremos. A continuación, con la prueba de normalidad de Shapiro Wilks se obtuvo $p > 0,05$, para valores con distribución normal, por lo que se utilizó la prueba paramétrica ANOVA para determinar si había diferencia significativa de la concentración de Zn en el agua; Fe, Mn, Zn y Pb en la turba; Fe, Mn, Zn y Pb en el tejido radicular, Cd y Mn en el tejido aéreo. Asimismo, para valores con distribución no paramétrica ($p < 0,05$) se utilizó la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para analizar la concentración de Fe, Cd y Mn en el agua; Cd y Cu en la turba; Cd y Cu en el tejido radicular y Fe, Zn, Cd y Pb en tejido aéreo (Anexos 14 a 21).

El análisis de varianza (ANOVA) demostró que las concentraciones de metales de los bofedales 1 y 2 fueron estadísticamente iguales ($p>0,05$) en lo correspondiente a Zn en el agua; Fe, Mn, Zn y Pb en la turba; Zn y Pb en el tejido radicular y Cd en el tejido aéreo. Por el contrario, las concentraciones de metales de los bofedales 1 y 2 fueron estadísticamente diferentes ($p<0,005$) para el caso del Mn en el agua, tejido radicular y aéreo (Anexos 14, 16, 18 y 20).

La prueba de Kruskal Wallis demostró que las concentraciones de metales pesados de los bofedales 1 y 2 fueron estadísticamente iguales ($p>0,05$) para los casos de Cd y Fe en el agua; Cu, Cd en la turba; Cd y Cu en el tejido radicular y Zn, Cu y Pb en el tejido aéreo. Por el contrario, las concentraciones de metales en los bofedales 1 y 2 fueron estadísticamente diferentes ($p<0,05$) para el caso del Fe en el tejido aéreo (Anexos 15, 17, 19 y 21).

4.2 Factores de bioacumulación y traslocación calculados en la turba y cojines de *D. muscoides* trasplantados para la biorremediación de una zona experimental en el bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash

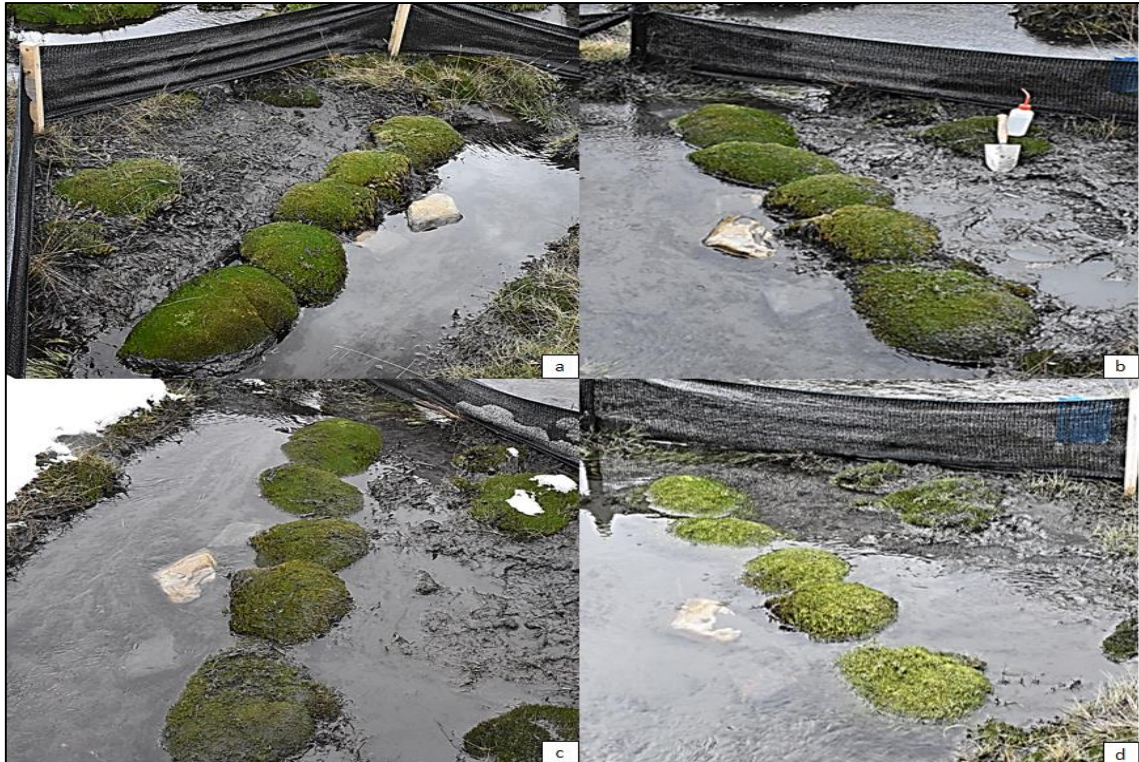
Los cojines de *D. muscoides* procedentes del bofedal 1 se adaptaron al trasplante en el bofedal 2, condición evidenciada por la aparición de nuevas raíces y persistencia del color verde (Figuras 27, 28). Los cojines trasplantados al igual que los no trasplantados acumularon y traslocaron los metales pesados: Al, As, Cu, Cr, Fe, Mn, Pb y Zn. Los cojines trasplantados superaron a los no trasplantados en las concentraciones de Zn (turba, tejido aéreo y radicular), As, Cr y Pb (tejido aéreo), Mn (tejido radicular) y Cu en la turba (Tabla 5). El promedio de temperatura del agua a la entrada de la zona experimental fue de 6,9 °C y a la salida fue de 7,6°C (Figura 29). El rango de pH del agua a la entrada de la zona experimental fue de 2,76 y a la salida fue de 2,75 (Figura 30).

Los factores de bioacumulación en el tejido aéreo de los cojines de *D. muscoides* trasplantados clasificaron como acumuladores de As, Cr, Fe, Mn y Zn y exclusores de Al, Cu y Pb. Además, a los cojines de *D. muscoides* no trasplantados los clasificaron como acumuladores de Cu, Mn y Zn y exclusores de Al, As, Cr, Fe y Pb. Los factores de bioacumulación del tejido radicular de los cojines trasplantados y no trasplantados los clasificaron con la misma capacidad de acumuladores de Zn y exclusores de Al, As, Cr, Fe, Mn y Pb, a excepción de Cu, metal con el que los cojines trasplantados fueron exclusores y los no trasplantados acumuladores (Tabla 6).

Los factores de traslocación en los cojines de *D. muscoides* trasplantados los clasificaron como fitoextractores de Al, As, Cr, Fe, Mn y Zn y fitoestabilizadores de Cu y Pb. En los cojines no trasplantados los factores de traslocación los clasificaron como fitoextractores de Cu, Mn y Zn y fitoestabilizadores de Al, As, Cr, Fe y Pb y. En este contexto ambos cojines (trasplantados y no trasplantados) fueron fitoextractores de Mn y Zn y fitoestabilizadores de Pb (Tabla 7, anexo 23).

Figura 27

Zona experimental en proceso de biorremediación en el bofedal 2 durante los monitoreos 1(a), 2 (b), 3 (c) y 4 (d), Áncash

**Figura 28**

Zona experimental en proceso de biorremediación en el bofedal 2 durante los monitoreos 5(a), 6 (b), 7 (c) y 8 (d), Áncash.



Tabla 5

Concentración promedio de metales pesados en la turba y tejidos de cojines de D. muscoides trasplantados y no trasplantados para la biorremediación de una zona experimental en el bofedal 2, subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash.

Metales pesados	Cojines trasplantados (promedio concentración inicial)*			Cojines trasplantados (promedio concentración final)*			Cojines no trasplantados (testigos) (promedio concentración final)**		
	Turba	Tejido radicular	Tejido aéreo	Turba	Tejido radicular	Tejido aéreo	Turba	Tejido radicular	Tejido aéreo
Aluminio (Al)	2410,45	180,70	203,65	6791,50	1866,50	3440,03	11888,40	7447,33	3352,03
Arsénico (As)	14,49	3,00	3,00	13,85	5,05	13,54	41,31	36,59	11,14
Cobre (Cu)	23,045	4,42	2,85	6,63	4,79	3,42	5,26	6,08	6,33
Cromo(Cr)	3,525	1,00	1,00	1,90	0,66	4,42	4,04	2,72	2,62
Hierro (Fe)	3514,6	825,81	698,24	42904,16	12439,38	28430,34	76552,36	52627,02	13338,77
Manganeso (Mn)	22,845	99,10	261,36	803,68	593,42	1011,44	1000,30	554,75	1191,76
Plomo (Pb)	72,7	6,21	8,60	8,63	5,19	4,22	9,25	6,46	2,36
Zinc (Zn)	377,35	70,62	58,46	27,86	28,01	30,06	14,92	19,55	29,37

*A2,B1,B3: cojines trasplantados

**C1,C2,C3: cojines no trasplantados

Figura 29

Variación de la temperatura del agua a la entrada y salida de la zona experimental con cojines de *D. muscoides* trasplantados para la biorremediación en el bofedal 2 , subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash.

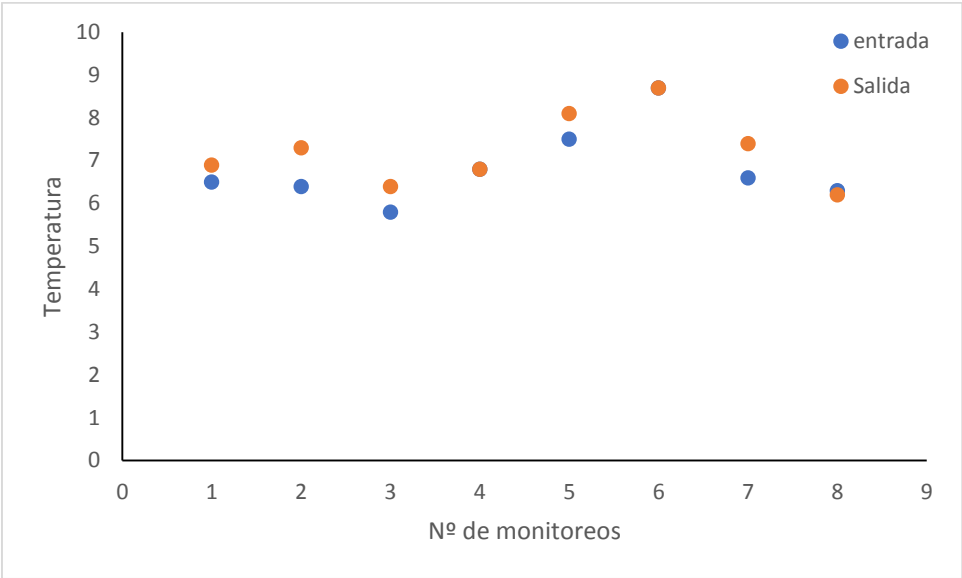


Figura 30

Variación del pH del agua a la entrada y salida de la zona experimental con cojines de *D. muscoides* trasplantados para la biorremediación en el bofedal2 , sSubcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash.

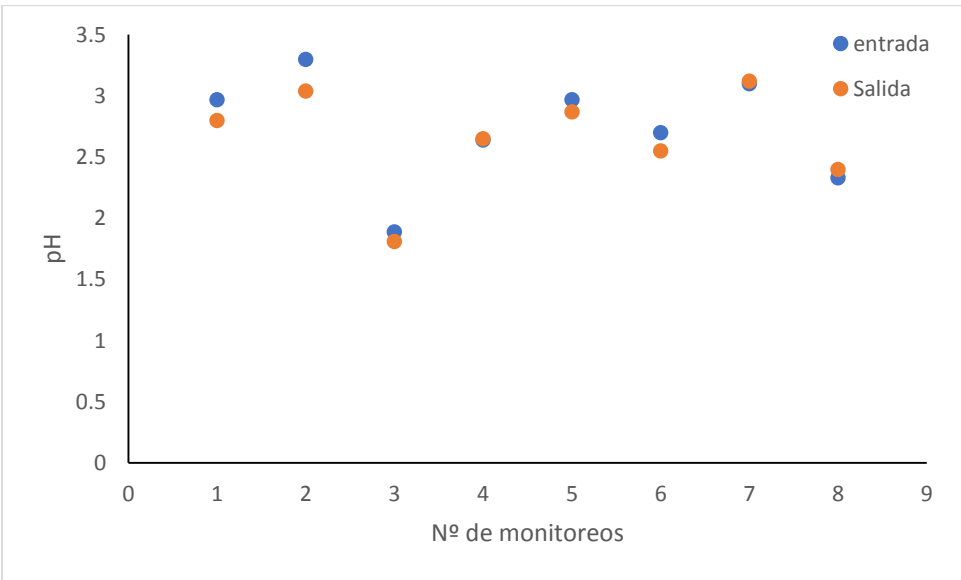


Tabla 6

Potencial remediador de los cojines de D. muscoides trasplantados y no trasplantados para la biorremediación de una zona experimental del bofedal 2, subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash

Metales por bofedal	Cojines trasplantados				Cojines no trasplantados (testigo)			
	Tejido radicular		Tejido aéreo		Tejido radicular		Tejido aéreo	
	FBA	Capacidad de la tejido radicular	FBA	Capacidad de la tejido aéreo	FBA	Capacidad de la tejido radicular	FBA	Capacidad de la tejido aéreo
Aluminio (Al)	0,43	Exclusora	0,85	Exclusora	0,66	Exclusora	0,45	Exclusora
Arsénico (As)	0,40	Exclusora	1,20	Acumuladora	0,90	Exclusora	0,27	Exclusora
Cobre (Cu)	0,78	Exclusora	0,57	Exclusora	1,16	Acumuladora	1,22	Acumuladora
Cromo (Cr)	0,42	Exclusora	3,77	Acumuladora	0,67	Exclusora	0,65	Exclusora
Hierro (Fe)	0,58	Exclusora	1,40	Acumuladora	0,73	Exclusora	0,16	Exclusora
Manganeso (Mn)	0,75	Exclusora	1,28	Acumuladora	0,55	Exclusora	1,19	Acumuladora
Plomo (Pb)	0,79	Exclusora	0,71	Exclusora	0,78	Exclusora	0,29	Exclusora
Zinc (Zn)	1,05	Acumuladora	1,25	Acumuladora	1,36	Acumuladora	2,00	Acumuladora

Tabla 7

Comparación de la capacidad potencial para la biorremediación de los cojines de D. muscoides trasplantados y no trasplantados en una zona experimental en el bofedal 2, subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash

Metales	Cojines trasplantados			Cojines no trasplantados		
	Capacidad según FBA*		Capacidad según	Capacidad según FBA		Capacidad según
			FT**			FT
	Tejido radicular	Tejido aéreo	Cojín	Tejido radicular	Tejido aéreo	Cojín
Aluminio (Al)	Exclusora	Exclusora	Fitoextractora	Exclusora	Acumuladora	Fitoextractora
Arsénico (As)	Exclusora	Acumuladora	Fitoextractora	Exclusora	Exclusora	Fitoestabilizadora
Cobre (Cu)	Exclusora	Exclusora	Fitoestabilizadora	Acumuladora	Acumuladora	Fitoextractora
Cromo (Cr)	Exlcusora	Acumuladora	Fitoextractora	Exclusora	Exclusora	Fitoestabilizadora
Fierro (Fe)	Exclusora	Acumuladora	Fitoextractora	Exclusora	Exclusora	Fitoestabilizadora
Manganeso(Mn)	Exclusora	Acumuladora	Fitoextractora	Acumuladora	Acumuladora	Fitoextractora
Plomo (Pb)	Exclusora	Exclusora	Fitoestabilizadora	Exclusora	Exclusora	Fitoestabilizadora
Zinc (Zn)	Acumuladora	Acumuladora	Fitoextractora	Exclusora	Exclusora	Fitoestabilizadora

*FBA: Factor de bioacumulación

**FT: Factor de traslocación

Durante el monitoreo de la adaptación de los rectángulos de cojines de *D. muscoides* trasplantados se observó la persistencia del vigor y el color verde en las plantas durante las ocho evaluaciones. En el primer monitoreo el pH del agua fue de 2,78 a la entrada y 2,81 a la salida del canal, entre cada cojín el promedio fue de 3,40. La temperatura del agua fue de 6,1 °C a la entrada del canal natural de la zona experimental y de 6,9 °C en la salida, entre cada cojín trasplantado el promedio fue de 6,9 °C. En el segundo monitoreo los valores de pH del agua fueron de 3,03 a la entrada y 3,04 a la salida del caudal, entre cada cojín el promedio fue de 3,56. La temperatura del agua fue de 6,3 °C a la entrada del caudal natural de la zona experimental y de 7,3 °C en la salida del caudal, entre cada cojín trasplantado el promedio fue de 7,3 °C. Asimismo, en el tercer monitoreo los valores pH del agua fue de 1,77 a la entrada y 1,81 a la salida del canal, entre cada cojín el promedio fue de 2,18. La temperatura del agua fue de 5,5°C a la entrada del caudal natural de la zona experimental y de 6,5 °C en la salida del caudal, entre cada cojín trasplantado el promedio fue de 6,4 °C. En el cuarto monitoreo los valores pH del agua fueron de 2,61 a la entrada y 2,65 a la salida del caudal, entre cada cojín el promedio fue de 2,68. La temperatura del agua fue de 6,6°C a la entrada del caudal natural de la zona experimental y de 6,8 °C en la salida del caudal, entre cada cojín trasplantado el promedio fue de 7,0 °C (Anexo 24).

A partir del quinto monitoreo la zona experimental se inundó y no se pudo obtener información de la temperatura y pH del agua entre cada cojín pero si a la entrada y la salida del área experimental. En el quinto monitoreo el pH fue en la entrada del canal natural 2,97 y 2,87 en la salida y la temperatura del agua fue de 7,5 °C y 8,1 °C respectivamente. En el sexto monitoreo el pH en la entrada del canal natural fue de 2,41 y 2,55 en la salida y la temperatura del agua fue de 6,3 °C y 8,7 °C respectivamente. En los monitoreos 7 y 8 el agua bajó y los cojines ya no se encontraban inundados. En el séptimo monitoreo el pH en la entrada del canal natural fue de 3,10 y 3,12 en la salida y la temperatura del agua fue de 6,63 °C y 7,35 °C respectivamente. En el octavo monitoreo los valores del pH en la entrada del caudal natural fueron 2,33 y 2,40 en la salida y la temperatura del agua fue de 6,3 °C y 6,2 °C respectivamente. (Anexo 24).

Desde el primer monitoreo hasta el cuarto monitoreo en todos los cojines de *D. muscoides* se observó la persistencia del vigor y coloración verde. En el

quinto monitoreo no se pudo diferenciar el vigor y la coloración de las plantas debido a la inundación y cobertura de sedimento producto de las lluvias. Del sexto al octavo monitoreo se observó una coloración negruzca en los bordes y/o parte media de la mayoría los rectángulos de cojines de *D. muscoides*. En el monitoreo 8 se seleccionaron de forma aleatoria los cojines A1, A2, B2 y B3 y en el laboratorio se determinaron las características morfológicas.

La cobertura verde observada en los cojines de *D. muscoides* de la zona experimental tuvo un rango promedio de 34,3 – 97,9 % y la cobertura negra de 2,1 – 65,7 % en comparación a 100 % de cobertura verde y ausencia de cobertura negra en los testigos. El radio mayor tuvo un rango de 26-38 cm y el radio menor fue de 21 – 44 cm en los cojines de *D. muscoides* de la zona experimental biorremediada en comparación con 30 – 32 cm y 20 – 21 cm respectivamente en los testigos (Anexo 25).

El área total de los seis cojines de *D. muscoides* en la zona experimental fue de un rango de 546 - 1672 Π , con un rango de área verde de 177- 1498 Π y un rango de área negra de 24 – 452 Π en comparación con el rango de área total 600 – 672 Π ; rango de área verde 600 – 672 Π y ausencia del área negra respectivamente en los testigos. Respecto a las raíces en los seis cojines del área experimental se observaron pocas en los cojines A1 y A2, regular cantidad en el cojín B2 y abundante cantidad en el cojín B3 en comparación con las raíces abundantes en los testigos (Anexo 25).

Los resultados de las concentraciones iniciales de metales (mg/L) en el agua del bofedal 1 en la zona A (BOF1–AT–AG) fueron: 0,0200 de aluminio (Al); 0,0010 de cobre (Cu); 0,0320 de hierro (Fe); 0,0036 de manganeso (Mn) y 0,0004 de zinc (Zn) y en la zona B (BOF1-BT-AG) fue: 0,0200 de aluminio (Al); 0,0020 de cobre (Cu); 0,0480 de hierro (Fe); 0,0036 de manganeso (Mn) y 0,0004 de zinc (Zn). En el bofedal 2 (BOF2-BT-AG) la concentración promedio (mg/L) fueron: 1,910 de aluminio (Al); 0,0060 de cobre (Cu); 1,4050 de hierro (Fe); 0,5630 de manganeso (Mn) y 0,0522 de zinc (Zn).

En la turba, el promedio de las concentraciones iniciales de metales (mg/Kg) en el bofedal 1 en la zona A (BOF1–AT) fueron: 1651,80 de aluminio (Al); 0,0010 de cobre (Cu); 0,0320 de hierro (Fe); 0,0036 de manganeso (Mn) y 0,0004 de zinc (Zn) y en la zona B (BOF1-BT-AG) fueron: 0,0200 de aluminio (Al); 0,0020 de cobre (Cu); 0,0480 de hierro (Fe); 0,0036 de manganeso (Mn) y

0,0004 de zinc (Zn). En el bofedal 2 la concentración promedio (mg/L) fue: 1,910 de aluminio (Al); 0,006 de cobre (Cu); 1,405 de hierro (Fe); 0,563 de manganeso (Mn) y 0,052 de zinc (Anexo 27).

En el tejido radicular de *D. muscoides* el promedio de las concentraciones iniciales de metales en el bofedal 1 en la zona A (BOF1-AT) fueron: 127,00 de aluminio (Al); 3,00 de arsénico (As); 3,62 de cobre (Cu); 260,91 de hierro (Fe); 136,91 de manganeso (Mn); 3,16 de plomo (Pb) y 54,69 de zinc (Zn) y en la zona B (BOF1-BT) fueron: 234,40 de aluminio (Al); 3,00 de arsénico (As), 5,21 de cobre (Cu); 1390,70 de hierro (Fe); 61,29 de manganeso (Mn); 9,26 de plomo (Pb) y 86,54 de zinc (Zn). En el bofedal 2 (BOF2-BT) las concentraciones promedio (mg/L) fueron: 4656,80 de aluminio (Al); 45,76 de arsénico (As); 5,65 de cobre (Cu); 28258,77 de hierro (Fe); 69,68 de manganeso (Mn); 12,71 de plomo (Pb) y 12,49 de zinc. (Anexo 28).

En el tejido aéreo de *D. muscoides* el promedio de las concentraciones iniciales de metales en el bofedal 1 en la zona A (BOF1-AT) fueron: 126,10 de aluminio (Al); 3,00 de arsénico (As); 2,18 de cobre (Cu); 311,18 de hierro (Fe); 321,87 de manganeso (Mn); 6,67 de plomo (Pb) y 51,86 de zinc (Zn) y en la zona B (BOF1-BT) fueron: 281,20 de aluminio (Al); 3,00 de arsénico (As), 3,51 de cobre (Cu); 1085,30 de hierro (Fe); 200,84 de manganeso (Mn); 10,52 de plomo (Pb) y 65,06 de zinc (Zn). En el bofedal 2 (BOF2-BT) las concentraciones promedio (mg/L) fueron: 6320,30 de aluminio (Al); 55,47 de arsénico (As); 7,88 de cobre (Cu); 3251,60 de hierro (Fe); 124,72 de manganeso (Mn); 13,74 de plomo (Pb) y 22,36 de zinc (Anexo 29).

Los resultados de las concentraciones finales de metales (mg/L) obtenidos en el agua de la entrada de la zona experimental (BOF2-AG-I) del bofedal 2 fueron: 2,92 de aluminio (Al); 0,009 de arsénico (As); 0,004 de cobre (Cu); 1,531 de hierro (Fe); 0,906 de manganeso (Mn); 0,028 de plomo (Pb) y 0,098 de zinc (Zn). En la salida de la zona experimental (BOF2-AG-S) las concentraciones (mg/L) fueron: 2,730 de aluminio (Al); 0,008 de arsénico (As); 0,003 de cobre (Cu); 1,424 de hierro (Fe); 0,874 de manganeso (Mn); 0,027 de plomo (Pb) y 0,091 de zinc (Anexo 30). En la turba de los cojines trasplantados en la zona experimental del bofedal 2, el promedio de concentración final de metales (mg/kg) fueron: 6791,50 de aluminio (Al); 13,85 de arsénico (As); 6,63 de cobre (Cu); 42904,16 de hierro (Fe); 803,68 de manganeso (Mn); 8,63 de plomo (Pb) y

27,86 de zinc y en los cojines no trasplantados (testigos) fueron: 11888,40 de aluminio (Al); 41,30 de arsénico (As); 5,26 de cobre (Cu); 76552,36 de hierro (Fe); 1000,30 de manganeso (Mn); 9,25 de plomo (Pb) y 14,92 de zinc (Anexo 31).

En el tejido radicular de *D. muscoides* trasplantados en la zona experimental del bofedal 2, el promedio de las concentraciones finales de metales (mg/kg) fueron: 1866,50 de aluminio (Al); 5,05 de arsénico (As); 4,79 de cobre (Cu); 12439,38 de hierro (Fe); 593,42 de manganeso (Mn); 5,19 de plomo (Pb) y 28,01 de zinc (Zn) y en los cojines no trasplantados (testigos) fue: 7447,33 de aluminio (Al); 36,59 de arsénico (As); 6,08 de cobre (Cu); 52627,02 de hierro (Fe); 554,75 de manganeso (Mn); 6,46 de plomo (Pb) y 19,55 de zinc (Anexo 32).

En el tejido aéreo de *D. muscoides* trasplantados de la zona experimental del bofedal 2, el promedio de concentración final de metales (mg/kg) fueron: 3440,03 de aluminio (Al); 13,54 de arsénico (As); 3,42 de cobre (Cu); 28430,34 de hierro (Fe); 1011,44 de manganeso (Mn); 4,22 de plomo (Pb) y 30,06 de zinc (Zn) y en los cojines no trasplantados (testigos) fueron: 3352,03 de aluminio (Al); 11,14 de arsénico (As); 6,33 de cobre (Cu); 13338,77 de hierro (Fe); 1191,76 de manganeso (Mn); 2,36 de plomo (Pb) y 29,37 de zinc (Anexo 33).

El análisis de los resultados de la concentración de metales se realizó mediante el programa estadístico Infostat. El análisis de datos se hizo mediante “box plot” o caja y bigotes y se analizó los casos de valores extremos. Se realizó la prueba de normalidad de Shapiro Wilks donde $p > 0,05$, nos indicó que los datos presentaban una distribución normal por lo que se utilizó la prueba paramétrica ANOVA para determinar si existía diferencia significativa en los valores de la concentración de Al, As, Cu, Cr, Fe y Pb en la turba; Al, As, Cu, Mn, Pb y Zn en el tejido radicular y Al, As, Fe, Mn, Pb y Zn en el tejido aéreo. Asimismo, para valores que no presentaban una distribución normal ($p < 0,05$) se utilizó la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para determinar si hay diferencia significativa de Mn y Zn en la turba; Cr y Fe en el tejido radicular y Cu y Cr en el tejido aéreo (Anexos 34 a 39)

El análisis de varianza (ANOVA) demostró que las concentraciones de metales de los bofedales 1 y 2 fueron estadísticamente iguales ($p > 0,05$); para Fe, Mn, Zn y Pb en la turba; Zn y Pb en el tejido radicular y Cd en el tejido aéreo.

Por el contrario, las concentraciones de metales de los bofedales 1 y 2 fueron estadísticamente diferentes ($p < 0,05$); para los casos de As y Cr en la turba; Al y As en el tejido radicular y Pb en el tejido aéreo (Anexos 34,36,38). La prueba de Kruskal Wallis demostró que las concentraciones de metales pesados de los bofedales 1 y 2 fueron estadísticamente iguales ($p > 0,05$) para Zn y Mn en turba; Cr y Fe en el tejido radicular y Cu y Cr en el tejido aéreo (Anexos 35,37,39).

V. DISCUSIÓN

5.1 Características del agua, turba, tejido radicular y aéreo de *D. muscoides* y presencia de bacterias sulfato reductoras en el sedimento de cuerpos de agua de dos bofedales 1 y 2 sin aparente impacto y con impacto de drenaje ácido de roca, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021

En el agua, turba y tejido radicular y aéreo de *D. muscoides* de los bofedales 1 y 2 sin aparente y con impacto DAR respectivamente, se cuantificaron los metales Cd, Fe, Mn, y Zn (agua) y Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn (turba y tejidos), condición que calificó a ambos bofedales como impactados por DAR; no obstante, el bofedal 2 presentó mayor concentración de Fe, con un promedio de 7830,47 mg/kg en comparación con 774,21 mg/kg en el bofedal 1. El Fe junto con el Al son los principales metales disueltos en el DAR (Zimmer et al., 2018). Asimismo, el bofedal 2 presentó en el agua una mayor concentración promedio de manganeso (0,4840 mg/L) en comparación con el bofedal 1 (0,0002 mg/L) e incluso superó los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) del agua, en la categoría 4. Al respecto, las reacciones de neutralización también influyen en el DAR. La mayoría de minerales de carbonato se disuelven rápidamente; no obstante, la hidrólisis del Fe o del Mn, tras la disolución de sus respectivos carbonatos y posterior precipitación puede generar acidez (INAP, 2014).

El agua del bofedal 2 presentó un rango de pH (3,95-6,35), más ácido que el bofedal 1 (7,13-7,30). El pH ácido es consecuencia del DAR, producto del retroceso de los glaciares y posterior oxidación de las rocas mineralizadas que quedaron al descubierto. El pH aumenta la disponibilidad de los iones metálicos disueltos en el agua y por lo tanto se incrementa la toxicidad para los seres vivos (Zimmer et al., 2018). Al respecto, Martel et al. (2018) investigaron la variación del pH en aguas superficiales de la subcuenca Quillcay (Áncash) como consecuencia del DAR producto del retroceso de los glaciares y determinaron que dos microcuencas (Quillcayhuanca y Shallap) de las cuatro investigadas presentaron acidez permanente (3,11-3,76 y 3,48-3,90, respectivamente). Asimismo, la línea de tendencia mostró una disminución paulatina del pH en lugares donde no existe actividad minera, por ello evidenciaron un impacto natural como producto del retroceso glaciario.

Ocaña (2017), concluyó que los glaciares Quitaraju, Rinrijirca, Taulliraju y Artensoraju al igual que los demás glaciares de la cordillera Blanca están sufriendo procesos acelerados de desglaciación. En este contexto, áreas que antes estuvieron cubiertas, en la actualidad están expuestas y sometidas a la erosión glacial acelerada y a los procesos de criofacción que favorecen la formación de material morrénico. Se observan espacios descubiertos en la periferia de los glaciares, donde resalta la roca con mineral sulfurado (pirita, calcopirita) que por acción del oxígeno, agua y microorganismos se oxida y forma ácido sulfúrico que disuelve los minerales. De igual manera, Martel et al. (2018) describieron evidencias del retroceso de los glaciares en la microcuenca Quillcahuanca (Cordillera Blanca) como es el caso de una fragmentación de la zona glacial que dejó expuesta una nueva área y un afloramiento de una roca ígnea hipoabisal que presentan pirita, calcopirita y esfalerita con una alteración asociada a los óxidos de hierro.

Respecto a la temperatura del agua, los rangos fueron similares en los bofedales 1 y 2, con valores máximos de 12,3 °C y 14,7 °C respectivamente. Se coincide con la investigación de La Matta (2020), quien determinó que la temperatura del agua se mantuvo constante a lo largo del año en los diferentes puntos de la subcuenca Quillcay (Cordillera Blanca), por lo que no contribuyó a las diferencias en la calidad del agua de los lugares potencialmente afectados y no afectados por DAR. El investigador estudió la calidad del agua de la subcuenca en lugares potencialmente no afectados por DAR (pH 7,0 y muy baja concentración de metales) y potencialmente afectados por DAR (pH ácido y elevada concentración de metales) y determinó diferencias significativas en los parámetros físico-químicos de ambos lugares.

En ambientes impactados con DAR el agua presenta un pH (3,60-4,42) significativamente menor ($p < 0,001$) que el agua sin DAR (6,95-7,13) como lo demostró La Matta (2020), registrando una acidez permanente (3,11-3,90) como lo reportaron Martel et al. (2018); no obstante, en la presente investigación el pH promedio fue de 3,95-6,35 (bofedal 2) y 7,13-7,30 (bofedal 1), rango de pH menos ácido. En ambos bofedales se cuantificaron metales en la turba, parte aérea y radicular de *D. muscoides*, además el pH ácido es un indicador característico de ambientes impactados con DAR, por ello es posible asumir que existe fitorremediación en ambos bofedales (Zimmer et al., 2018), en

los que el factor de traslocación calificó a las plantas como fitoextractoras de Cd, Cu, Pb y Mn en el bofedal 1 y Cd, Cu, Fe, Mn y Zn en el bofedal 2.

La aseveración planteada se sustenta en nuestros resultados obtenidos (mg/kg) Cd (14,23), Cu (4,19); Fe (6583,57); Mn (136,50) y Zn (80,74) en comparación con el reporte de Luna (2018) quien realizó una investigación sobre la remediación de aguas ácidas proveniente del nevado Pastoruri en humedales artificiales con *D. muscoides* y *Calamagrostis glacialis*. Transcurridos 9 meses, en las plantas se cuantificaron (mg/kg) los metales de Al (78,6); Cd (0,150), Cu (4,06); Fe (192,30); Mn (138,10); Ni (11,6) y Zn (1,93). El pH del agua a la entrada al humedal fue de 2,9-3,6 y a la salida de 3,87-5,30, tal que se evidenció el incremento del pH aunque el nivel alcanzado se encontró por debajo del estándar de calidad ambiental para agua (6,5-8,5). Por su parte, Palomino (2007) realizó una investigación sobre la fitorremediación del agua impactada con DAR en las quebradas de Quilcayhuanca y Rúrec (Cordillera Blanca). En los humedales se identificaron *Juncus imbricatus*, *Myriophyllum quítense*, *Schoenoplectus americanus*, *Polypogon interruptus*, *Stenadrimum dulce* y *Plantago rigida*. En el agua del afluente de los humedales se cuantificaron los metales Cd (<0,003-0,034 mg/kg), Fe (0,127-4,325 mg/kg), Pb(<0,0015-2,150 mg/kg) y Zinc (0,026-0,402 mg/kg) y en el efluente Cd (<0,003-0,037 mg/kg), Fe (0,005-0,298 mg/kg), Pb (<0,0015-0,920 mg/kg) y Zn (0,011-0,520 mg/kg), valores que demostraron una disminución de los metales de 11-96 % (Cd), 47-61 % (Fe), 60-63 % (Pb) y 21-38 % (Zn), Asimismo, se cuantificaron los metales Cd, Fe, Pb y Zn en la cobertura vegetal, resultados que demostraron la fitorremediación de las aguas contaminadas con DAR.

La presencia de bacterias sulfato reductoras (BSR) en el sedimento de los cuerpos de agua de los bofedales 1 y 2 se evidenció por el ennegrecimiento observado en la zona anaerobia de las columnas de Winogradsky, además de gas y turbidez. Las columnas son utilizadas para enriquecer diversos procariotas aerobios y anaerobios diferenciados por el color y relacionados con la concentración de oxígeno, pH y luz. El gas es producto de la degradación anaerobia de la materia orgánica produciendo biomasa y gases metano, dióxido de carbono, amoníaco, nitrógeno y sulfuro de hidrógeno mediante la actividad secuencial de bacterias hidrolíticas y fermentadoras, acetogénicas obligadas, reductoras de hidrógeno, sulfato reductoras consumidoras de hidrógeno,

homoacetogénicas, desnitrificantes y metanogénicas. Las coloraciones anaranjada, roja, púrpura y verde en la zona microaerófila de las columnas correspondió a las bacterias púrpuras y verdes oxidantes del azufre que utilizan el sulfuro de hidrógeno liberado por la descomposición de la materia orgánica y reducción de sulfatos en anaerobiosis. La coloración anaranjada en la parte superior de la zona microaerófila correspondió a las bacterias púrpuras no oxidantes del azufre que obtienen su energía por fotosíntesis anoxigénica (Orrego, 2019; López y Fuentes, 2015; Moreno et al., 2012).

En la región anaerobia con ennegrecimiento de las columnas se verificó la presencia de BSR al igual que Orrego (2019), quien diferenció consorcios de BSR en la zona sulfato reductora ennegrecida de las columnas de Winogradsky procesadas con lodo residual del tratamiento de aguas residuales. Las BSR utilizan el sulfato y el azufre como aceptores de electrones, compuestos orgánicos e hidrógeno como donadores de electrones y producen sulfuro de hidrógeno al término de la reducción. La coloración negra de la zona sulfato reductora es consecuencia de la precipitación del sulfuro con los metales reducidos como el hierro depositados en el fondo de las columnas de Winogradsky (Bachetti et al., 2015). Las BSR producen aproximadamente 2 moles de alcalinidad por mol de sulfato reducido y de esta manera pueden neutralizar el pH de las aguas ácidas. Los iones bicarbonato consumen los protones y elevan el pH del agua ácida. Por cada mol de sulfato reducido generan un mol de sulfuro y éste precipita los metales pesados como sulfuros metálicos de baja solubilidad (Cadillo, 2017).

Las BSR pueden remover metales pesados de aguas contaminadas, en un proceso de dos etapas: en la primera las BSR oxidan los compuestos orgánicos (lactato, acetato, propionato), con el sulfato como aceptor de electrones y los productos sulfuro de hidrógeno y ion bicarbonato. En la segunda etapa el sulfuro de hidrógeno reacciona con los metales pesados (Cu, Zn, Ni) disueltos para formar sulfuros metálicos insolubles (López y Fuentes, 2016). Al respecto, Palomino (2007) aisló BSR en el sedimento de humedales impactados con DAR e identificó los géneros *Desulfovibrio* y *Desulfosarcina*. El investigador demostró la eficiencia de los sistemas de humedales para la biorremediación de DAR y concluyó que las BSR, humus y plantas establecen interacciones para la biorremediación de ambientes contaminados.

En el bofedal 2 se verificó la presencia de las BSR en el 66,7 % de las columnas en comparación con el 16,67 % de las columnas del bofedal 1, diferencia que puede ser atribuida al mayor impacto del bofedal 2 con DAR. Como consecuencia de una mayor oxidación de los minerales sulfurados se eleva la concentración de sulfato utilizado como aceptor de electrones. Además para el desarrollo de las BSR requiere la exclusión del oxígeno, presencia de sulfatos y una fuente de carbono (Cadillo, 2017). Este resultado junto a un rango de pH más ácido y una mayor concentración de metales en el bofedal 2 es producto del impacto directo del DAR, es por ello que en este bofedal se encontró mayor porcentaje de presencia de BSR que en el bofedal 1.

Los microorganismos favorecen mediante mecanismos directos e indirectos la fitorremediación de los ambientes contaminados (Gavrilescu, 2022). Las BSR aumentan la fitorremediación de manera directa porque reducen los sulfatos hasta sulfuros y disminuyen el pH, condición que incrementa la solubilidad de metales (Lopez y Fuentes, 2016). Los microorganismos rizósfericos como las BSR benefician a las plantas mediante mecanismos directos (fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato, producción de auxinas, citoquininas y giberelinas y regulación del nivel de etileno) y mecanismos indirectos o de control biológico que reducen a los fitopatógenos (Gavrilescu, 2022). De esta forma, las raíces que forman la turba de los bofedales pueden absorber una mayor concentración de metales pesados, explicación que se verifica con los factores de bioacumulación (FBA) alcanzados por *D. muscoides*. El FBA calificó a las plantas como acumuladoras de Al, Cd, Cu y Pb en ambos bofedales, hiperacumuladores de Zn en el bofedal 1 y de Fe y Mn en el bofedal 2. Estos resultados comprobaron el potencial de *D. muscoides* para la fitorremediación como los estudios realizados por Zimmer et al., 2018 y Luna, 2018 y la aseveración expuesta de que en ambos bofedales (1 y 2) existía fitorremediación al momento de la investigación.

Las plantas de *D. muscoides* formadores de cojines que se encontraron en los bofedales 1 y 2 pueden acumular metales pesados en su biomasa tal como lo demostró en un estudio Morales, 2019; no obstante, los humedales del ámbito de la comunidad campesina de Cátac al igual que la mayoría de la Reserva Biósfera Huascarán se encuentran afectados por las actividades agrícolas, ganaderas y mineras, así como también por las sequías prolongadas

(Hirsh, 2016). En este contexto, se investigó el trasplante de *D. muscoides* de un bofedal menos impactado a otro más impactado con DAR, como una alternativa para acelerar la fitorremediación. Además, se debe enfatizar que las plantas del género *Distichia* remediadoras de metales, son predominantes en bofedales de Apurímac, Ayacucho, Cajamarca, Cuzco, Huancavelica y Moquegua a 4627-4770 m.s.n.m (Maldonado, 2014) y Áncash a 4954 m.s.n.m (Luna, 2018).

4.2 Factores de bioacumulación y traslocación calculados en la turba y cojines de *D. muscoides* trasplantados para la biorremediación de una zona experimental en el bofedal 2, subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash

Los cojines de *D. muscoides* procedentes del bofedal 1 que fueron trasplantados al bofedal 2, se adaptaron con éxito y de esta manera se demostró que el trasplante es una técnica alternativa para recuperar los bofedales impactados. De igual forma Luna (2018) reporta que colectó cojines de *D. muscoides* y los trasplantó a humedales artificiales para el tratamiento de DAR proveniente del nevado de Pastoruri. Después de 9 meses las plantas presentaron un crecimiento de 3,3 cm en la raíz y 2,8 cm en la parte aérea, acumularon metales pesados, así como también aumentaron el pH y disminuyeron los metales pesados en el efluente del humedal.

La acumulación de metales (Al, As, Cu, Cr, Fe, Mn, Pb y Zn) por los cojines de *D. muscoides* trasplantados y no trasplantados determinados en esta investigación coincide con el estudio de Morales (2019) quien reportó la acumulación de As, Mn, Pb por estas plantas en el humedal Uquian (Áncash) y Luna (2018) quien calificó a las plantas de *D. muscoides* como hiperacumuladoras de Al, Mn y Ni y acumuladoras de Fe y Zn en humedales construidos para recuperar el agua contaminada con DAR proveniente del Pastoruri. La bioacumulación es el proceso por el cual las raíces y parte aérea de las plantas almacenan los metales en sus tejidos, tal como lo reportaron Jara et al. (2017) en los casos del *Calamagrostis rigida* y *Myriophyllum quíntense* (Cd, Cu, Pb) y Zn), Custodio y Peñaloza (2021) para el *Schanoplectus californicus* (Pb). También Becerril et al. (2017) lo reporta para el *Thalaspi caevulescens* (Zn) y Bobadilla et al. (2013) para el *C. ligulata* y *Juncus limbricatus* (As, Pb, Al, Fe, Zn).

El factor de bioacumulación (FBA) relaciona la concentración del metal en las raíces (FBA- R) o en el follaje (FBA-A) con la concentración del metal en la turba o suelo orgánico (Luna, 2018). El FBA califica a las plantas en exclusoras o excluyentes (<1), acumuladoras (1-10) e hiperacumuladoras (>10). Según los resultados de esta investigación para el FBA los cojines de *D. muscoides* trasplantados y no trasplantados se calificaron como exclusores de As, Cr, Fe y Al (parte radicular) y Pb (parte radicular y aérea); no obstante los cojines trasplantados se calificaron como acumuladores de As, Cr, Fe, Mn y Zn y los cojines no trasplantados de Mn y Cu (parte aérea). Las plantas exclusoras acumulan metales en las raíces, pero no lo transportan a la parte aérea y son eficientes para la fitoestabilización de estos contaminantes (Luna, 2018).

El transporte de metales desde la raíz hacia la parte aérea de los cojines de *D. muscoides* trasplantados (As, Cr, Fe, Al, Mn, Zn) y no trasplantados (Al, Mn, Cu) coincide con el reporte de Morales (2019) quien demostró la traslocación de del aluminio en plantas de un humedal. Esta capacidad es de suma importancia para los ecosistemas investigados, debido a que el As junto al Pb son los elementos con mayor efecto negativo y favorecen la degradación ambiental de lo bofedales (Custodio et al., 2021). El factor de traslocación o transferencia (FT) relaciona la acumulación de metales en la parte aérea con respecto a la raíz y es usado para medir la efectividad de la planta en el transporte de metales desde las raíces hasta el follaje (Jara et al 2017).

Los factores de bioacumulación de la parte aérea (FBA) y traslocación (FT) son índices para la evaluación de la viabilidad de cualquier especie vegetal y su potencial de uso en la fitoextracción o en la fitoestabilización. El FT >1 y el FBA de la parte aérea >1 califican a las plantas como fitoextractoras y el FT <1 califica a las plantas como fitoestabilizadoras (Jara et al., 2017). En esta investigación se demostró que los cojines trasplantados de *D. muscoides* se adaptaron y comportaron como fitoextractores de Fe, Al, As, Cu, Mn y Zn . Los metales Fe y Al son los principales metales en el DAR, aunque también se pueden encontrar Cu, Mn y Zn (INAP, 2014).

La restauración de los bofedales es posible con la participación de la ciudadanía con interés y responsabilidad en la conservación de estos ecosistemas. Debido a su elevada concentración de carbono y la capacidad de captura del dióxido de carbono, la restauración de los bofedales es considerada

como una contribución significativa en la mitigación de los efectos del cambio climático (Suárez et al., 2022).

VI. CONCLUSIONES

- En la fase de caracterización del agua, turba, tejido radicular y aéreo de *D. muscoides* en los bofedales 1 y 2 se encontró presencia de los algunos metales como: Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn, es por ello que se califica a ambos bofedales como impactados por DAR; no obstante, el bofedal 2 presentó concentraciones muy superiores de Fe y Mn y un promedio de pH de 4,88, presentando agua ácidas, a diferencia del bofedal 1 que presentó un pH casi neutro (pones el promedio del pH). Además, se evidencia que el pH ácido es consecuencia del DAR, producto del retroceso del glaciar en el nevado Pastoruri y posterior oxidación de las rocas mineralizadas que quedaron al descubierto.
- La mayor presencia de BSR obtenidas a partir del sedimento de cuerpos de agua de los bofedales 1 y 2; se evidenció por el ennegrecimiento observado en la zona anaeróbica de las columnas de Winogradsky en el bofedal 2 con un porcentaje de 66,67% resultados obtenidos debido al mayor impacto por el DAR.
- Las BSR aumentan la fitorremediación de manera directa porque reducen los sulfatos hasta sulfuros y disminuyen el pH, condición que incrementa la solubilidad de metales. Los microorganismos rizósfericos como las BSR benefician a las plantas mediante mecanismos directos (fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato, producción de auxinas, citoquininas y giberelinas y regulación del nivel de etileno) y mecanismos indirectos o de control biológico que reducen a los fitopatógenos. De esta forma, las raíces que forman la turba de los bofedales pueden absorber una mayor concentración de metales pesados, explicación que se verifica con los factores de bioacumulación (FBA) alcanzados por *D. muscoides*.
- La *D. muscoides* trasplantada logro adaptarse con éxito en la zona experimental (BOF2-BT) en un periodo de 5 meses, lo cual se evidenció en el porcentaje promedio de la cobertura verde 74,4% comparado con el 100% de los testigos, la aparición de raíces nuevas en regular cantidad. De esta manera se evidenció que el trasplante es una alternativa para la recuperar los bofedales impactados.

- La *D. muscoides* demostró potencial de biorremediación en la zona experimental en el bofedal 2 (impactado con DAR). El factor de bioacumulación calificó los cojines de *D. muscoides* trasplantados después de 5 meses como acumuladores en el tejido aéreo de Cr (3,77), Fe (1,40), Mn (1,28), Zn (1,25) y As (1,20), en el tejido radicular de Zn (1,05) y los cojines de *D. muscoides* testigos como acumuladores en el tejido aéreo de Zn (2,00), Cu (1,22), Mn (1,19), en el tejido radicular de Zn (1,36) y Cu (1,16). El factor de traslocación calificó a los cojines de *D. muscoides* trasplantados como fitoextractores de Cr (6,63), Fe (2,70), Al (1,91), Mn (1,75), As (4,28) y Zn (1,19) y fitoestabilizadores de Pb (0,85) y Cu (0,72) en comparación con los cojines testigo que fueron fitoextractores de Cu (1,05), Mn (2,13) y Zn (1,57) y fitoestabilizadores de Al (0,59), As (0,33), Cr (0,92), Fe (0,22) y Pb (0,37). La restauración de los bofedales es considerada como una contribución significativa en la mitigación de los efectos del cambio climático.

VII. RECOMENDACIONES

- Comparar el potencial de biorremediación de *D. muscoides* sin y con trasplante durante la época de estiaje (para evitar inundaciones), de esta manera se tendrá un registro del comportamiento de *D. muscoides* en ambas épocas del año.
- Investigar el potencial de biorremediación de *D. muscoides* sin y con trasplante durante la época de estiaje y lluvia para comparar los factores de bioacumulación y traslocación, que permitirá conocer en que época del año la *D. muscoides* presenta un mejor rendimiento de remediación.
- Comparar la efectividad del trasplante y adaptación de *D. muscoides* en bofedales impactados por DAR durante períodos mayores a 1 año.
- Identificar las especies vegetales desarrolladas en los cojines de los bofedales en la subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash.
- Determinar la influencia de la interacción de las bacterias sulfato reductoras y la *D. muscoides* en la biorremediación de los bofedales impactados por DAR.
- Identificar las bacterias sulfato reductoras presentes en los bofedales de la subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash
- Investigar técnicas de propagación masiva de *D. muscoides* para el trasplante en bofedales impactados por DAR, como alternativa de restauración.
- Aislar e identificar tipos de bacterias rizósfericas de la turba formada por *D. muscoides* en bofedales sin y con impacto de DAR, para determinar la influencia de la interacción bacteria- planta.



ACTA DE SUSTENTACIÓN
ACTA DE SUSTENTACION N° 004-2023-FCCBB-UI

Siendo las 18:00 horas del día 27 de abril de 2023, se reunieron los Miembros del Jurado evaluador de la tesis titulada **“Potencial de *Distichia muscoides* en la biorremediación de un bofedal impactado con drenaje ácido de roca en Áncash”** designados por Resolución N° 045-2022- VIRTUAL-FCCBB/D de fecha 23 de febrero de 2022, con la finalidad de evaluar y calificar la sustentación de la tesis antes mencionada, conformada por los siguientes docentes:

Dr. Eduardo Julio Tejada Sánchez	Presidente
MSc. Ana María Juárez Chunga	Secretario
MSc. José Eliseo Ayasta Varona -Vocal	Vocal
Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán	Asesora
Dr. Pedro Miguel Tapia Ormeño	Coasesor
Msc. Yeidy Nayclin Montano Chávez	Coasesora

Acto de sustentación fue autorizado por Resolución N° 038-2023 -FCCBB/D, de fecha 25 de abril de 2023.

La Tesis presentada y sustentada por la **Bachiller MARÍA CRISTINA OTOYA FERNÁNDEZ**, tuvo una duración de 30 minutos. Después de la sustentación y absueltas las preguntas y observaciones de los miembros del jurado; se procedió a la calificación respectiva, otorgándole el calificativo de **(EXCELENTE) (20)** en la escala vigesimal.

Por lo que la Bachiller **MARÍA CRISTINA OTOYA FERNÁNDEZ** queda **APTA** para obtener el título profesional de Licenciada en Biología - Microbiología - Parasitología, de acuerdo con la Ley Universitaria 30220 y la normatividad vigente de la Facultad de Ciencias Biológicas y la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Siendo las 20:00 horas se dio por concluido el presente acto académico, dándose conformidad al presente acto, con la firma de los miembros del jurado.

Firman

Dr. Eduardo Julio Tejada Sánchez
Presidente

MSc. Ana María Juárez Chunga
Secretaria

MSc. José Eliseo Ayasta Varona
Vocal

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán,
Asesora

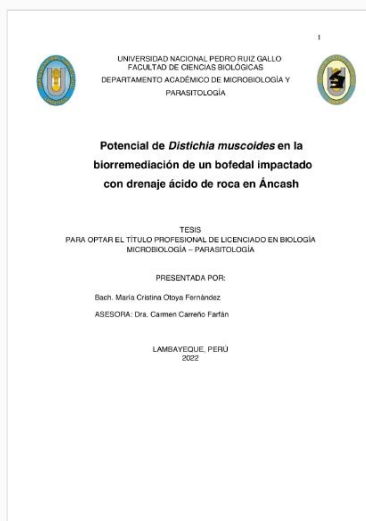


Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Maria Cristina Otoya Fernandez
 Título del ejercicio: Tesis pregrado
 Título de la entrega: Potencial de *Distichia muscoides* en la biorremediación de u...
 Nombre del archivo: Maria_Cristina_Otoya_Fernandez.pdf
 Tamaño del archivo: 6.21M
 Total páginas: 83
 Total de palabras: 22,486
 Total de caracteres: 113,943
 Fecha de entrega: 31-ene.-2023 11:29p. m. (UTC-0500)
 Identificador de la entre... 2003861916




 Carmen Rosa Carreño Farfán
 ASESORA

VIII. REFERENCIAS

- Álvarez, M., y Amancio, F. (2014). *Bioacumulación de metales pesados en peces y análisis de agua del río Santa y de la laguna Chinancocha-Llanganuco periodo 2012 – 2013* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo]. https://biorem.univie.ac.at/fileadmin/user_upload/p_biorem/education/research/publications/Theses/Tesis_Alvarez_y_Amancio_2014.pdf
- Autoridad Nacional del Agua, ANA (2011). *Protocolo Nacional de Monitoreo de la calidad en cuerpos naturales de agua superficial*. Ministerio de Agricultura. <https://repositorio.ana.gob.pe/bitstream/handle/20.500.12543/215/ANA000031.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Autoridad Nacional del agua, ANA (2018). *Pastoruri, ruta del cambio climático*. <https://repositorio.ana.gob.pe/bitstream/handle/20.500.12543/4779/ANA0003288.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bachetti, T., Barroeta, B., y Esteve A. (2015). La columna bioelectrogénica: una herramienta mica en para introducir conceptos de ecología microbiana y electroquí la educación secundaria. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 12(3), 529-535. <https://dx.doi.org/10-25267/>
- Bai, H., Kang, Y., Quan, H., Han, Y., Sun, J., y Feng, Y.,. (2013). Bioremediation of copper-containing wastewater by sulfate reducing bacteria coupled with Iron. *J. Environ. Management*. 129:350-356.
- Becerril, J., Barrutia, O., García Plazaola, J., Hernández, A., Olano, J., y Garbisu, C. (2007). Especies nativas de suelos contaminados por metales: aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación. *Revista Ecosistemas*, 16(2). <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/128>
- Bernex, N., y Tejada, M. (2010). *Cambio Climático, Retroceso Glaciar y Gestión Integrada de los Recursos Hídricos*. <https://keneamazon.net/Documents/Publications/Virtual-Library/Ecosistemas-Montanas/4.pdfBA>
- Bobadilla, C., Aliaga, E., Yupanqui, E., y Palomino, E. (2013). A phytoremediation approach using *Calamagrostis ligulata* and *Juncus imbricatus* in Andean wetlands of Peru. *Environ Monit Assess* 185, 323–334. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2552-x>
- Cadillo, E. (2017). *Propuesta de mejoramiento de la calidad de las aguas ácidas que drenan del pasivo ambiental de la mina Nuncia mediante el uso de bacterias sulfato reductoras – Ataquero – Carhuaz -Áncash* [Universidad Nacional Federico Villarreal]. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1407279>
- Castillo, J., Pérez, R., Caraballo, M., y Nieto, J. (2011). Precipitación de esfalerita y wurtzita por bacterias sulfato-reductoras. *Rev. Soc. Española Mineralogía*. 5, 57-58.
- Chang, K., Gonzales, M., Ponce, O., y et al. (2018). Accumulation of heavy metals in native Andean plants: potential tools for soil phytoremediation in Áncash (Peru). *Environmental Science Pollution Res*, (25), 33957–33966. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3325-z>

- Custodio, M., Fow, A., Peñaloza, R., y et al. (2019). Ecological Risk Due to Heavy Metal Contamination in Sediment and Water of Natural Wetlands with Tourist Influence in the Central Regio of Perú. *Journal of Ecological Engineering* 22 (5).78-87. <http://www.jeeng.net/pdf-135870-64354?filename=Evaluation%20of%20Surface.pdf>
- Custodio, M., Fow, A., Peñaloza, R., y et al. (2021). Evaluation of Surface Sediment Quality in Rivers with Firsh Farming Potencial (Peru) Using Indicators of Contamination, Accumulation and Ecological Risk of Heavy Metals and Arsenic. *Water* 13.2256. <http://www.jeeng.net/pdf-135870-64354?filename=Evaluation%20of%20Surface.pdf>
- Custodio, M., y Peñaloza, (2021). Evaluation of the Distribution of Heavy Metals and Arsenic in Inland Wetlands (Perú) Using Multivariate Statistical methods. *Ecological engineering y environmental Technology* 22 (3).104-11
- Garzón, J., Rodríguez, J., y Hernández, C. (2017) Revisión del aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Revista de la Universidad y Salud*, 19(2), 309-318. <http://dx.doi.org/10.22267/rus.171902.93>
- Gavrilescu, M. (2022). Enhancing phytoremediation of soils polluted with heavy metals, *Current Opinion in Biotechnology*. 74,bai 21-31 <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.10.024>.
- González, P., Suni M., Deanna, R., Scaldaferrro, M., Castañeda, E., Ramirez, D., y Cano, A. (2016). Biología reproductiva y citogenética de *Distichia muscoides* (Juncaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 51(1), 123-133. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v51.n1.14422>.
- Heike, H., Christoph, P., y Martina, W. (2011). M. *Technology Review of Constructed Wetlands Subsurface flow constructed wetlands for greywater and domestic wastewater treatment*. Eschborn.
- Hirsh, M. (2016). *Compilación sistemática de la situación actual en bofedales, bosques, paisajes, calidad de agua y praderas en la reserva de biósfera Huascarán, región Áncash*. http://mountain.pe/publicaciones/?_pag=2
- Instituto Nacional de Investigación en Glaciares y Ecosistema de Montaña, INAIGEM. (2018). Implementación de dos sistemas de biorremediación como estrategia para la prevención y mitigación de los efectos del drenaje ácido de roca en la Cordillera Blanca, Perú. *Revista de Glaciares y Ecosistema de Montaña*, 3(4). <https://revista.inaigem.gob.pe/index.php/RGEM/issue/view/4/Revista%20de%20Glaciares%20y%20Ecosistemas%20de%20Monta%C3%B1a%204>
- Jara, E., Gómez, J., Montoya, H., Sánchez, y et al. (2017). Acumulación de metales pesados en *Calamagrostis rigida* (Kunth) Trin ex Steud. (Poaceae) y *Myriophyllum quitense* Kunth (Haloragaceae) evaluadas en cuatro humedales altoandinos del Perú. *Arnaldoa*, 24(2), 583-598. <https://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24210>
- Jiang, W., y Fan, W. (2008). *Bioremediation of heavy metal-contaminated soils by sulfate-reducing bacteria*.1140:446-454.
- La Matta, F. (2020). *Influencia del Drenaje Ácido De Roca en la Comunidad de Macroinvertebrados Bentónicos, Índices Bióticos de calidad de agua y grupos funcionales alimenticios en ríos y cabeceras de La Cordillera Blanca (Subcuenca de Quillcay, Áncash)* [tesis de pregrado, Universidad

- Peruana Cayetano Heredia]. Repositorio Institucional. https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/8533/Influencia_LaMattaRomero_Fiorella.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Li, X., y Krumholz, L. (2006). *Regulation of arsenate resistance in Desulfovibrio desulfuricans G20 by an arsRBCC Operon and an arsC Gene. Journal of Bacteriology*. 189(10): 3705-3711.
- Liu, X., Gang, Z., Xiaoqiang, W., y et al. (2013). A novel low pH sulfidogenic bioreactor using activated sludge as carbon source to treat acid mine drainage (AMD) and recovery metal sulfides: Pilot scale study. *Minerales Engineering* 48(2013), 51-55.
- López, P., y Fuentes, J. (2015). The sulfate-reducing bacteria. *Geominas* 43, 67. https://www.researchgate.net/profile/Pedro-Lopez-64/publication/309322176_Las_bacterias_sulfato-reductoras_The_sulfate-reducing_bacteria_As_bacterias_sulfato-reductoras/links/580a01f408ae45e02c0d626c/Las-bacterias-sulfato-reductoras-The-sulfate-reducing-bacteria-As-bacterias-sulfato-reductoras.pdf
- Luna, E. (2018). *Biorremediación utilizando Distichia muscoides y Calamagrostis glacialis del drenaje ácido de roca proveniente del nevado de Pastoruri – 2015* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/22264>
- Mabbelt, A., y Macaskie, N. (2001). A novel isolate of Desulfovibrio sp. with enhanced ability to reduce Cr(VI). *Biotechnol. Lett.* 23, 683-687
- Maldonado, S. (2014). Introducción a los bofedales de la región Altoandina peruana. *Grupo Internacional de Conservación de Turbales*, 15, 1-13. http://mires-and-peat.net/media/map15/map_15_05_Spanish.pdf
- Marrugo, J., Pinedo, J., Marrugo, S., y Diez, S. (2020) Assessment of trace element pollution and ecological risks in a river basin impacted by mining in Colombia. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Martel, G., Torres, J., y Jara, W. (2018) Variación del pH en Aguas Superficiales Debido a Drenajes Ácidos de Roca en la Subcuenca Quillcay, Huaraz, Ancash. *Revista de Glaciares y Ecosistemas de Montaña*. 5(4). 10.36580/rgem.i5.57-68
- Meneses, R., Loza, S., Lliully, A., Palabral, A., y Anthelme, F. (2015). *Métodos para cuantificar diversidad y productividad vegetal de los bofedales frente al cambio climático*. *Ecología en Bolivia*. 2014;49(3)
- Ministerio del Ambiente, MINAM. (2016). *El Perú y el cambio climático, tercera comunicación nacional del Perú a la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre cambio climático*. Ministerio del Ambiente de Perú. <https://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2016/05/Tercera-Comunicaci%C3%B3n.pdf>
- Ministerio del Ambiente, MINAM. (2019). *Guía de Inventario de Flora y Vegetación*. Obtenido de Ministerio del Ambiente: <http://www.minam.gob.pe/patrimonio-natural/wp-content/uploads/sites/6/2013/10/GU%C3%83-A-DE-FLORA-Y-VEGETACI%C3%83%E2%80%9CN.compressed.pdf>
- Montenegro, S., Pulido, S., y Calderón, L. (2019). *Prácticas de biorremediación en suelos y aguas*. Universidad Autónoma y a Distancia, 1. <https://doi.org/10.22490/notas.3451>.

- Morales, A. (2019). *Absorción y acumulación de metales pesados en las especies Distichia muscoides y Juncus articus Willd en el humedal Uquián, Canrey Chico – Recuay – Ancash en el periodo Agosto 2018 – Marzo 2019* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo]. Repositorio Institucional <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/22264>
- Moreno, J., Gorriti, M., Flores, M., y Albarracin, V. (2012) Micología Ambiental y ecología microbiana en el estudio de microorganismos en ambientes extremo. *REDUCA (Biología). Serie Micológica*, 5(5), 94-109. <http://www.revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/966/997>
- Ocaña, J., (2017) *Análisis situacional del bofedal de origen glaciar en la quebrada de Santa Cruz, una mirada desde el INAIGEM Huaraz 2016* [tesis de postgrado, Universidad César Vallejos]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/6719>
- Olivares, E., y Peña, E. (2009). *Bioconcentración de elementos minerales en Amaranthus dubius (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación*. <http://www.scielo.org.ve/pdf/inci/v34n9/art04.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura, UNESCO. (2018). *Reporte de evaluación del Parque Nacional Huascarán y la Reserva de Biosfera Huascarán*. [http://www.unesco.org/new/fileadmin/MULTIMEDIA/HQ/SC/pdf/Huascara n_BR-Peru_2011.pdf](http://www.unesco.org/new/fileadmin/MULTIMEDIA/HQ/SC/pdf/Huascara_n_BR-Peru_2011.pdf)
- Orrego, S. (2019). *Eficiencia de consorcios de bacterias sulfato reductoras en la degradación anaerobia de hidrocarburos aromáticos del petróleo en microcosmos, junio – octubre de 2018* [tesis de postgrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/6027/BC-%203924%20ORREGO%20ZAPO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Pabón, S., Benítez, R., Sarria, R., y Gallo, J. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. Una revisión. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 14(27), 9-18. <https://doi.org/>
- Pagnanelli, R., Viggi, C., Cibati, A., Uccelletti, D., Toro, L., y Palleschi, C. (2012). Biotreatment of Cr(VI) contaminated waters by sulphate reducing bacteria fed with ethanol. *J. Haz. Mat.* 199- 200:186-192.
- Palomino, C. (2007). *Sistemas de humedales para la biorremediación de drenajes ácidos de mina o roca en Áncash – Perú*. [tesis de postgrado, Universidad Nacional Trujillo] Repositorio Institucional <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/5359/Tesis%20Doctorado%20-%20Edwin%20Palomino%20Cadenas.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Pinto, S., Orava, D. y Swider, R.(2015) Uso de bacterias sulfato reductoras inmovilizadas para la precipitación de metales pesados. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2191/Documento_completo.pdf?sequence=1
- Ramírez, D. (2012). *Filogenia y biogeografía del género Distichia Nees & Meyen (juncaceae) en los andes tropicales*. [tesis de postgrado, Universidad Nacional Menéndez Pelayo] Repositorio Institucional <http://207.180.208.103/bitstream/123456789/783/1/068.pdf>

- Schoolmeester, T., Johansen, K., Alfthan, B., Baker, E., y et.al. (2018). *The Andean glacier and water atlas: the impact of glacier retreat on water resources*. UNESCO 77, <https://books.google.com.pe/books?id=gaF2DwAAQBAJ>
- Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado (SERNANP) (2021). *Parque Nacional Huascarán*. https://old.sernanp.gob.pe/sernanp/archivos/baselegal/Resoluciones_Presidenciales/2017/RP%20064-2017-SERNANP.compressed.pdf
- Suarez, E., Chimbolema, S., Chimmer, R., y Lilleskov, E., (2022) Root biomass and production by two cushion plant species of tropical high – elevation peatlands in the Andean páramo. *Mires and Peat* 27, Article 18, 9, https://www.fs.usda.gov/nrs/pubs/jrnl/2021/nrs_2021_suarez_001.pdf
- Teclu, D., G. Tlvchev, M. Laing y M. Wallis. (2008). Bioremoval of arsenic species from contaminated waters by sulphatereducing bacter Water Res. 42:4885-4893.
- The International Network for Acid Prevention (INAP). (2014). *Global Acid Rock Drainage Guide*, GARD. INAP <http://www.gardguide.com/images/5/5f/TheGlobalAcidRockDrainageGuide.pdf>
- Van Vliet, M., Gernaat, D., y et al. (2020). Impactos del cambio climático en los sistemas energéticos en escenarios globales y regionales. *Energía nacional* 5, 794–802. <https://doi.org/10.1038/s41560-020-0664-z>
- Wang, Q., Yi, J., Hua, W., y Xiao, J. (2014). Effects of germination on iron, zinc, calcium, manganese, and copper availability from cereals and legumes. *Revista de alimentos*, 12 (1), 22-26. <https://doi.org/10.1080/19476337.2013.782071>
- Zamora, A., Malaver, N. (2012). Methodological aspects for the culture and quantification of heterotrophic sulfate-reducing bacteria *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32 (2), 121- 125. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199425417008>
- Zheng, H., Bingjie, L., Guocheng, L., Zhaohui, C., y Chenchen, Z. (2019). Chapter 19 - Potential Toxic Compounds in Biochar: Knowledge Gaps Between Biochar Research and Safety, *Biochar from Biomass and Waste*. Elsevier, 349-384, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811729-3.00019-4>.
- Zimmer, A., M. Brito, C. Alegre, C., Sánchez, J., y Recharte, J. (2018). Implementación de dos Sistemas de biorremediación como estrategia para la prevención y mitigación de los efectos del drenaje ácido de roca en la Cordillera Blanca, Perú. *Revista de Glaciares y Ecosistemas de Montaña*, 4(3). <http://GARCIS://doi.org/10.36580/rgem.i4.57-76>

Anexo 1

Estándares de calidad de agua, ECA (MINAM, 2017)

Categoría 4: Conservación del ambiente acuático

Parámetros	Unidad de medida	E1: Lagunas y lagos	E2: Ríos		E3: Ecosistemas costeros y marinos	
			Costa y sierra	Selva	Estuarios	Marinos
FÍSICOS- QUÍMICOS						
Aceites y Grasas (MEH)	mg/L	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Cianuro Libre	mg/L	0,0052	0,0052	0,0052	0,001	0,001
Color (b)	Color verdadero Escala Pt/Co	20 (a)	20 (a)	20 (a)	**	**
Clorofila A	mg/L	0,008	**	**	**	**
Conductividad	(µS/cm)	1 000	1 000	1 000	**	**
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅)	mg/L	5	10	10	15	10
Fenoles	mg/L	2,56	2,56	2,56	5,8	5,8
Fósforo total	mg/L	0,035	0,05	0,05	0,124	0,062
Nitratos (NO ₃ ⁻) (c)	mg/L	13	13	13	200	200
Amoníaco Total (NH ₄)	mg/L	(1)	(1)	(1)	(2)	(2)
Nitrógeno Total	mg/L	0,315	**	**	**	**
Oxígeno Disuelto (valor mínimo)	mg/L	≥ 5	≥ 5	≥ 5	≥ 4	≥ 4
Potencial de Hidrógeno (pH)	Unidad de pH	6,5 a 9,0	6,5 a 9,0	6,5 a 9,0	6,8 – 8,5	6,8 – 8,5
Sólidos Suspendidos Totales	mg/L	≤ 25	≤ 100	≤ 400	≤ 100	≤ 30
Sulfuros	mg/L	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
Temperatura	°C	Δ 3	Δ 3	Δ 3	Δ 2	Δ 2
INORGÁNICOS						
Antimonio	mg/L	0,64	0,64	0,64	**	**
Arsénico	mg/L	0,15	0,15	0,15	0,036	0,036
Bario	mg/L	0,7	0,7	1	1	**
Cadmio Disuelto	mg/L	0,00025	0,00025	0,00025	0,0088	0,0088
Cobre	mg/L	0,1	0,1	0,1	0,05	0,05
Cromo VI	mg/L	0,011	0,011	0,011	0,05	0,05
Mercurio	mg/L	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Níquel	mg/L	0,052	0,052	0,052	0,0082	0,0082
Plomo	mg/L	0,0025	0,0025	0,0025	0,0081	0,0081
Selenio	mg/L	0,005	0,005	0,005	0,071	0,071
Talio	mg/L	0,0008	0,0008	0,0008	**	**
Zinc	mg/L	0,12	0,12	0,12	0,081	0,081

Anexo 2

Medio Postgate C modificado
(en Gutierrez et al., 2007)

KH_2PO_4	0,50g
Na_2SO_4	4,50g
NH_4Cl	1,00g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,06g
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,06g
Citrato de sodio.....	0,30g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,004g
Agua destilada c.s.p.....	1000mL

Anexo 3

Temperatura y pH del agua de los puntos de muestreo de los bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Huaraz 2021

Bofedal	Punto de muestreo	Coordenadas UTM		Altura (msnm)	Temperatura (°C)	pH
		Norte	Este			
Bofedal 1	BOF1- A	8906362	260270	4506	10,5	7,13
	BOF1- B	8906532	260095	4662	12,3	7,30
	BOF1 - C	8906812	259682	4730	11,3	7,27
	Promedio				11,37	7,23
Bofedal 2	BOF2 - A	8905365	260235	4818	14,4	6,35
	BOF2- B	8905445	260136	4811	14,7	4,33
	BOF2 - C	8905583	260015	4806	8,7	3,95
	Promedio				12,6	4,88

Temperatura y pH de la turba de cojines de D. muscoides extraídos de los sitios de estudio de los bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021

Bofedal	Código muestra	Coordenas UTM		Temperatura °C	pH
		Norte	Este		
Bofedal 1	BOF1 – A1	8906362	260270	19,20	6,88
	BOF1 – A2	8906362	260270	21,50	7,08
	BOF1 – A3	8906362	260270	19,80	7,03
	BOF1 – B1	8906532	260095	10,80	7,29
	BOF1 – B2	8906532	260095	12,20	7,27
	BOF1 – B3	8906532	260095	10,90	7,09
	BOF1 – C1	8906812	259682	10,30	5,78
	BOF1 – C2	8906812	259682	11,80	5,85
	BOF1 – C3	8906812	259682	19,60	4,86
	Promedio			15,12	6,57
Bofedal 2	BOF2 – A1	8905365	260235	21,10	5,48
	BOF2 – A2	8905365	260235	20,90	5,88
	BOF2 – A3	8905365	260235	19,70	5,14
	BOF2 – B1	8905445	260136	21,30	6,43
	BOF2 – B2	8905445	260136	20,10	5,44
	BOF2 – B3	8905445	260136	21,80	5,94
	BOF2 – C1	8905583	260015	19,70	4,50
	BOF2 – C2	8905583	260015	19,40	4,19
	BOF2 – C3	8905583	260015	18,60	4,30
	Promedio			20,29	5,26

Anexo 4

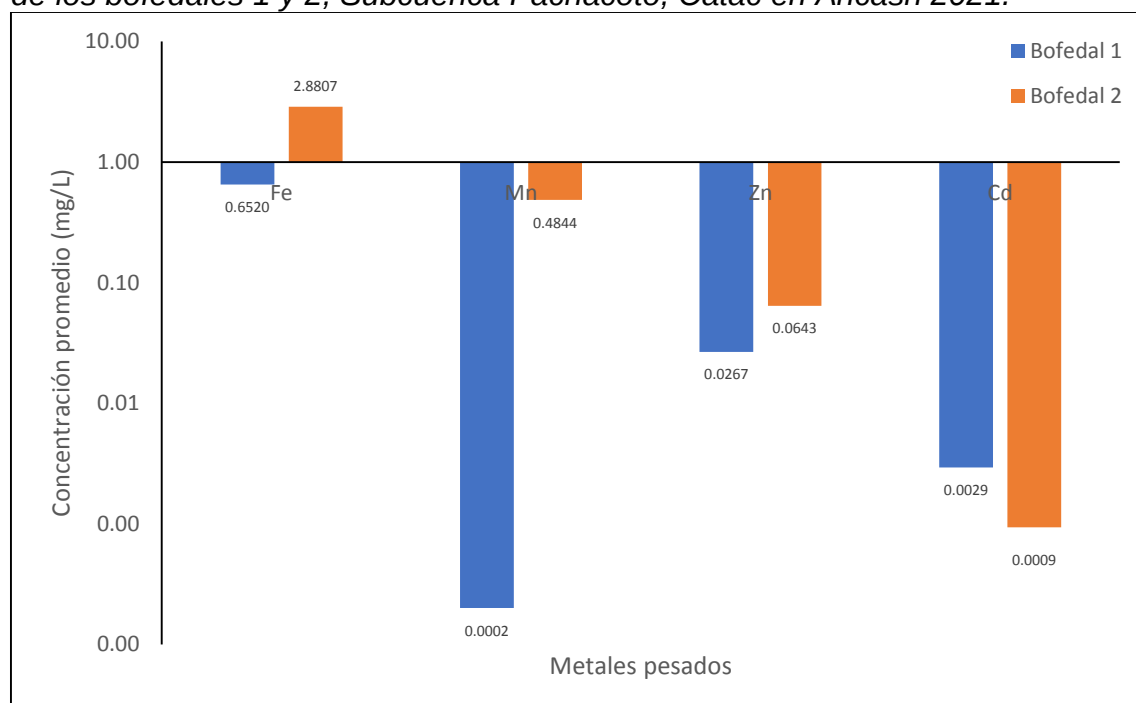
Concentración (mg/L) de metales pesados en el agua de puntos de muestreo de bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021

Puntos de muestreo	Concentración (mg/L)			
	Cadmio* (Cd)	Hierro* (Fe)	Manganeso* (Mn)	Zinc* (Zn)
BOF1 – A	0,0004	1,2890	0,0002	0,0320
BOF1 – B	0,0080	0,2600	0,0002	0,0190
BOF1 – C	0,0004	0,4070	0,0002	0,0290
Promedio	0,0029	0,6520	0,0002	0,0267
BOF2 – A	0,0004	3,5660	0,0002	0,0290
BOF2 – B	0,0020	2,5380	0,8540	0,1060
BOF2 – C	0,0004	2,5380	0,5990	0,0580
Promedio	0,0009	2,8807	0,4844	0,0643
**ECA-Cat. 4	0,0100	5,0000	0,2000	0,1200

*Metales pesados en una concentración superior al límite de cuantificación

**ECA - Cat.4: Estándares de calidad de agua, categoría 4

Comparación de la concentración (mg/L) promedio de metales pesados en agua de los bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021.

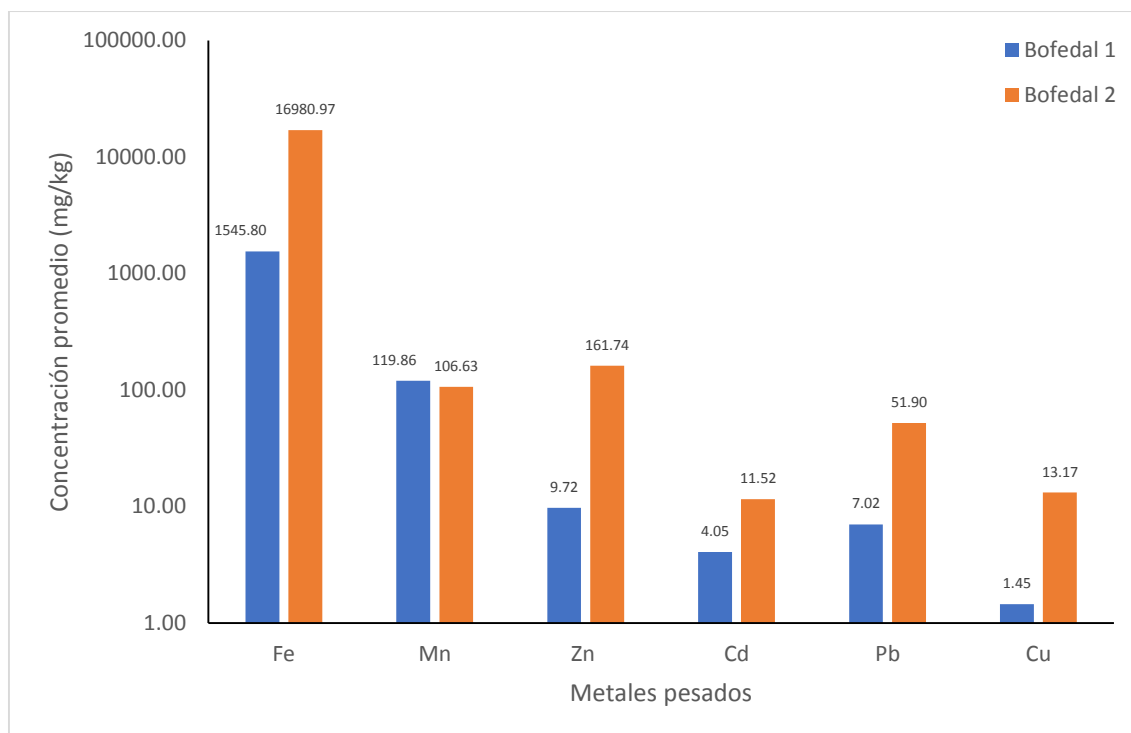


Anexo 5

Concentración (mg/kg) de metales pesados en la turba de cojines de D. muscoides extraídos en las zonas de muestreo de los bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021

		Concentración (mg/kg)					
Bofedal	Zonas de muestreo	Cadmio Cd	Cobre Cu	Hierro Fe	Manganeso Mn	Plomo Pb	Zinc Zn
1	BOF1-A	3,22	2,35	1156,32	201,56	12,58	3,00
	BOF1-B	7,74	1,00	889,56	155,23	15,88	14,49
	BOF1-C	1,19	1,00	2591,53	2,78	0,70	3,57
	Promedio	4,05	1,45	1545,80	119,86	9,72	7,02
2	BOF2-A	1,59	6,85	21000,40	107,88	3,57	134,97
	BOF2-B	31,79	1,03	529,58	97,88	8,95	15,91
	BOF2-C	1,19	31,64	29412,94	114,13	143,18	334,33
	Promedio	11,52	13,17	16980,97	106,63	51,90	161,74

Comparación de la concentración (mg/kg) promedio de metales pesados en la turba de cojines de D. muscoides extraídos en bofedales 1 y 2 Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021.

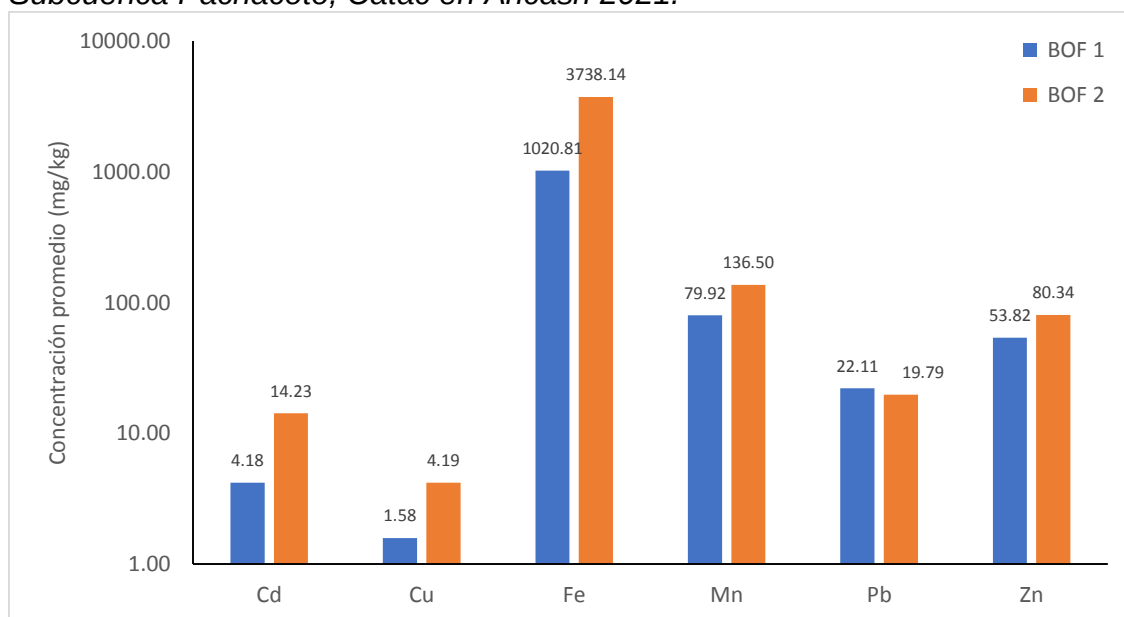


Anexo 6

Concentración (mg/kg) de metales pesados en el tejido radicular de cojines de D. muscoides extraídos en los puntos de muestreo de los bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021

Bofedal	Punto de muestreo	Concentración (mg/kg)					
		Cadmio Cd	Cobre Cu	Hierro Fe	Manganeso Mn	Plomo Pb	Zinc Zn
Bofedal 1	BOF1-A1-PR	1,99	2,19	1128,73	165,12	20,04	112,67
	BOF1-A2-PR	10,3	2,48	1877,17	177,71	28,93	68,00
	BOF1-A3-PR	3,27	2,77	899,46	122,45	11,55	23,33
	BOF1-B1-PR	1,59	1,00	1185,97	47,34	44,65	68,77
	BOF1-B2-PR	1,22	1,00	667,13	12,88	3,00	5,66
	BOF1-B3-PR	1,99	1,00	1097,69	39,88	25,66	54,69
	BOF1-C1-PR	0,79	1,00	605,97	78,75	3,00	76,37
	BOF1-C2-PR	0,99	1,78	1277,46	23,86	11,34	49,58
	BOF1-C3-PR	15,52	1,00	447,72	51,31	50,84	25,27
	Promedio	4,18	1,58	1020,81	79,92	22,11	53,82
Bofedal 2	BOF2-A1-PR	10,98	1,00	949,57	180,22	25,73	20,93
	BOF2-A2-PR	27,07	4,81	2109,33	111,24	27,04	89,93
	BOF2-A3-PR	15,53	6,27	5201,08	139,96	29,07	93,57
	BOF2-B1-PR	10,35	7,17	28564,32	145,16	36,34	103,54
	BOF2-B2-PR	21,99	3,54	5455,26	135,66	12,14	95,24
	BOF2-B3-PR	0,60	1,00	455,60	212,33	3,00	39,66
	BOF2-C1-PR	0,67	1,00	566,23	69,98	3,00	71,30
	BOF2-C2-PR	25,77	11,20	12500,00	124,01	21,71	118,95
	BOF2-C3-PR	15,08	1,71	3450,77	109,93	20,08	89,91
	Promedio	14,23	4,19	6583,57	136,50	19,79	80,34

Comparación de la concentración (mg/Kg) promedio de metales pesados en el tejido radicular de cojines de D. muscoides extraídos en bofedales 1 y 2 Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021.

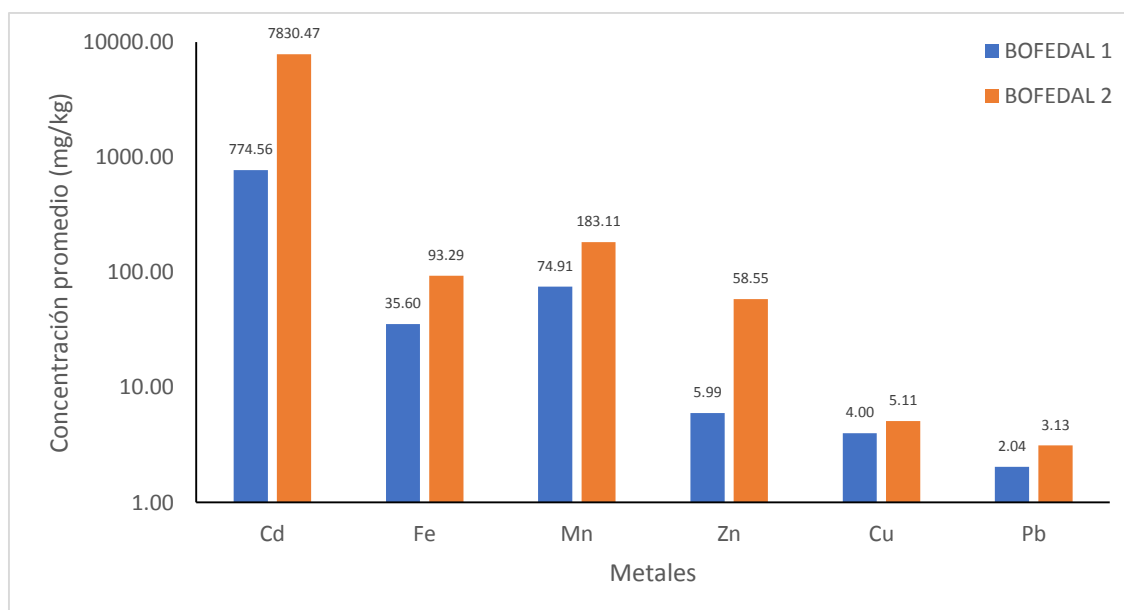


Anexo 7

Concentración (mg/kg) de metales pesados en el tejido aéreo de cojines de D. muscoides extraídos en los diferentes puntos de muestreo de los bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021

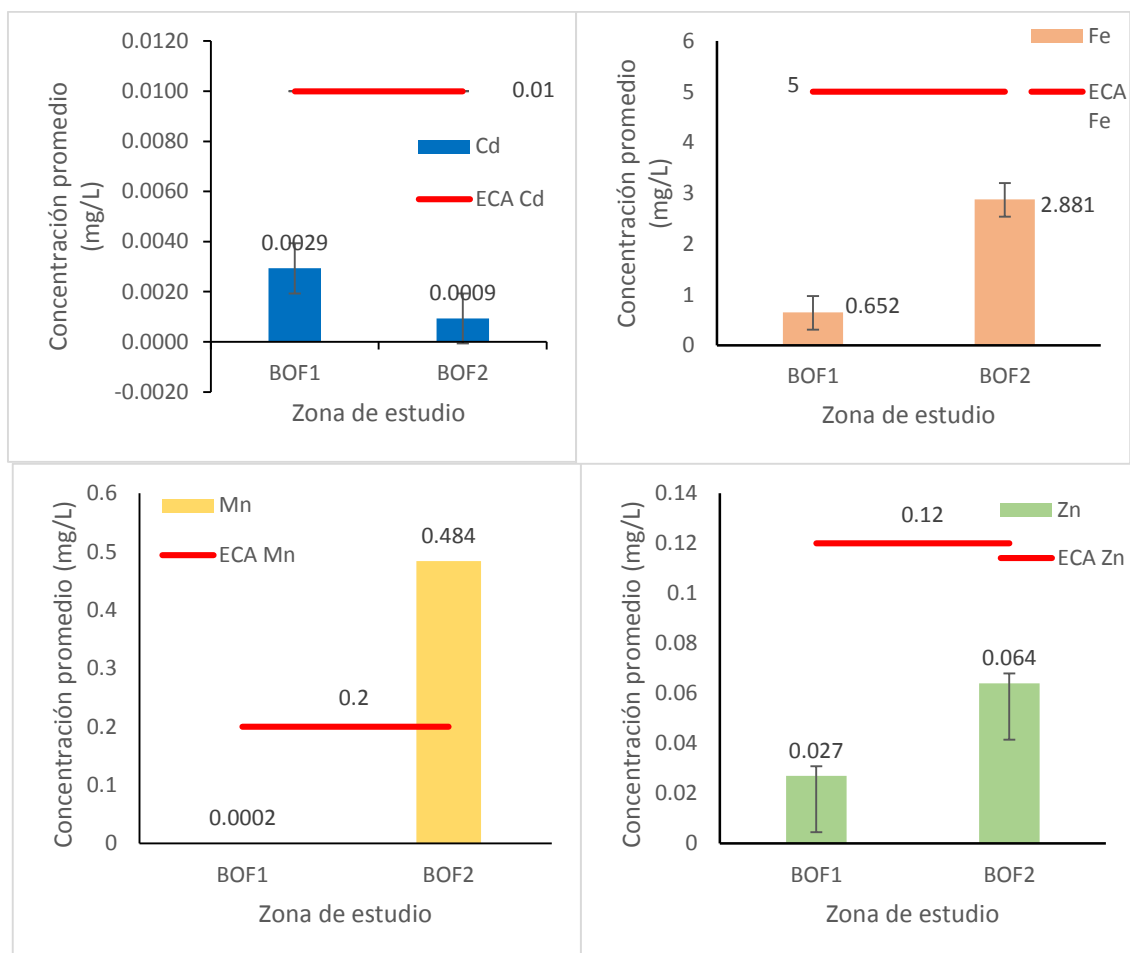
Punto de muestreo	Concentración (mg/kg)					
	Cadmio Cd	Cobre Cu	Hierro Fe	Manganeso Mn	Plomo Pb	Zinc Zn
BOF1-A1-PA	1,23	1,00	889,66	45,62	3,00	55,24
BOF1-A2-PA	4,12	1,00	748,99	95,46	3,00	6,55
BOF1-A3-PA	4,67	1,00	1139,99	87,55	3,00	28,88
BOF1-B1-PA	1,20	1,00	186,78	37,97	3,00	28,61
BOF1-B2-PA	0,30	1,00	172,51	27,51	3,00	8,14
BOF1-B3-PA	4,72	5,57	966,29	118,29	3,00	11,84
BOF1-C1-PA	7,22	2,13	1548,77	110,14	11,09	132,56
BOF1-C2-PA	10,38	4,69	738,38	132,51	21,85	29,54
BOF1-C3-PA	2,14	1,00	579,69	19,14	3,00	19,08
Promedio	4,00	2,04	774,56	74,91	5,99	35,60
BOF2-A1-PA	11,09	3,29	3488,75	208,55	40,05	77,48
BOF2-A2-PA	8,21	5,66	1059,33	155,87	21,22	194,88
BOF2-A3-PA	9,88	5,81	744,92	122,57	3,00	21,66
BOF2-B1-PA	1,20	3,39	23682,38	175,25	20,39	209,23
BOF2-B2-PA	4,69	1,00	19446,98	123,51	26,19	99,56
BOF2-B3-PA	5,19	4,69	12740,98	266,11	14,58	31,57
BOF2-C1-PA	0,40	1,00	2498,27	233,18	3,00	45,57
BOF2-C2-PA	0,80	1,00	4923,18	198,72	3,00	135,69
BOF2-C3-PA	4,56	2,33	1889,42	164,23	9,31	24,01
Promedio	5,11	3,13	7830,47	183,11	15,64	93,29

Comparación de la concentración (mg/kg) promedio de metales pesados en el tejido aéreo de cojines de D. muscoides extraídos en bofedales 1 y 2 Subcuenca Pachacoto, Cátac en Huaraz 2021.



Anexo 8

Comparación de los estándares de calidad de agua categoría 4 (ECA) y la concentración (mgL^{-1}) promedio de metales pesados en el agua de bofedales 1 y 2 Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021.



Anexo 9

Factores de bioacumulación en el tejido aéreo y radicular de cojines de D. muscoides de los bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021

Metales por bofedal	Tejido radicular		Tejido aéreo	
	FBA	Capacidad potencial	FBA	Capacidad potencial
<i>Distichia muscoides</i> BOF1				
Al	1,00	Acumuladora	1,00	Acumuladora
Cd	2,22	Acumuladora	2,28	Acumuladora
Cu	1,11	Acumuladora	1,85	Acumuladora
Fe	0,84	Exclusora	0,56	Exclusora
Mn	6,48	Acumuladora	10,72	Hiperacumuladora
Pb	4,83	Acumuladora	1,52	Acumuladora
Zn	26,71	Hiperacumuladora	29,90	Hiperacumuladora
<i>Distichia muscoides</i> BOF2				
Al	1,00	Acumuladora	1,00	Acumuladora
Cd	7,74	Acumuladora	2,62	Acumuladora
Cu	1,51	Acumuladora	1,23	Acumuladora
Fe	7,34	Acumuladora	11,79	Hiperacumuladora
Mn	1,30	Acumuladora	1,72	Acumuladora
Pb	3,22	Acumuladora	2,77	Acumuladora
Zn	1,93	Acumuladora	2,69	Acumuladora

Factores de traslocación en los cojines de las plantas de D. muscoides de los bofedales 1 y 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash 2021

Metales pesados por bofedal	FT	Capacidad potencial
<i>Distichia muscoides</i> BOF 1		
Al	1,00	Fitoextractora
Cd	2,84	Fitoextractora
Cu	1,62	Fitoextractora
Fe	0,91	Fitoestabilizadora
Mn	1,64	Fitoextractora
Pb	0,82	Fitoestabilizadora
Zn	0,78	Fitoestabilizadora
<i>Distichia muscoides</i> BOF2		
Al	1,00	Fitoextractora
Cd	1,32	Fitoextractora
Cu	1,48	Fitoextractora
Fe	5,47	Fitoextractora
Mn	1,47	Fitoextractora
Pb	1,29	Fitoextractora
Zn	1,33	Fitoextractora

Anexo 10

Cambios en la morfología de las columnas de Winogradsky durante 40 días de incubación a temperatura ambiental, Pimentel 2022

Código de muestreo	Columna Nº	Coloración					Gas	Turbidez
		Anaranjada	Blanca	Verde-amarillenta	Verde	Rojiza		
BOF1-BSRA1	1							
BOF1-BSRA2	2	X				X	X	
BOF1-BSRB1	3		X				X	
BOF1-BSRB2	4		X	X				
BOF1-BSRC1	5	X		X	X		X	
BOF1-BSRC2	6		X					
BOF2-BSRA1	7					X	X	X
BOF2-BSRA2	8					X		X
BOF2-BSRB1	9					X		
BOF2-BSRB2	10					X		
BOF2-BSRC1	11					X		
BOF2-BSRC2	12					X	X	

BOF1 – Anaranjada (18-27 días), rojizo (18 días), blanca, verde y verde amarillenta (33 días), turbidez (15 días), gas (18 – 33 días)

BOF2 – Rojiza (18-33días), turbidez (15 días), gas (18 – 33 días)

Anexo 11

Ennegrecimiento observado en las columnas de Winogradsky durante 40 días de incubación a temperatura ambiental, Pimentel, 2022

Columnas						Días de incubación al ennegrecimiento				
Bofedal	Nº	Código de muestreo	Punto georeferencial			15	18	27	33	40
1*	1	BOF1-BSRA1	E:260249	N:8906535	A:4508msnm				E	E
1	2	BOF1-BSRA2	E:260208	N:8906421	A:4504msnm		E***	E	E	E
1	3	BOF1-BSRB1	E:260066	N:8906511	A:4500msnm			E	E	E
1	4	BOF1-BSRB2	E:260075	N:8906530	A:4498msnm			E	E	E
1	5	BOF1-BSRC1	E:259678	N:8906811	A:4482msnm				E	E
1	6	BOF1-BSRC2	E:259638	N:8906791	A:4482msnm					
2**	7	BOF2-BSRA1	E:260231	N:8905366	A:4546msnm					
2	8	BOF2-BSRA2	E:260203	N:8905389	A:4544msnm					E
2	9	BOF2-BSRB1	E:260083	N:8905452	A:4541msnm				E	E
2	10	BOF2-BSRB2	E:260074	N:8905442	A:4543msnm					E
2	11	BOF2-BSRC1	E:260013	N:8905580	A:4541mnsnm					E
2	12	BOF2-BSRC2	E:260006	N:8905573	A:4541msnm					E

*No impactado con DAR ** Impactado con DAR ***Ennegrecimiento

Anexo 12

Ubicación y longitud de coloración negruzca en columnas de Winogradsky durante 40 días de incubación a temperatura ambiental, Pimentel 2022

Bofedal	Código de muestreo	Columnas Nº	Zona de ubicación	Longitud (cm)
1*	BOF1-BSRA1	1	Media	12,0
1	BOF1-BSRA2	2	Media	3,5
1	BOF1-BSRB1	3	Media	8,0
1	BOF1-BSRB2	4	Media	12,0
1	BOF1-BSRC1	5	Superior	3,0
1	BOF1-BSRC2	6	-	-
2**	BOF2-BSRA1	7	-	-
2	BOF2-BSRA2	8	Media e inferior	3,0
2	BOF2-BSRB1	9	Media e inferior	6,0
2	BOF2-BSRB2	10	Media e inferior	17,0
2	BOF2-BSRC1	11	Media e inferior	19,0
2	BOF2-BSRC2	12	Media e inferior	12,0

*No impactado con DAR

**Impactado con DAR

Anexo 13

Confirmación de presencia de BSR en columnas de Winogradsky

Código de muestreo	Columnas Nº	Coloración	
		Negro/plateado Tubo 1	Tubo 2
BSR-BOF1-A1	1	X	
BSR-BOF1-A2	2	-	
BSR-BOF1-B1	3	-	
BSR-BOF1-B2	4	-	
BSR-BOF1-C1	5	-	
BSR-BOF1-C2	6	-	
BSR-BOF2-A1	7	-	
BSR-BOF2-A2	8	X	
BSR-BOF2-B1	9	X	
BSR-BOF2-B2	10	X	
BSR-BOF2-C1	11	X	
BSR-BOF2-C2	12	-	

Anexo 14

Prueba de normalidad de Shapiro Wilks y Análisis de varianza de las concentración de metales en agua de los bofedales 1 y 2

ZONA DE ESTUDIO	Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
BOF 1	Cadmio (Cd)	3	2,9E-03	4,4E-03	0,75	<0,0001
BOF 1	Hierro (Fe)	3	0,65	0,56	0,85	0,2519
BOF 1	Manganeso (Mn)	3	2,0E-04	0,00	0,32	<0,0001
BOF 1	Zinc (Zn)	3	0,03	0,01	0,91	0,4213
BOF 2	Cadmio (Cd)	3	9,3E-04	9,2E-04	0,75	<0,0001
BOF 2	Hierro (Fe)	3	2,88	0,59	0,75	<0,0001
BOF 2	Manganeso (Mn)	3	0,48	0,44	0,95	0,5630
BOF 2	Zinc (Zn)	3	0,06	0,04	0,98	0,7281

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Zinc (Zn)	6	0,41	0,26	61,36

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,1E-03	1	2,1E-03	2,73	0,1738
ZONA DE ESTUDIO	2,1E-03	1	2,1E-03	2,73	0,1738
Error	3,1E-03	4	7,8E-04		
Total	0,01	5			

Anexo 15

Prueba de Kruskal Wallis de las concentración de metales en agua de los bofedales 1 y 2

Variable	ZONA DE ESTUDIO	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Cadmio (Cd)	BOF 1	3	2,9E-03	4,4E-03	4,0E-04	0,05	>0,9999
Cadmio (Cd)	BOF 2	3	9,3E-04	9,2E-04	4,0E-04		

Variable	ZONA DE ESTUDIO	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Hierro (Fe)	BOF 1	3	0,65	0,56	0,41	3,86	0,1000
Hierro (Fe)	BOF 2	3	2,88	0,59	2,54		

Variable	ZONA DE ESTUDIO	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Manganeso (Mn)	BOF 1	3	2,0E-04	0,00	2,0E-04	1,71	0,4000
Manganeso (Mn)	BOF 2	3	0,48	0,44	0,60		

Anexo 16

Prueba de normalidad de Shapiro Wilks y Análisis de varianza de las concentración de metales en turba de los bofedales 1 y 2

Shapiro-Wilks (modificado)

METALES	Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
BOF1	Cd	3	4,05	3,35	0,95	0,5855
BOF1	Cu	3	1,45	0,78	0,75	<0,0001
BOF1	Fe	3	1545,80	915,40	0,86	0,2781
BOF1	Mn	3	119,86	104,00	0,91	0,4294
BOF1	Pb	3	7,02	6,48	0,79	0,0848
BOF1	Zn	3	9,72	7,98	0,90	0,3962
BOF2	Cd	3	11,52	17,55	0,76	0,0213
BOF2	Cu	3	13,17	16,26	0,89	0,3401
BOF2	Fe	3	16980,97	14855,27	0,95	0,5490
BOF2	Mn	3	106,63	8,20	0,98	0,7448
BOF2	Pb	3	51,90	79,10	0,78	0,0645
BOF2	Zn	3	161,74	160,89	0,98	0,7222

Análisis de la varianza

Fe

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Fe	6	0,45	0,31	113,61

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	357366709,39	1	357366709,39	3,23	0,1469
Zona de estudio	357366709,39	1	357366709,39	3,23	0,1469
Error	443033825,38	4	110758456,34		
Total	800400534,77	5			

Mn

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Mn	6	0,01	0,00	65,14

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	262,42	1	262,42	0,05	0,8369
Zona de estudio	262,42	1	262,42	0,05	0,8369
Error	21768,03	4	5442,01		
Total	22030,45	5			

Anexo 17

Prueba de Kruskal Wallis de las concentración de metales en turba de los bofedales 1 y 2

Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Cd	BOF1	3	4,05	3,35	3,22	0,00	>0,9999
Cd	BOF2	3	11,52	17,55	1,59		

Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Cu	BOF1	3	1,45	0,78	1,00	2,33	0,1500
Cu	BOF2	3	13,17	16,26	6,85		

Anexo 18

Prueba de normalidad de Shapiro Wilks y Análisis de varianza de las concentración de metales en tejido radicular de los bofedales 1 y 2

Shapiro-Wilks (modificado)

Zona de estudio	Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
BOF1	Cd	9	4,18	5,17	0,69	0,0010
BOF1	Cu	9	1,58	0,73	0,75	0,0043
BOF1	Fe	9	1020,81	430,75	0,94	0,7349
BOF1	Mn	9	79,92	60,98	0,86	0,1410
BOF1	Pb	9	22,11	17,16	0,89	0,3033
BOF1	Zn	9	53,82	32,56	0,96	0,8746
BOF2	Cd	9	14,23	9,72	0,90	0,3305
BOF2	Cu	9	4,19	3,53	0,86	0,1393
BOF2	Fe	9	6583,57	9060,06	0,72	0,0018
BOF2	Mn	9	136,50	41,34	0,97	0,9189
BOF2	Pb	9	19,79	11,59	0,91	0,3992
BOF2	Zn	9	80,34	31,38	0,88	0,2465

Análisis de la varianza

Fe

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Fe	18	0,17	0,12	168,68

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	139249455,93	1	139249455,93	3,39	0,0844
Zona de estudio	139249455,93	1	139249455,93	3,39	0,0844
Error	658161885,47	16	41135117,84		
Total	797411341,41	17			

Mn

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Mn	18	0,25	0,20	48,14

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	14404,14	1	14404,14	5,31	0,0350
Zona de estudio	14404,14	1	14404,14	5,31	0,0350
Error	43426,61	16	2714,16		
Total	57830,75	17			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=52,06287

Error: 2714,1633 gl: 16

Zona de estudio	Medias	n	E.E.
BOF1	79,92	9	17,37 A
BOF2	136,50	9	17,37 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Pb

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Pb	18	0,01	0,00	69,87

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	24,27	1	24,27	0,11	0,7409
Zona de estudio	24,27	1	24,27	0,11	0,7409
Error	3428,72	16	214,30		
Total	3452,99	17			

Zn

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Zn	18	0,16	0,11	47,66

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3165,16	1	3165,16	3,10	0,0976
Zona de estudio	3165,16	1	3165,16	3,10	0,0976
Error	16354,96	16	1022,19		
Total	19520,12	17			

Anexo 19

Prueba de Kruskal Wallis de las concentración de metales en tejido radicular de los bofedales 1 y 2

Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Cd	BOF1	9	4,18	5,17	1,99	2,96	0,0892
Cd	BOF2	9	14,23	9,72	15,08		

Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Cu	BOF1	9	1,58	0,73	1,00	2,25	0,1235
Cu	BOF2	9	4,19	3,53	3,54		

Anexo 20

Prueba de normalidad de Shapiro Wilks y Análisis de varianza de las concentración de metales en tejido aéreo de los bofedales 1 y 2

Shapiro-Wilks (modificado)

Zona de estudio	Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
BOF1	Cd	9	4,00	3,25	0,91	0,4240
BOF1	Cu	9	2,04	1,80	0,64	<0,0001
BOF1	Fe	9	774,56	437,44	0,95	0,7590
BOF1	Mn	9	74,91	42,72	0,88	0,2118
BOF1	Pb	9	5,99	6,52	0,57	<0,0001
BOF1	Zn	9	35,60	39,30	0,73	0,0024
BOF2	Cd	9	5,11	3,95	0,88	0,2672
BOF2	Cu	9	3,13	1,95	0,84	0,0913
BOF2	Fe	9	7830,47	8641,64	0,78	0,0120
BOF2	Mn	9	183,11	48,30	0,94	0,6764
BOF2	Pb	9	15,64	12,66	0,88	0,2592
BOF2	Zn	9	93,29	72,34	0,84	0,0949

Análisis de la varianza

Cd

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cd	18	0,03	0,00	79,41

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,60	1	5,60	0,43	0,5223
Zona de estudio	5,60	1	5,60	0,43	0,5223
Error	209,37	16	13,09		
Total	214,97	17			

Mn

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Mn	18	0,61	0,59	35,34

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
------	----	----	----	---	---------

Modelo	52682,58	1	52682,58	25,34	0,0001
Zona de estudio	52682,58	1	52682,58	25,34	0,0001
Error	33266,70	16	2079,17		
Total	85949,28	17			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=45,56748

Error: 2079,1690 gl: 16

Zona de estudio	Medias	n	E.E.	
BOF1	74,91	9	15,20	A
BOF2	183,11	9	15,20	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 21

Prueba de Kruskal Wallis de las concentración de metales en tejido aéreo de los bofedales 1 y 2

Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Cu	BOF1	9	2,04	1,80	1,00	1,75	0,1638
Cu	BOF2	9	3,13	1,95	3,29		

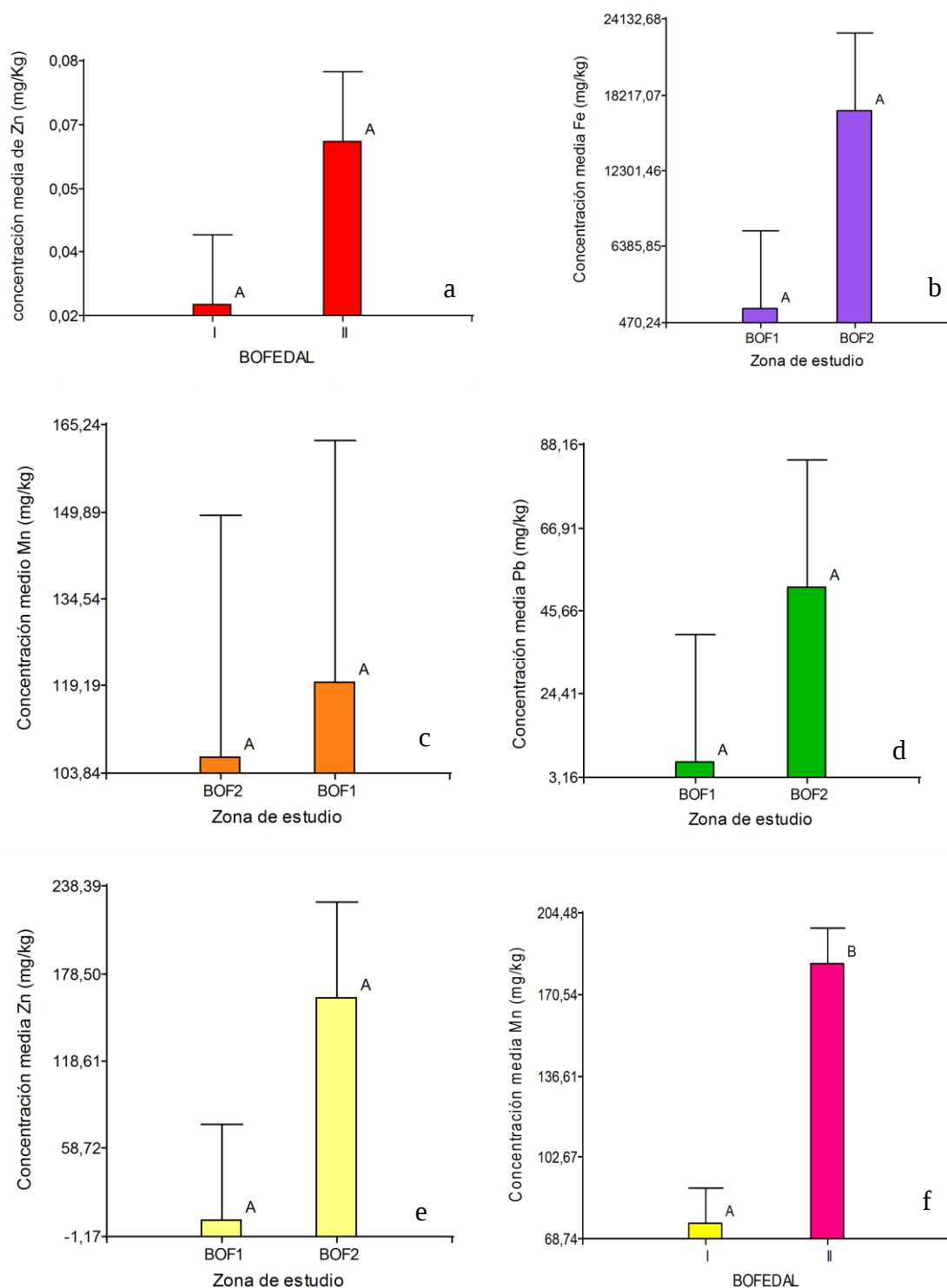
Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Fe	BOF1	9	774,56	437,44	748,99	8,75	0,0015
Fe	BOF2	9	7830,47	8641,64	3488,75		

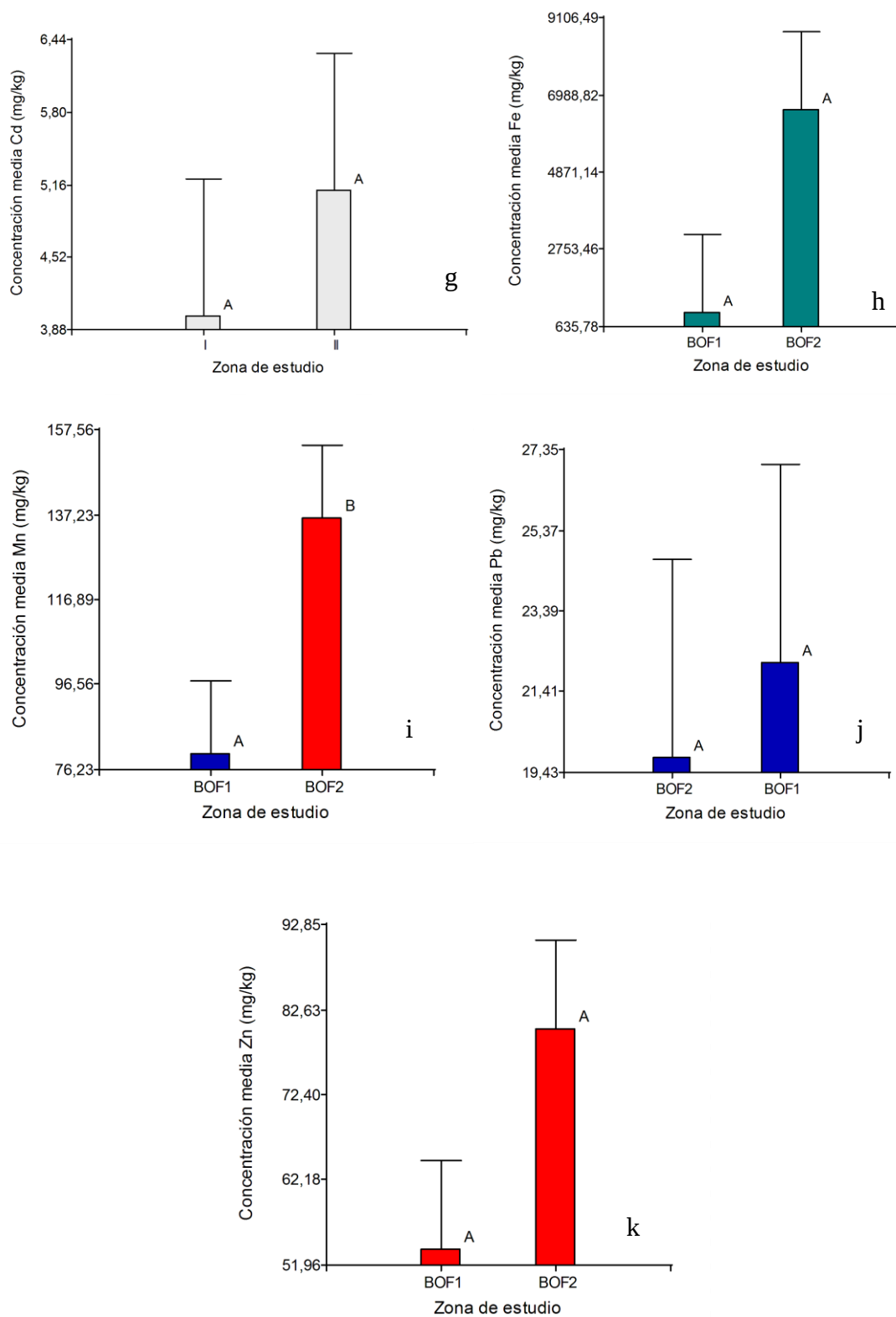
Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Pb	BOF1	9	5,99	6,52	3,00	2,81	0,0745
Pb	BOF2	9	15,64	12,66	14,58		

Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Zn	BOF1	9	35,60	39,30	28,61	4,68	0,0280
Zn	BOF2	9	93,29	72,34	77,48		

Anexo 22

Análisis de varianza (ANOVA) de la concentración (mg/kg) de metales pesados en muestras de agua (a), turba (b,c,d,e), tejido aéreo (f,g) y tejido radicular (h,i,j,k) de cojines de D. muscoides extraídos en bofedales 1 y 2 Subcuenca Pachacoto, Cátac en Huaraz 2021.





Anexo 23

Factores de traslocación y capacidad potencial en las plantas de D. muscoides trasplantados y no trasplantados para la biorremediación de una zona experimental en el bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash

Metales pesados por bofedal	FT	Capacidad Potencial
<i>Cojines trasplantados de Distichia muscoides</i>		
Al	1,91	Fitoextractora
As	4,28	Fitoextractora
Cu	0,72	Fitoestabilizadora
Cr	6,63	Fitoextractora
Fe	2,70	Fitoextractora
Mn	1,75	Fitoextractora
Pb	0,85	Fitoestabilizadora
Zn	1,19	Fitoextractora
<i>Cojines no trasplantados de Distichia muscoides</i>		
Al	0,59	Fitoestabilizadora
As	0,33	Fitoestabilizadora
Cu	1,05	Fitoextractora
Cr	0,92	Fitoestabilizadora
Fe	0,22	Fitoestabilizadora
Mn	2,13	Fitoextractora
Pb	0,37	Fitoestabilizadora
Zn	1,57	Fitoextractora

Anexo 24

Temperatura y pH del agua en la entrada y salida del caudal natural, vigor y persistencia del color verde en *D. muscoides* durante la monitorización de la biorremediación de zona experimental en el bofedal 2, impactado con DAR, Subcuenca Pachacoto, Cátac, en Áncash

Monitorización	Rectángulos de cojines						Promedio
	1	2	3	4	5	6	
Monitorización 1							
Temperatura del agua a la entrada	6,9°C	6,8°C	6,2°C	6,1°C	6,1°C	6,9°C	6,5 °C
Temperatura del agua a la salida	-	-	-	-	-	6,9°C	6,9 °C
pH del agua a la entrada	2,84	2,78	3,40	2,94	2,94	2,89	2,97
pH de salida del agua	-	-	-	-	-	2,80	2,80
Vigor de <i>D. muscoides</i>	+	+	+	+	+	+	
Persistencia del color verde de <i>D. muscoides</i>	+	+	+	+	+	+	
Monitorización 2							
Temperatura del agua a la entrada	7,2°C	6,5°C	6,2°C	6,1°C	6,1°C	6,3°C	6,4 °C
Temperatura del agua a la salida	-	-	-	-	-	7,3°C	7,3 °C
pH del agua a la entrada	3,09	3,03	3,56	3,56	3,25	3,04	3,30
pH de salida del agua	-	-	-	-	-	3,04	3,04
Vigor de <i>D. muscoides</i>	+	+	+	+	+	+	
Persistencia del color verde de <i>D. muscoides</i>	+	+	+	+	+	+	
Monitorización 3							
Temperatura del agua a la entrada	5,3°C	5,9°C	6,5°C	6,5°C	5,5°C	5,3°C	5,83 °C
Temperatura del agua a la salida	-	-	-	-	-	6,4°C	6,4 °C
pH del agua a la entrada	1,74	1,77	2,10	2,18	2,02	1,74	1,89

Temperatura del agua a la entrada	6,6°C	-	-	-	-	-	6,6 °C
Temperatura del agua a la salida	-	-	-	-	-	7,4°C	7,4 °C
pH del agua a la entrada	3,10	-	-	-	-	-	3,10
pH de salida del agua	-	-	-	-	-	3,12	3,12
Vigor de <i>D. muscoides</i>	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-	
Persistencia del color verde de <i>D. muscoides</i>	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-	
Monitorización 8							
Temperatura del agua a la entrada	6,3°C	-	-	-	-	-	6,3 °C
Temperatura del agua a la salida	-	-	-	-	-	6,2°C	6,2 °C
pH del agua a la entrada	2,33	-	-	-	-	-	2,33
pH de salida del agua	-	-	-	-	-	2,40	2,40
Vigor de <i>D. muscoides</i>	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-	
Persistencia del color verde de <i>D. muscoides</i>	+	+	+/-	+/-	+/-	-	

Anexo 25

Características morfológicas de los rectángulos de cojines de D. muscoides extraídos de la zona experimental biorremediada en el bofedal 2 impactado con DAR, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash

Parámetros	Cojines					
	A1	A2	B2	B3	C1	C2
Cobertura verde (%)	34,3	35,8	97,9	89,5	100	100
Cobertura negra (%)	65,7	64,2	2,1	10,5	-	-
Radio mayor(cm)	26	32	34	38	30	32
Radi menor (cm)	21	22	33	44	20	21
Área total (cm ²)	546 <i>II</i>	704 <i>II</i>	1122 <i>II</i>	1672 <i>II</i>	600 <i>II</i>	672 <i>II</i>
Área verde (cm ²)	187 <i>II</i>	252 <i>II</i>	1098 <i>II</i>	1496 <i>II</i>	600 <i>II</i>	672 <i>II</i>
Área negra (cm ²)	359 <i>II</i>	452 <i>II</i>	24 <i>II</i>	176 <i>II</i>	-	-
Raíces (poca, regular, abundante)	Pocas	Pocas	Regular	Abundante	Abundante	Abundante

Anexo 26

Concentración inicial (mg/L) de metales pesados en el agua en las zonas A y B del bofedal 1 y en la zona experimental del bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash

Metales*	Unidad	Agua en las zonas A y B del bofedal 1 y en la zona experimental			
		BOF1-AT-AG E: 260210 N: 8906423 A: 4689 msnm	BOF1-BT-AG E:260076 N: 8906529 A: 4749 msnm	BOF2-BT-AG E:260088 N:8905452 A: 4804 msnm	ECA CAT 4**
Aluminio (Al)	mg/L	0,0200	0,0200	1,910	5,00***
Cobre (Cu)	mg/L	0,0010	0,0020	0,0060	0,01
Hierro (Fe)	mg/L	0,0320	0,0480	1,4050	5,00***
Manganeso (Mn)	mg/L	0,0036	0,0036	0,5630	0,20
Zinc (Zn)	mg/L	0,0004	0,0004	0,0522	0,12

*Metales pesados en una concentración superior al LCM

**ECA CAT4: Estándares de calidad de agua, categoría 4

***Valor ECA CAT3: Estándares de calidad de agua, categoría 3

Anexo 27

Concentración inicial (mg/L) de metales pesados en muestras de turba en las zonas A y B del bofedal 1 y en la zona experimental del bofedal 2 al momento del trasplante, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash

Metales	Unidad	Turba en las zonas A y B del bofedal 1 y en la zona experimental del bofedal 2		
		BOF1-AT	BOF1-BT	BOF2-BT
Aluminio (Al)	mg/kg PS	1651,80	3169,10	5732,20
Arsénico (As)	mg/kg PS	7,35	21,63	52,36
Cobre (Cu)	mg/kg PS	22,57	23,52	5,04
Cromo (Cr)	mg/kg PS	3,39	3,66	4,03
Hierro (Fe)	mg/kg PS	2110,40	4918,80	30994,10
Manganeso (Mn)	mg/kg PS	14,11	31,58	76,62
Plomo (Pb)	mg/kg PS	42,60	102,80	14,18
Zinc (Zn)	mg/kg PS	166,91	587,79	16,56

Anexo 28

Concentración inicial (mg/L) de metales pesados en muestras de tejido radicular en las zonas A y B del bofedal 1 y en la zona experimental del bofedal 2 al momento del trasplante, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash

Metales	Unidad	Tejido radicular en las zonas A y B del bofedal 1 y en la zona experimental del bofedal 2		
		BOF1-AT	BOF1-BT	BOF2-BT
Aluminio (Al)	mg/kg PS	127,00	234,40	4656,80
Arsénico (As)	mg/kg PS	3,00	3,00	45,76
Cobre (Cu)	mg/kg PS	3,62	5,21	5,65
Cromo (Cr)	mg/kg PS	1,00	1,00	3,56
Hierro (Fe)	mg/kg PS	260,91	1390,70	28258,77
Manganeso (Mn)	mg/kg PS	136,91	61,29	69,68
Plomo (Pb)	mg/kg PS	3,16	9,26	12,71
Zinc (Zn)	mg/kg PS	54,69	86,54	12,49

Anexo 29

Concentración inicial (mg/L) de metales pesados en muestras de tejido aéreo en las zonas A y B del bofedal 1 y en la zona experimental del bofedal 2 al momento del trasplante, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash

Metales	Unidad	Tejido aéreo en las zonas A y B del bofedal 1 y en la zona experimental del bofedal 2		
		BOF1-AT	BOF1-BT	BOF2-BT
Aluminio (Al)	mg/kg PS	127,00	234,40	4656,80
Arsénico (As)	mg/kg PS	3,00	3,00	45,76
Cobre (Cu)	mg/kg PS	3,62	5,21	5,65
Cromo (Cr)	mg/kg PS	1,00	1,00	3,56
Hierro (Fe)	mg/kg PS	260,91	1390,70	28258,77
Manganeso (Mn)	mg/kg PS	136,91	61,29	69,68
Plomo (Pb)	mg/kg PS	3,16	9,26	12,71
Zinc (Zn)	mg/kg PS	54,69	86,54	12,49

Anexo 30

Concentración final(mg/L) de metales pesados en el agua a la entrada y salida de la zona experimental biorremediada del bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash

Metales*	Unidad	Agua de la zona experimental biorremediada del bofedal 2		ECA CAT4
		Agua de entrada	Agua de salida	
		BOF2-AGF-I	BOF2-AGF-S	
		E N A	E N A	
Aluminio (Al)	mg/L	2,920	2,730	5,000
Arsénico (As)	mg/L	0,009	0,008	0,150
Cobre (Cu)	mg/L	0,004	0,003	0,100
Hierro (Fe)	mg/L	1,531	1,424	5,000
Manganeso (Mn)	mg/L	0,908	0,874	0,200
Zinc (Zn)	mg/L	0,098	0,091	0,120

*Metales pesados en una concentración superior al LCM

**ECA CAT4: Estándares de calidad de agua, categoría 4

Anexo 31

Concentración final (mg/L) de metales pesados en turba de rectángulos de cojín de D. muscoides en la zona experimental biorremediada del bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Áncash

Metales	Unidad	Turba de la zona experimental biorremediada del bofedal 2					
		A2	B2	B3	C1 testigo	C2 testigo	C3 testigo
		BOF2-A2TF	BOF2-B2TF	BOF2-B3TF	BOF2-C1F	BOF2-C2F	BOF2-C3F
Aluminio (Al)	mg/kg PS	4334,6	13590,30	2449,6	15982,50	13950,5	5732,20
Arsénico (As)	mg/kg PS	9,19	21,99	10,38	39,09	32,47	52,36
Cobre (Cu)	mg/kg PS	4,83	10,04	5,03	5,56	5,18	5,04
Cromo (Cr)	mg/kg PS	1,58	3,04	1,09	3,95	4,13	4,03
Hierro (Fe)	mg/kg PS	16911,23	98928,00	12873,25	105414,81	93248,16	30994,10
Manganeso (Mn)	mg/kg PS	742,79	743,61	924,64	999,04	1001,55	76,62
Plomo (Pb)	mg/kg PS	6,44	15,84	3,61	7,12	6,44	14,18
Zinc (Zn)	mg/kg PS	21,09	41,20	21,28	13,19	15,00	16,56

Anexo 32

Concentración final (mg/L) de metales pesados en tejido aéreo de D. muscoides en el bofedal 2 biorremediado, Subcuenca Pachacoto, Cátac, Áncash

Tejido aéreo de la zona experimental biorremediada del bofedal 2								
	A2	B2	B3	PROMEDIO	C1 testigo	C2 testigo	C3 testigo	
Metales	BOF2-A2TF	BOF2- B2TF	BOF2-B3TF		BOF2 – C1F	BOF2-C2F	BOF2 – C3F	PROMEDIO
Aluminio (Al)	3489,10	3148,80	3682,20	3415,50	2820,80	915,00	6320,30	3352,03
Arsénico (As)	15,74	9,80	15,08	12,44	15,36	6,92	11,14	11,14
Cobre (Cu)	3,71	3,74	2,81	3,28	4,64	6,46	7,88	6,33
Cromo (Cr)	0,93	1,01	11,33	6,17	1,63	0,87	5,35	2,62
Hierro (Fe)	28010,37	28312,19	28968,46	28640,33	26769,18	9995,52	3251,60	13338,77
Manganeso (Mn)	995,81	1149,04	889,46	1019,25	1476,35	907,16	1191,76	1191,76
Plomo (Pb)	3,66	4,39	4,60	4,50	2,72	2,00	2,36	2,36
Zinc (Zn)	38,59	22,76	28,84	25,80	30,66	35,10	22,36	29,37

Anexo 33

Concentración final (mg/L) de metales pesados en tejido radicular de D. muscoides en la zona experimental biorremediada del bofedal 2, Subcuenca Pachacoto, Cátac en Ancash.

Metales	Tejido radicular de la zona experimental biorremediada del bofedal 2							
	A2	B2	B3	PROMEDIO	C1 testigo	C2 testigo	C3 testigo	PROMEDIO
	BOF2-A2TF	BOF2- B2TF	BOF2-B3TF		BOF2-C1F	BOF2-C2F	BOF2-C3F	
Aluminio (Al)	2326,90	1768,20	1504,40	1636,30	9865,90	7819,30	4656,80	7447,33
Arsénico (As)	1,72	5,63	7,80	6,72	26,70	37,30	45,76	36,59
Cobre (Cu)	4,91	5,67	3,80	4,74	6,15	6,44	5,65	6,08
Cromo (Cr)	0,67	0,64	0,67	0,66	1,68	2,92	3,56	2,72
Hierro (Fe)	6356,97	15410,97	15550,20	15480,59	84643,11	44979,18	28258,77	52627,02
Manganeso (Mn)	488,47	788,94	502,86	645,90	599,25	510,25	554,75	554,75
Plomo (Pb)	3,95	6,89	4,72	5,81	7,40	5,52	6,46	6,46
Zinc (Zn)	19,90	35,17	28,97	32,07	25,85	20,30	12,49	19,55

Anexo 34

Prueba de normalidad y análisis de varianza de la concentración de metales pesados y arsénico en turba de cojines de *D. muscoides* trasplantados y no trasplantados

Shapiro-Wilks (modificado)

Zona de estudio	Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Control	Al	3	11888,40	5427,37	0,89	0,3577
Control	As	3	41,31	10,13	0,96	0,6422
Control	Cu	3	5,26	0,27	0,93	0,5041
Control	Cr	3	4,04	0,09	1,00	0,8773
Control	Fe	3	76552,36	39920,83	0,87	0,2908
Control	Mn	3	1000,30	1,26	1,00	0,9952
Control	Pb	3	9,25	4,29	0,82	0,1493
Control	Zn	3	14,92	1,69	1,00	0,9185
Trasplante	Al	3	6791,50	5962,89	0,87	0,3035
Trasplante	As	3	13,85	7,07	0,82	0,1623
Trasplante	Cu	3	6,63	2,95	0,78	0,0643
Trasplante	Cr	3	1,90	1,01	0,92	0,4650
Trasplante	Fe	3	42904,16	48560,06	0,79	0,0802
Trasplante	Mn	3	803,68	104,76	0,75	0,0071
Trasplante	Pb	3	8,63	6,40	0,91	0,4263
Trasplante	Zn	3	27,86	11,56	0,76	0,0162

Análisis de la varianza

Al

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Al	6	0,23	0,04	61,04

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	38967584,42	1	38967584,42	1,20	0,3351
Zona de estudio	38967584,42	1	38967584,42	1,20	0,3351
Error	130024844,32	4	32506211,08		
Total	168992428,74	5			

As

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
As	6	0,79	0,73	31,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1130,53	1	1130,53	14,82	0,0183
Zona de estudio	1130,53	1	1130,53	14,82	0,0183
Error	305,19	4	76,30		
Total	1435,72	5			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=19,80160

Error: 76,2981 gl: 4

Zona de estudio	Medias	n	E.E.	
Trasplante	13,85	3	5,04	A
Control	41,31	3	5,04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Cu

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cu	6	0,14	0,00	35,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,83	1	2,83	0,64	0,4672
Zona de estudio	2,83	1	2,83	0,64	0,4672
Error	17,57	4	4,39		
Total	20,40	5			

Cr

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cr	6	0,77	0,71	24,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,83	1	6,83	13,16	0,0222
Zona de estudio	6,83	1	6,83	13,16	0,0222
Error	2,07	4	0,52		
Total	8,90	5			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,63250

Error: 0,5186 gl: 4

Zona de estudio	Medias	n	E.E.	
Trasplante	1,90	3	0,42	A
Control	4,04	3	0,42	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Fe

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Fe	6	0,18	0,00	74,42

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1698301708,38	1	1698301708,38	0,86	0,4063
Zona de estudio	1698301708,38	1	1698301708,38	0,86	0,4063
Error	7903504425,63	4	1975876106,41		
Total	9601806134,01	5			

Pb

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Pb	6	4,8E-03	0,00	60,95

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,57	1	0,57	0,02	0,8964
Zona de estudio	0,57	1	0,57	0,02	0,8964
Error	118,72	4	29,68		
Total	119,29	5			

Anexo 35

Prueba de Kruskal Wallis de la concentración de metales pesados y arsénico en turba de cojines de *D. muscoides* trasplantados y no trasplantados

Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Mn	Control	3	1000,30	1,26	1000,30	3,86	0,1000
Mn	Trasplante	3	803,68	104,76	743,61		

Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Zn	Control	3	14,92	1,69	15,00	3,86	0,1000
Zn	Trasplante	3	27,86	11,56	21,28		

Anexo 36

Prueba de normalidad y análisis de varianza de la concentración de metales pesados y arsénico en el tejido aéreo de cojines de *D. muscoides* trasplantados y no trasplantados

Shapiro-Wilks (modificado)

Zona de estudio	Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Control	Al	3	3352,03	2741,53	0,97	0,6821
Control	As	3	11,23	4,22	1,00	0,9309
Control	Cu	3	6,33	1,62	0,99	0,8655
Control	Cr	3	2,62	2,40	0,87	0,3024
Control	Fe	3	13338,77	12110,00	0,94	0,5383
Control	Mn	3	1191,76	284,60	1,00	>0,9999
Control	Pb	3	2,36	0,36	1,00	>0,9999
Control	Zn	3	29,37	6,47	0,97	0,6665
Testigo	Al	3	3440,03	270,06	0,98	0,6960
Testigo	As	3	13,54	3,26	0,83	0,1960
Testigo	Cu	3	3,42	0,53	0,77	0,0529
Testigo	Cr	3	4,42	5,98	0,76	0,0126
Testigo	Fe	3	28430,34	489,85	0,96	0,5956
Testigo	Mn	3	1011,44	130,49	0,99	0,8005
Testigo	Pb	3	4,22	0,49	0,91	0,4065
Testigo	Zn	3	30,06	7,99	0,98	0,7457

Análisis de la varianza

Al

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Al	6	7,6E-04	0,00	57,36

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	11616,00	1	11616,00	3,1E-03	0,9585
Zona de estudio	11616,00	1	11616,00	3,1E-03	0,9585
Error	15177816,41	4	3794454,10		
Total	15189432,41	5			

As

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
As	6	0,12	0,00	30,45

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8,03	1	8,03	0,56	0,4942
Zona de estudio	8,03	1	8,03	0,56	0,4942
Error	56,86	4	14,22		
Total	64,89	5			

Fe

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Fe	6	0,54	0,42	41,04

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	341633378,51	1	341633378,51	4,65	0,0972
Zona de estudio	341633378,51	1	341633378,51	4,65	0,0972
Error	293784139,30	4	73446034,82		
Total	635417517,81	5			

Mn

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Mn	6	0,20	0,00	20,10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	48772,95	1	48772,95	1,00	0,3749
Zona de estudio	48772,95	1	48772,95	1,00	0,3749
Error	196045,81	4	49011,45		
Total	244818,76	5			

Pb

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Pb	6	0,87	0,84	13,13

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,17	1	5,17	27,72	0,0062
Zona de estudio	5,17	1	5,17	27,72	0,0062
Error	0,75	4	0,19		
Total	5,92	5			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,97904

Error: 0,1865 gl: 4

Zona de estudio	Medias	n	E.E.	
Control	2,36	3	0,25	A
Testigo	4,22	3	0,25	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Zn

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Zn	6	3,4E-03	0,00	24,45

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,71	1	0,71	0,01	0,9130
Zona de estudio	0,71	1	0,71	0,01	0,9130
Error	211,18	4	52,79		
Total	211,89	5			

Anexo 37

Prueba de Kruskal Wallis de la concentración de metales pesados y arsénico en el tejido aéreo de cojines de *D. muscoides* trasplantados y no trasplantados

Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Cu	Control	3	6,33	1,62	6,46	3,86	0,1000
Cu	Testigo	3	3,42	0,53	3,71		

Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Cr	Control	3	2,62	2,40	1,63	0,05	>0,9999
Cr	Testigo	3	4,42	5,98	1,01		

Anexo 38

Prueba de normalidad y análisis de varianza de la concentración de metales pesados y arsénico en tejido radicular de cojines de *D. muscoides* trasplantados y no trasplantados

Shapiro-Wilks (modificado)

Zona de estudio	Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Control	Al	3	7447,33	2624,40	0,98	0,7629
Control	As	3	36,59	9,55	1,00	0,8762
Control	Cu	3	6,08	0,40	0,98	0,7064
Control	Cr	3	2,72	0,96	0,97	0,6680
Control	Fe	3	52627,02	28959,72	0,95	0,5580
Control	Mn	3	554,75	44,50	1,00	>0,9999
Control	Pb	3	6,46	0,94	1,00	>0,9999
Control	Zn	3	19,55	6,71	0,99	0,8144
Trasplante	Al	3	1866,50	419,97	0,96	0,6079
Trasplante	As	3	5,05	3,08	0,97	0,6845
Trasplante	Cu	3	4,79	0,94	0,99	0,7934
Trasplante	Cr	3	0,66	0,02	0,75	<0,0001
Trasplante	Fe	3	12439,38	5267,98	0,76	0,0248
Trasplante	Mn	3	593,42	169,48	0,79	0,0806
Trasplante	Pb	3	5,19	1,52	0,93	0,4864
Trasplante	Zn	3	28,01	7,68	0,99	0,7921

Análisis de la varianza

Al

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Al	6	0,77	0,71	40,36

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	46718551,04	1	46718551,04	13,23	0,0220
Zona de estudio	46718551,04	1	46718551,04	13,23	0,0220
Error	14127647,67	4	3531911,92		
Total	60846198,71	5			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=4260,37971

Error: 3531911,9167 gl: 4

Zona de estudio	Medias	n	E.E.	
Trasplante	1866,50	3	1085,04	A
Control	7447,33	3	1085,04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

As

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
As	6	0,88	0,85	34,08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1491,84	1	1491,84	29,63	0,0055
Zona de estudio	1491,84	1	1491,84	29,63	0,0055
Error	201,39	4	50,35		
Total	1693,23	5			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=16,08553

Error: 50,3482 gl: 4

Zona de estudio	Medias	n	E.E.	
Trasplante	5,05	3	4,10	A
Control	36,59	3	4,10	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Cu

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cu	6	0,54	0,43	13,29

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,48	1	2,48	4,76	0,0946
Zona de estudio	2,48	1	2,48	4,76	0,0946
Error	2,09	4	0,52		
Total	4,57	5			

Mn

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Mn	6	0,04	0,00	21,58

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2243,44	1	2243,44	0,15	0,7217
Zona de estudio	2243,44	1	2243,44	0,15	0,7217
Error	61404,19	4	15351,05		
Total	63647,63	5			

Pb

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Pb	6	0,27	0,09	21,75

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,43	1	2,43	1,52	0,2856
Zona de estudio	2,43	1	2,43	1,52	0,2856
Error	6,42	4	1,60		
Total	8,85	5			

Zn

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Zn	6	0,34	0,18	30,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	107,53	1	107,53	2,07	0,2239
Zona de estudio	107,53	1	107,53	2,07	0,2239
Error	208,06	4	52,01		
Total	315,58	5			

Anexo 39

Prueba de Kruskal Wallis de la concentración de metales pesados y arsénico en tejido radicular de cojines de *D. muscoides* trasplantados y no trasplantados

Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Cr	Control	3	2,72	0,96	2,92	3,86	0,1000
Cr	Trasplante	3	0,66	0,02	0,67		

Variable	Zona de estudio	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Fe	Control	3	52627,02	28959,72	44979,18	3,86	0,1000
Fe	Trasplante	3	12439,38	5267,98	15410,97		