UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA



ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

“Estudio de comunidades microbianas de cianobacterias de aguas del embalse Pasto Grande mediante análisis de ADN metagenómico (ADNmg) en época de estiaje”

TESIS

PRESENTADO POR:

Bach. Fiorella Caroline Valdez Espinoza

Para optar al Título Profesional de:

Ingeniero Ambiental

ILO – PERÚ

2024

UNAM
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE
INGENIERÍA AMBIENTAL

Folio Nº 060

ACTA DE SUSTENTACIÓN

I. Modalidad:

Tesis : [X]
Trabajo de Suficiencia Profesional : [ ]
Otro: ..... : [ ]

II. Documento de aprobación para la sustentación:
Resolución de Facultad N° 244-2024-FACIA-UNAM

Fecha: 16 diciembre, 2024

III. El jurado ha dictaminado la (el) Tesis, TITULADO:
"Estudio de Comunidades Microbianas de Cianobacterias de Aguas del Embalse Paste Grande Mediante Análisis de ADN metagenómico (ADNmg) en Época de Estiaje"

Bachiller: Fiorella Caroline Valdez Espinoza

Asesor Principal: Dr. Hubert Hermon Soto Gonzales

Co-Asesor: .....

IV. Se dictamina:

Como: Aprobado por Unanimidad la sustentación de manera:

Presencial [X] Virtual [ ]

Con nota: DIECISEIS (16) por lo que; Sí [X] No [ ]

Opta el Título Profesional de INGENIERO AMBIENTAL.

Siendo las 13:50 horas, del 16 de Diciembre del año 2024 se procede con la firma en conformidad de lo dictaminado por el Jurado.

Edgar Virgilio Bedoya Justo
Presidente

RUDOLFO RUFO EL SÁNCHEZ VALENCIA
Primer Miembro

SHEYLA ZEVALLOS FERIA
Segundo Miembro

Bachiller

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a todos aquellos que me han inspirado y apoyado a lo largo de este proceso. A mi familia, por su amor y su aliento constante. Finalmente, dedico este logro a mí misma, por no rendirme, por aprender de los desafíos y por seguir adelante, a su vez espero que con los hallazgos de esta investigación contribuya al conocimiento y a la mejora de nuestro entorno.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado en lo largo de mi carrera, por darme fortaleza en momentos de debilidad.

A mi casa de estudios “Universidad Nacional de Moquegua”, en especial a la Escuela profesional de Ingeniería Ambiental y a todos los catedráticos que hicieron posible una educación de calidad a mi persona.

Al Dr. Hebert Hernán Soto Gonzáles, por su guía, apoyo incondicional y todos los conocimientos que compartió durante la elaboración de este proyecto de investigación.

Al proyecto especial de la Universidad Nacional de Moquegua “Limnología física del embalse Pasto Grande” aprobado mediante la Resolución de la Comisión Organizadora N°406-2020-UNAM, por haber financiado todo el desarrollo de este proyecto.

Al grupo de Investigación Bioprospección de Microrganismos y Moléculas de interés Biotecnológico – BIOMIB perteneciente a la Universidad Nacional de Moquegua; con resolución de la Comisión Organizadora N°1038-2021-UNAM, en especial a Yesica Álvarez, Melissa Cano, Karina León, Diego Arpasi, Albert Quispe y Etty Canaza.

RESUMEN

El embalse Pasto Grande ubicado en el distrito de Carumas, provincia Mariscal Nieto, representa la fuente de abastecimiento para toda la región de Moquegua a su vez tiene un rol importante en la protección del ecosistema de la zona, en la flora y fauna. Esta investigación buscó estudiar las comunidades microbianas de cianobacterias de aguas del embalse Pasto Grande mediante (Next Generation Sequencing [NGS]) a través del análisis de ADN metagenómico (ADNmg) en época de estiaje utilizando la plataforma de secuenciación de la empresa Illumina con el gen ribosomal 16S rARN, se pudo identificar 38 taxones de cianobacterias en las muestras de agua del embalse Pasto Grande. A través del Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) se pudo determinar que los taxones *Cyanobacteriia* sp., *Chamaesiphon PCC-7430* sp., *unclassified Cyanobacteriia* y la *unclassified Tychonema CCAP 1459-11B* estuvieron asociadas a la presencia de arsénico (As) y cadmio (Cd), en el caso de *unclassified Tychonema CCAP 1459-11B* estuvo asociada con plomo (Pb), mientras que *Pseudanabaena PCC-7429* sp. estuvo asociada con el cobre (Cu). Además, se determinó la relación de Clorofila-A con los taxones de cianobacterias que producen cianotoxinas empleando la correlación Spearman "r_s" obteniendo como resultado una correlación negativa donde demostró que la diversidad de los taxones de cianobacterias tiende a disminuir cuando la concentración de Clorofila-A aumenta. Así mismo, para la comparación de los niveles de metales pesados con los Estándares de Calidad Ambiental (ECA-Agua) D.S N°004-2017-MINAM demostró que los valores de mercurio (Hg) (0.007 - 0.420 mg/L), selenio (Se)(0.002 - 0.048 mg/L), cadmio (Cd) (0.133 mg/L) y cromo (Cr) (0.231 - 0.736 mg/L) superaron las concentraciones establecidas en el ECA-Agua para las Categorías 1 y 4. Mientras que Arsénico (As) (0.015 -0.051 mg/L) y manganeso (Mn) (0.811 - 0.919 mg/L) excedieron los valores de la Categoría 4. Del mismo modo cobre (Cu) (0.050 - 0.352 mg/L), plomo (Pb) (0.002 - 0.049 mg/L) y zinc (Zn) (0.012 – 0.297 mg/L) superaron la concentración establecida en la Categoría 1, níquel (Ni) presentó concentraciones bajas para ambas categorías. Por lo que se concluye que es posible determinar taxones de cianobacterias mediante análisis de ADN metagenómico (ADNmg) con el gen 16S rRNA en las regiones V3 -V4 en época de estiaje en el embalse Pasto Grande.

Palabras claves: Cianobacterias, cianotoxinas, Clorofila-A, metagenómica.

ABSTRACT

The Pasto Grande reservoir located in the district of Carumas, Mariscal Nieto province, represents the source of supply for the entire region of Moquegua and plays an important role in protecting the ecosystem of the area, flora and fauna. This research sought to study the microbial communities of cyanobacteria in the waters of the Pasto Grande reservoir by means of Next Generation Sequencing [NGS] through the analysis of metagenomic DNA (DNAmg) during the dry season using the sequencing platform of the company Illumina with the 16S rRNA ribosomal gene, 38 taxa of cyanobacteria were identified in the water samples from the Pasto Grande reservoir. Through Canonical Correspondence Analysis (CCA) it was determined that the taxa *Cyanobacteriia* sp., *Chamaesiphon PCC-7430* sp, *unclassified Cyanobacteriia* and *unclassified Tychonema CCAP 1459-11B* were associated with the presence of arsenic (As) and cadmium (Cd), in the case of *unclassified Tychonema CCAP 1459-11B* it was associated with lead (Pb), while *Pseudanabaena PCC-7429* sp. was associated with copper (Cu). In addition, the relationship of Chlorophyll-A with cyanobacterial taxa that produce cyanotoxins was determined using the Spearman 'rs' correlation, obtaining as a result a negative correlation showing that the diversity of cyanobacterial taxa tends to decrease when the concentration of Chlorophyll-A increases. Also, the comparison of the levels of heavy metals with the Environmental Quality Standards (EQS) ECA-Agua D.S N°004-2017-MINAM showed that the values of mercury (Hg) (0.007 - 0.420 mg/L), selenium (Se) (0.002 - 0.048 mg/L), cadmium (Cd) (0.133 mg/L) and chromium (Cr) (0.231 - 0.736 mg/L) exceeded the concentrations established in the EQS-Water for Categories 1 and 4. 231 - 0.736 mg/L) exceeded the concentrations established in the RCT-Water for Categories 1 and 4. While arsenic (As) (0.015 -0.051 mg/L) and manganese (Mn) (0.811 - 0.919 mg/L) exceeded the values for Category 4. Similarly, copper (Cu) (0.050 - 0.352 mg/L), lead (Pb) (0.002 - 0.049 mg/L) and zinc (Zn) (0.012 - 0.297 mg/L) exceeded the concentration established in Category 1. nickel (Ni) presented low concentrations for both categories. It is therefore concluded that it is possible to determine cyanobacterial taxa by metagenomic DNA analysis (mgDNA) with the 16S rRNA gene in the V3 - V4 regions during the low water levels in the Pasto Grande reservoir.

Key words: Cyanobacteria, cyanotoxins, chlorophyll-A, metagenomics.

ÍNDICE GENERAL

I. **Planteamiento del problema** 3

1.1. Descripción y formulación del problema 3

1.2. Objetivos 4

1.2.1. Objetivo general 4

1.2.2. Objetivos específicos 4

1.3. Justificación e importancia 4

1.4. Hipótesis 5

1.4.1. Hipótesis general 5

1.4.2. Hipótesis específicas 5

1.5. Variables 5

1.5.1. Variable dependiente 5

1.5.2. Variable independiente 6

II. Marco teórico 7

2.1. Antecedentes 7

2.1.1. Antecedentes internacionales 7

2.1.2. Antecedentes nacionales 8

2.1.3. Antecedentes locales 9

2.2. Bases teóricas 9

2.2.1. Cianobacterias 9

2.2.2. Cianotoxinas 10

2.2.3. Floración algares en aguas dulces 11

2.2.4. Microcistinas 12

2.2.5. Clorofila 13

2.2.6. Clorofila – A 13

2.3. Definición de términos 14

2.3.1. Floración de algas nocivas (FAN) 14

2.3.2. Ficotoxinas de cianobacterias 14

2.3.3. Análisis molecular 14

2.3.4. Cebadores 15

2.3.5. Metagenómica 15

2.3.6. Parámetros físico químicos 15

2.3.7. Metales pesados 15

III. Metodología 16

3.1. Tipo y nivel de investigación 16

3.2. Ámbito temporal y espacial 16

3.2.1. Temporal 16

3.2.1. Espacial 16

3.3. Población y muestra 16

3.3.1. Población 16

3.3.2. Muestra 16

Toma de muestras. 16

Muestra físicos químicos (metales pesados). 18

Muestra para análisis metagenómico. 18

Conservación de las muestras en campo. 18

3.4. Instrumentos 18

3.4.1. Técnicas 18

3.4.2. Instrumentos 18

3.5. Procedimientos 20

3.5.1. Técnicas de filtración 20

Método de filtración de agua por membranas de nitrocelulosa 20

3.5.2. Técnicas moleculares. 23

Extracción de ADN metagenómico. 23

Preparación de bibliotecas y secuenciación 28

Análisis bioinformático. 28

Datos de secuencias originales 29

Preprocesamiento de datos 31

3.5.3. Técnicas fisiológicas 31

Determinación de Clorofila-A. 31

Determinación de metales pesados.. 34

3.6. Análisis de datos 35

Índice de Simpson. 36

Índice de Shannon. 36

IV. Resultados y discusión 37

4.1. Resultados 37

4.1.1. Comparación de taxones de cianobacterias y su relación con la presencia de metales pesados (Cd, Pb, Cu y As). 37

4.1.2. Análisis de Redundancia (RDA) entre estaciones de muestreo y variables ambientales 39

4.1.3. Relación de la concentración de clorofila-A y los taxones de cianobacterias con grado de toxicidad 40

4.1.4. Comparación de la concentración de metales pesados y ECA-Agua para Categoría 1 y 4..... 41

4.1.5. Cálculo de Índices de diversidad 47

4.2. Discusión..... 52

4.2.1. Taxones de cianobacterias relacionadas a metales pesados (Cd, Pb, Cu y As) ……..52

4.2.2. Relación de la concentración de clorofila-A y los taxones de cianobacterias con grado de toxicidad 53

4.2.3. Comparación de la concentración de metales pesados y ECA – Agua 54

4.2.4. Índices de diversidad ecológica 59

V. Conclusiones 61

VI. Recomendaciones 62

VII. Referencias bibliográficas 63

VIII. Anexos 78

Anexo 1 ECA-Agua Categoría 1: Poblacional y recreacional..... 78

Anexo 2 ECA-Agua Categoría 4: Conservación del Medio Acuático..... 79

Anexo 3 Plano de ubicación de los puntos de muestreo en el embalse Pasto Grande……..81

Anexo 4 Parámetros físico químicos de los puntos de muestreo en el embalse Pasto Grande 82

Anexo 5 Cuantificación de Clorofila-A en los puntos de muestreo en el embalse Pasto Grande 86

Anexo 6 Resultados de la Extracción de ADN Metagenómico (ADNmg) 87

Anexo 7 Informe de análisis de secuenciación taxonómica microbiana (Metabarcoding 16S) 88

Anexo 9 Metodología aplicada para el análisis de metales pesados Metalyzer 98

Anexo 10 Panel fotográfico 133

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Matriz de la variable dependiente 6

Tabla 2 Matriz de variable independiente variable independiente..... 6

Tabla 3 Principales tipos de toxinas presentes en los géneros de cianobacterias 10

Tabla 4 Coordenadas de las estaciones de muestreo 17

Tabla 5 Lista de materiales de campo 19

Tabla 6 Lista de equipos de laboratorio 19

Tabla 7 Lista de materiales de laboratorio 20

Tabla 8 Lista de insumos químicos..... 20

Tabla 9 Programas informáticos utilizados en la secuenciación de ADNmg 28

Tabla 10 Detalles del identificador de secuenciación Illumina 30

Tabla 11 Puntuaciones de calidad Phred 30

Tabla 12 Electrodos para determinación de metales pesados..... 34

Tabla 13 Resultados del Análisis de Componentes Canónicos (CC 38

Tabla 14 Tabla de índices de diversidad 48

Tabla 15 Valorización del índice de diversidad de Shannon – Wiener..... 49

Tabla 16 Valorización del Índice de diversidad de Simpson 50

Tabla 17 Parámetros físico-químicos de los puntos de muestreo..... 82

Tabla 18 Concentración de metales pesados en aguas del embalse Pasto Grande 85

Tabla 19 Concentración de Clorofila-A en los puntos de muestreo 86

Tabla 21 Cuantificación de ADN en 2uL de muestra 87

Tabla 22 Taxones encontrados en el ADN metagenómico a través del secuenciador Illumina (16S) 89

Tabla 23 Abundancia de especímenes en cada punto de muestreo..... 92

Tabla 24 Listado de Cianobacterias productoras de cianotoxinas 94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Diagrama simplificado de los factores que determinan las causas de las floraciones cianobacterianas y los efectos de éstas sobre los sistemas acuáticos y su biota 11

Figura 2 Sucesión estacional de microcistinas productoras de toxinas y su interacción con otros organismos (por ejemplo, bacterias degradadoras de microcistina y depredadores) en aguas dulces eutróficas en diferentes fases de floración 13

Figura 3 Fórmula molecular de la Clorofila-A 14

Figura 4 Imagen satelital de la ubicación de los puntos de muestreo 17

Figura 5 *Filtración de muestras de agua del embalse Pasto Grande por membranas de microcelulosa 0.45 µm* 21

Figura 6 Almacenamiento de membranas de nitrocelulosa de 0.45 µm conteniendo el material microalgal 22

Figura 7 Extracción de ADN metagenómico con el Kit Promega 25

Figura 8 *Análisis y visualización del ADN metagenómico mediante electroforesis y fotodocumentación* 26

Figura 9 Cuantificación y evaluación de la pureza del ADN metagenómico 27

Figura 10 *Cuantificación de Clorofila-A total de muestras de agua del embalse Pasto Grande* 33

Figura 11 Determinación y cuantificación de metales pesados utilizando el equipo portátil Metalyzer HM3000 35

Figura 12 Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) 37

Figura 13 Análisis de Redundancia (RDA) 39

Figura 14 Análisis de Correlación Spearman para Clorofila-A y taxones de cianobacterias 40

Figura 15 Concentración de Mercurio (Hg) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 41

Figura 16 Concentración de Arsénico (As) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 42
Figura 17 Concentración de Manganeso (Mn) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 42
Figura 18 Concentración de Níquel (Ni) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 43
Figura 19 Concentración de Cobre (Cu) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 43
Figura 20 Concentración de Selenio (Se) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 44
Figura 21 Concentración de Plomo (Pb) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 45
Figura 22 Concentración de Zinc (Zn) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 45
Figura 23 Concentración de Cadmio (Cd) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 46
Figura 24 Concentración de Cromo (Cr) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 47
Figura 25 Número de especies encontradas en los puntos de muestreo del embalse Pasto 48
Figura 26 Índice de diversidad de Shannon (H') 49
Figura 27 Índice de diversidad de Simpson-D 50
Figura 28 Promedio de temperatura del agua en el embalse Pasto Grande en época de estiaje 82
Figura 29 Valor de la Conductividad eléctrica de los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 83
Figura 30 Concentración de pH en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 83

Figura 31 Concentración de DBO en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4 84

Figura 32 Concentración de TDS en los puntos de muestreo en relación a los ECA-Agua Categoría 1 y Categoría 4 84

Figura 33 Concentración de Clorofila-A en los puntos de muestreo del embalse Pasto Grande 86

Figura 34 Abundancia relativa (%) de taxones por Clase en el embalse Pasto Grande en época de estiaje 96

Figura 35 Perfil del mapa de calor de las clases representativas encontradas en el embalse Pasto Grande 97

Figura 36 Preparación de zodiac para realizar la toma de muestras 133

Figura 37 Toma de parámetros físico químicos in situ 134

Introducción

El embalse de Pasto Grande está ubicado en el distrito de Carumas, Provincia de Mariscal Nieto, departamento de Moquegua, a una altitud de 4400 a 4800 m.s.n.m. es el segundo más grande de los embalses en el Sur del Perú debido a que tiene volúmenes de almacenamiento de 200 Hm^3 (Ministerio de Agricultura, 2011) y aporta agua a la población de Moquegua y Tambo, cuenta con cuatro ríos tributarios Tocco, Millojahuira, Antajarane y Patara. Los tres últimos aportan aguas ácidas al embalse Pasto Grande de manera natural pero el rio Patara aporta aguas ácidas, debido a que en sus nacientes presenta aguas termales y se encuentran zonas mineras como la mina Cacachara (Puno) y Santa Rosa en Moquegua (Consorcio V-5, 2012; MINAGRI y ANA, 2015).

Los ecosistemas acuáticos han sido ampliamente alterados debido a las actividades antrópicas como liberación de efluentes no tratados, minería, agricultura; estos contaminan con metales y nutrientes como el fósforo y nitrógeno (Vendrell-Puigmitja et al., 2020). El año 2008 el embalse mostraba floraciones algales presentando discoloraciones del agua (Consorcio V-5, 2012), esto se desencadenan por eutrofización antropogénica y el cambio climático (Zhang et al., 2023). Las cianobacterias, son los microorganismos más antiguos del mundo con evidencia fósil de una historia de 3.500 millones de años (Schopf, 1993), son organismos procariotas que existen como habitantes naturales de diversos ambientes como aguas dulces, salobres y marinas e incluso en las superficies Illunimadas en rocas y suelos, tienen la capacidad de soportar condiciones ambientales adversas y extremas (Carmichael et al., 2018).

Las floraciones de cianobacterias son una gran amenaza para la condición de los embalses (Alvarez et al., 2024), provocando la producción de toxinas que son potencialmente dañinas o letales para las especies presentes en el ecosistema y para los humanos, esto ocasiona disminución de la calidad del cuerpo de agua (O'Farrell et al., 2019) que hoy en día es un problema mundial para las fuentes de suministro de agua (Paerl y Huisman, 2009).

Las especies *Anabaena*, *Microcystis, Aphanizonmenon, Oscillatoria, Nodularia, Lyngbya, Cyolindrospermopsis* y *Nostoc* son los principales géneros que producen metabolitos secundarios como las cianotoxinas (Chen et al., 2009; Wang et al., 2020). Las cianotoxinas son un grupo de toxinas naturales química y toxicológicamente diverso que se clasifican como neurotoxinas, hepatotoxinas, citotoxinas y dermatoxinas (Chorus y Welker, 2021), estas toxinas se bioacumulan en el cuerpo; provocando intoxicación incluso hasta la muerte. Es por ello que en

este estudio se realizó la secuenciación de nueva generación (Next Generation Sequencing [NGS]) a través del análisis de ADN metagenómico (ADNmg) utilizando la plataforma de secuenciación de la empresa *Illumina* mediante el gen ribosomal 16S rARN, para identificar comunidades de cianobacterias posiblemente asociadas a la producción de cianotoxinas en las aguas del embalse Pasto Grande durante la época de estiaje en el año 2023.

I. Planteamiento del problema

1.1. Descripción y formulación del problema

En los cuerpos de agua como los ríos, lagos, lagunas y embalses hay presencia de microalgas producto del aumento de ellas se generan las floraciones algales; floraciones con atributos "nocivos" que se denominan (FAN) (Brooks et al., 2016; Huisman et al, 2018) estos provocan cambios físicos y químicos en los ecosistemas debido a la eutrofización, el aumento de las concentraciones de CO_2 contribuyendo al calentamiento global (Ji et al.,2017; Ndlela et al., 2016; Ho et al., 2019; Pick, 2016), esos factores promueven el crecimiento masivo de Cianobacterias nocivas y por ende la generación de cianotoxinas que actualmente son un fenómeno mundial durante las últimas décadas y suponen una amenaza ecotoxicológicas para los seres humanos y los animales (Kurtz et al.,2021; Huo et al., 2021).

Las cianobacterias al ser omnipresentes en los medios acuáticos y terrestres están presentes en la superficie donde hay mayor disponibilidad de luz para realizar la fotosíntesis debido a que es su fuente principal de energía y carbono (Whitman et al., 1998). Las cianotoxinas se pueden dividir en cinco clases según sus características de toxicidad: hepatotoxinas (microcistinas; MCs), neurotoxinas (anatoxinas y saxitoxinas), dermatoxinas, citotoxinas (cilindrospermopsinas) y lipopolisacáridos (toxinas irritantes) (Gkelis et al., 2019), siendo las microcistinas la más peligrosa debido que causa hepatotoxicidad aguda, toxicidad crónica, mutagenesis, carcionogenesis y teratogénesis. Estudios previos indicaron que son comúnmente encontradas en lagos y embalses (Cirés et al., 2017; Wiegand & Pflugmacher, 2005).

Actualmente se emplean técnicas avanzadas de metagenómica que permite analizar el 99.9% de la diversidad de microorganismos no cultivables, en contraste con métodos de cultivo que solo se recupera entre el 0.1 a 10% de los microorganismos (Rondon et al.,1999; Handelsman et al.,2002; Zapata, 2004). Motivo por el cual en este trabajo se realizó el análisis metagenómico en el embalse Pasto Grande ubicado en la Región Moquegua, Provincia de Mariscal Nieto; para la determinación de la presencia de comunidades de cianobacterias utilizando métodos de secuenciación de nueva generación NGS a partir de secuencias de ADN ambiental de las aguas del embalse, para determinar si existe relación con la presencia de metales pesados determinados por métodos estándares.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Realizar el estudio de comunidades microbianas de cianobacterias de aguas del embalse de Pasto Grande mediante análisis de ADN metagenómico (ADNmg) en época de estiaje.

1.2.2. Objetivos específicos

Comparar taxones de cianobacterias del embalse de Pasto Grande y su relación en cuanto a la presencia de metales pesados (As, Cd, Pb y Cu) en época de estiaje.

Relacionar la concentración de Clorofila-A y taxones de cianobacterias con grado de toxicidad en el embalse Pasto Grande en época de estiaje.

Comparar las concentraciones de metales pesados del embalse Pasto Grande durante la época de estiaje con las normas actuales ECA-Agua D.S N°004-2017-MINAM categoría 1 y categoría 4.

1.3. Justificación e importancia

El embalse de Pasto Grande geográficamente se encuentra situado en la Región Moquegua, Provincia Mariscal Nieto, Distrito Carumas, a 4 520 – 4 600 msnm, georefenciado a una latitud Sur 16° 40’ 30’’ – 16° 46’ 00’’, longitud Oeste 70° 10’ 00’’ – 70° 14’ 30’’, a una altitud de 4400 a 4800 m.s.n.m., tiene una extensión de 39.1 km^2 y puede almacenar un volumen máximo de 200 Hm3, pertenece a la cuenca del Río Vizcachas y es una fuente principal que sirve para el abastecimiento hídrico de las provincias de Mariscal Nieto e Ilo. El sistema hídrico del embalse Pasto Grande está conformado desde las nacientes, recorridos, bofedales, ingreso, salida del embalse, Planta de Tratamiento de agua Potable (PTAP) Moquegua, hasta su desembocadura en el mar a través del río Osmore.

El embalse posee cuatro afluentes permanentes siendo los ríos Millojahuira y Antajarane que aportan agua ácida cuyo origen es natural, el río Patara proporcionan aguas ácidas de manera antrópica por la actividad minera y el Rio Toco que tiene aguas alcalinas y con presencia de una gran extensión de bofedales.

Es de gran importancia realizar estudios ecotoxicológicos como indica el informe del Gobierno Regional de Moquegua (2012, p. 2) debido que existe vulnerabilidad intrínseca de los recursos hídricos en el embalse por diversos

factores negativos que han propiciado la acidificación de las aguas y disminución de la biodiversidad. Por tal razón puede provocar riesgo inherente en la salud humana como a la fauna que se encuentra en las zonas adyacentes, es por ello que al obtener resultados utilizando procedimientos moleculares ayudará a generar conocimiento básico y actualizado referente a la presencia de especies de cianobacterias productoras de cianotoxinas en el embalse de Pasto Grande.

1.4. Hipótesis

1.4.1. Hipótesis general

Se puede realizar el estudio de comunidades microbianas de cianobacterias de aguas del embalse de Pasto Grande mediante análisis de ADN metagenómico (ADNmg) en época de estiaje.

1.4.2. Hipótesis específicas

Se puede comparar taxones de cianobacterias del embalse de Pasto Grande y su relación en cuanto a la presencia de metales pesados (As, Cd, Pb y Cu) en época de estiaje.

Es posible relacionar la concentración de Clorofila-A y taxones de cianobacterias con grado de toxicidad en el embalse Pasto Grande en época de estiaje.

Las concentraciones de metales pesados del embalse Pasto Grande durante la época de estiaje sobrepasan lis límites establecidos en las normas actuales ECA-Agua D.S N°004-2017-MINAM categoría 1 y categoría 4.

1.5. Variables

1.5.1. Variable dependiente

Tabla 1

Matriz de la variable dependiente

Variable	Definición	Tipo de variable	Operacionalización	Dimensiones	Indicadores	Instrumento de medición	Unidad de medida	Índice	Valor
Parámetros físico-químicos y biológico	Son parámetros que determinan la calidad de agua (Ruiz et al., 1991).	Cuantitativo	Fluorescencia, Análisis de metales pesados, multiparámetro	- Cuantificación de clorofila - Concentración de metales pesados - Cuantificación de parámetros físico químicos	- Clorofila-A - Metales pesados - Conductividad Eléctrica - Temperatura - pH - Oxígeno disuelto - Sólidos totales disueltos (TDS)	- Fluorómetro - Voltímetro - Multiparámetro	- µg chl-A/l - mg/L - Ms/cm - °C - H+ - mg/L	Concentración o cuantificación de los parámetros	Numérico o porcentual

1.5.2. Variable independiente

Tabla 2

Matriz de variable independiente

Variable	Definición	Tipo de var.	Operaciona_lización	Dimensiones	Indicadores	Instrumento de medición	Unidad de medida	Índice	Valor
Cianobacterias	Bacterias procariotas; gram negativas, suelen ser unicelulares y multicelular, capaces de producir toxinas y exudarlas al medio ambiente (Geerts et al., 1993,119-90).	Cuantitativo	Secuenciación de nueva generación (NGS) de ADN metagenómico	Cebadores moleculares del gen ribosómico 16S	Número Taxones de cianobacterias	Secuenciador	Pares de base (pb)	Secuenciación de nueva generación Plataforma Illumina	% de abundancia relativa de taxones

II. Marco teórico

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

El primer trabajo corresponde a los autores (França et al., 2022) titulado Calidad del agua en un sistema de embalses en cascada - un caso de estudio en la región semiárida brasileña, el cual tuvo como objetivo evaluar la calidad del agua en el sistema de transferencia que abastece la Región Metropolitana de Fortaleza, Ceará. Se analizó veinte parámetros de calidad del agua a lo largo del sistema y se aplicó un análisis de conglomerados utilizando la distancia euclidiana asociada al método de vinculación de Ward para agrupar los 13 puntos de recogida establecidos en función de sus similitudes, se tuvo como resultado altas concentraciones nitrógeno total, oxígeno disuelto, turbidez, Clorofila-A, pH y cianobacterias de los cuales las especies *Oscillatoria* sp. y *Microcistinas* sp fueron dominantes.

El segundo trabajo corresponde a (Chaidir et al.,2016) denominado Aislamiento e identificación molecular de microalgas de agua dulce en Maninjau Lago de Sumatra Occidental, tuvo como objetivo determinar la diversidad microbiana diversidad y abundancia de especies presentes en los floramientos algales, para el cual se tomó muestra superficial y a dos metros de profundidad posteriormente realizaron la extracción de ADN y se analizaron por metagenómica con genes 16S y 18S rARN teniendo como resultado que la diversidad de especies fue similar de las muestras tomadas en los diferentes niveles de profundidad, los microorganismos procariotas que sobresalieron fue la Cianobacteria *Planktothrix spp* (67%, 69%) las Proteobacterias (13%, 13.7%) y Bacteriodetes (8.2%, 6%). Los microorganismos dominantes de las Eucariotas fueron *Opisthokonta y Stramenopila, Alveolata y Rhizaria (*SAR). Desarrollaron el análisis por cuantiles y determinó que las especies dominantes como *Flavobacterium* spp*. Aeromonas rivuli-sobria, Rheinheimera* spp*., Cetobacterium somerae y Cryptomonas curvata* se encuentran a dos metros de profundidad a comparación de la muestra tomada en la superficie se tuvo como especies dominantes a las *Methylocaldum szegediense, Pseudospirillum y Aeromonas.*

El tercer trabajo corresponde a los autores (Valério et al., 2006) titulado PCR multiplex para la detección de cianobacterias productoras de microcistinas en muestras de agua dulce, se desarrollado una PCR multiplex que amplifica simultáneamente los fragmentos *Mcy*A-cd, *Mcy*AB y *Mcy*B del

grupo de genes de las microcistinas se validó con el ADN de 124 cianobacterias aisladas y se aplicó en 37 muestras ambientales. El estado toxicológico de los aislados se evaluó mediante cromatografía líquida de alto rendimiento, también utilizada como "estándar de oro" para la evaluación de la PCR múltiplex basada en genes *Mcy*, donde se obtuvo una sensibilidad del 92,3% y una especificidad del 100%. Para las muestras ambientales, se ha desarrolló un protocolo rápido para su uso directo en la reacción de PCR y, utilizaron los resultados de ELISA como "estándar de oro'" para la presencia de microcistinas en estas muestras, lograron una sensibilidad del 80% y una especificidad del 100%, lo que demuestra que esta prueba de PCR multiplex es una forma rápida, fiable y económica de evaluar el potencial de producción de microcistinas de las cianobacterias en aguas dulces, independientemente de su taxón o de la variante de microcistina producida.

El cuarto trabajo fue realizado por los investigadores (R. Echenique, 2021), denominado Variación morfológica de Cyanotetras (Cyanobacteria) en el lago de Catemaco Veracruz, México, tuvo como objetivo reportar dos taxa del género *Cyanotetras* encontrados en el Lago de Catemaco, Veracruz (México). Se recolectó muestras en once sitios en el Lago de Catemaco, para evaluar la composición de la taxocenosis fitoplanctónica, así como las características de las variables físico-químicas. Se encontró las taxa del género *Cyanotetras* halladas en el Lago de Catemaco: *C. crucigenielloides, C. aerotopa,* así como una nueva forma*, C. crucigenielloides* variante mexicana siendo la más abundante a comparación de las *C. aerotopa y C. crucigenielloides*.

2.1.2. Antecedentes nacionales

El primer estudio nacional es de los autores (Mavila et al., 2021), titulado Aislamiento y caracterización molecular y bioquímica de una cianobacteria *Anabaena sp*. del río Amazonas , Loreto-Perú, tuvo como principal objetivo aislar y caracterizar molecularmente y bioquímicamente la cianobacteria *Anabaena* sp. del río Amazonas, las muestras obtenidas se enriquecieron con medio ASM1, se aisló y cultivó con métodos estándares una especie de cianobacteria posteriormente se identificó morfológicamente y caracterizada a nivel molecular y bioquímico. El resultado obtenido mostró que la cianobacteria tiene 28,40% de proteínas, 10,08% de lípidos, 9,34% de carbohidratos y 11,20% de cenizas, los cuales tienen posibles aplicaciones

en la producción biotecnológica de compuestos nutricionales para consumo humano.

El segundo trabajo realizado es de los autores (Montoya et al., 2017) denominado Diversidad fenotípica de la cianobacteria *Pseudophormidium tenue* (Oscillatoriales, Microcoleaceae), nuevo reporte para el Perú, esta investigación consistió en realizar muestreo del desierto de las lomas de Pachacámac (sur de Lima) y colecciones cianobacteriales estándar (costras, biofilms o matas terrestres), realizaron cultivos en medios BBM y N8 obteniendo el crecimiento poblacional de *Pseudophormidium tenue* con diversos morfo tipos que colonizan los desiertos costeros. Tuvo como resultado a una nueva cianobacteria con una estructura de biopelículas, sobre sustrato rocoso *Pseudophormidium tenue* logrando un nuevo registro para Perú.

2.1.3. Antecedentes locales

El autor (Flores, 2020) denominado Contaminación del embalse Pasto Grande por elementos químicos tóxicos y su efecto en los productores primarios, realizó un estudio en el embalse Pasto Grande con la finalidad de determinar la calidad de agua tomando cinco puntos de muestreo dentro del embalse dentro de ello realizó el estudio abundancia, riqueza y diversidad del fitoplancton presente. Los resultados demostraron que hay cinco comunidades (*Bacillariophyta, Chlorophyta, Cyanobacteria, Euglenophyta y Crysophyta*) que forman el fitoplancton, donde las diatomeas son las más abundantes mostrando su capacidad adaptiva en aguas contaminadas, es por ello que tiene como conclusión que la calidad de agua del Embalse Pasto Grande presenta aguas de mala calidad, el índice de diversidad de Shannon-Wienner demostró que hay contaminación moderada en el agua del embalse debido a que dominó la presencia de Bacillariophyta.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Cianobacterias

Son bacterias procariotas; Gram negativas que tienen presencia de clorofila-A, pueden ser unicelulares y multicelular, son capaces de producir toxinas y exudarlas al medio ambiente y se encuentran en diversos ecosistemas. Las cianobacterias son conocidas también como algas verdes azuladas debido a que forman colonias visibles en el agua (Ministerio de Salud de la Nación, 2015).

2.2.2. Cianotoxinas

Son metabolitos secundarios que se producen y acumulan durante la producción de fotopigmentos, esto sucede debido a condiciones ambientales perjudiciales. Las cianobacterias mueren y liberan sus contenidos al medio acuático (Ramirez et al, 2004). Las toxinas pueden ser péptidos cíclicos, alcaloides y lipopolisacáridos, estas se pueden dividir en cinco clases principales según sus principales objetivos de toxicidad: hepatotoxinas (por ejemplo, *microcistinas*; MCs), neurotoxinas (por ejemplo, anatoxinas y saxitoxinas), dermatoxinas, citotoxinas (por ejemplo, c*ilindrospermopsinas*) y lipopolisacáridos (toxinas irritantes) (Gkelis et al., 2019).

Tabla 3

Principales tipos de toxinas presentes en los géneros de cianobacterias

Tipo de toxina	Géneros reportados	Efectos tóxicos
Hepatoxinas		
Microcistina	*Microcistinas, Anabaena, Anabaenopsis, Aphanizamenon, Aphanocapsa, Cylindrospermopsis, Gloeotrichia, Hapalosiphon, Dolichospermum, Leptolyngbya, Nostoc, Oscillatoria, Phormidium, Planktothrix, Pseudanabaena, Synechococcus, Watonichinia*	Parálisis, daño hepático y renal, gastroenteritis, reducción en la repartición de ADN
Nodularina	*Nodularia*	
Citotoxinas		
Cilindrospermopsina	*Cylindrospermosis, Anabaena, Aphanizomenon, Chrysosporum, Raphidiopsis, Lyngbya*	Vómitos, diarrea hemorrágica, hepatomegalia, daño renal, gastroenteritis
Neurotoxinas		
Anatoxina-a	*Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Lyngbya, Planktothrix, Cuspidothrix*	Pérdida de coordinación, temblores musculares, falla respiratoria
Homoanatoxina-a	*Dolichospermum, Oscillatoria, Raphidiopsis, Phormidium, Woronichinia*	
Anatoxina-a(s)	*Dolichospermun*	Incontinencia, temblores musculares y falla respiratoria
Saxitoxinas	*Anabaena, Aphanizomennon, Cuspidothrix, Cylindrospermopsis, Dolichospermun, Lyngbya, Oscillatoria, Planktothrix*	Parestesias por ingestión, quemaduras en labios, lengua, garganta, vómito, diarrea, pérdida de la coordinación, parálisis y falla respiratoria
BMAA	*Microcistinas, Nostoc, Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Lyngbya, Nodularia, Planktothrix, Phormidium, Scytonema, Synechococcus, Trichodesmium*	Afecta el tejido cerebral, atrofia muscular

Lipopolysacaridos (LPS)	*Todas*	Irritante, fiebre, enfermedad gastrointestinal
Dermatotoxinas		
Aplasiatoxina	*Lyngbya, Oscillatoria, Schizothrix*	Irritación y dermatitis grave
Lyngbyatoxina	*Lyngbya*	
Aeruginosina	*Microcistinas, Planktothrix*	

Nota. (Salomón et al., 2020)

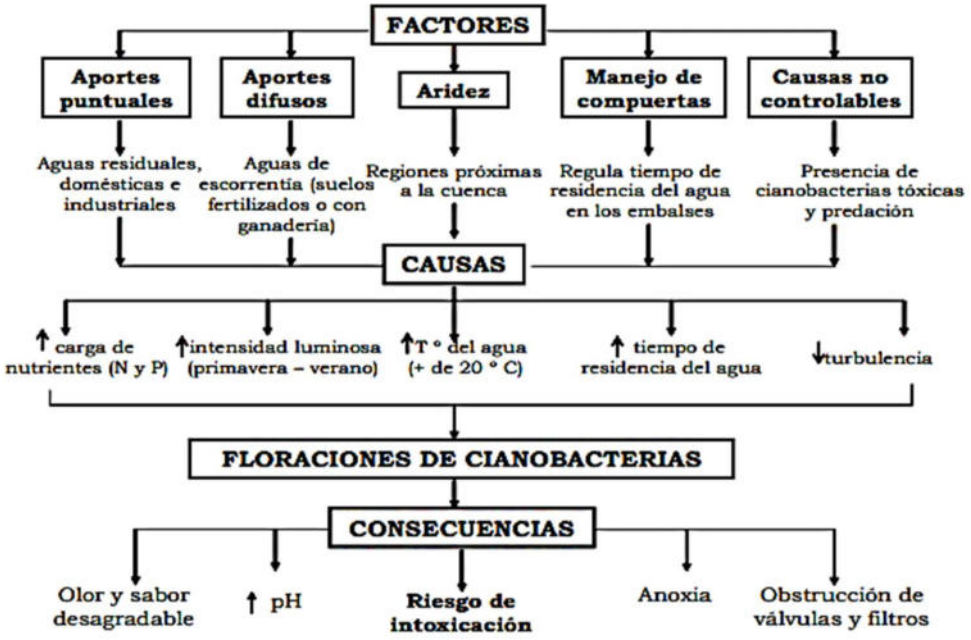
2.2.3. Floración algares en aguas dulces

Es el crecimiento, multiplicación y acumulación de algas en el agua ríos, embalses y lagos siendo un importante problema medioambiental. La mayoría de algas como las cianobacterias producen toxinas peligrosas en el agua que tienen repercusiones en la salud humana y el medio ambiente (Francis, 1999).

Las floraciones algales pueden desplegarse a partir de diatomeas, algas verdes, dinoflagelados y cianobacterias (De León, 2001), las principales especies que lo causan son *Anabaena circinalis y Microcistinas aeruginosa* (altamente toxicas).

Figura 1

Diagrama simplificado de los factores que determinan las causas de las floraciones cianobacterianas y los efectos de éstas sobre los sistemas acuáticos y su biota



Nota. (Pérez et al., 2008)

2.2.4. Microcistinas

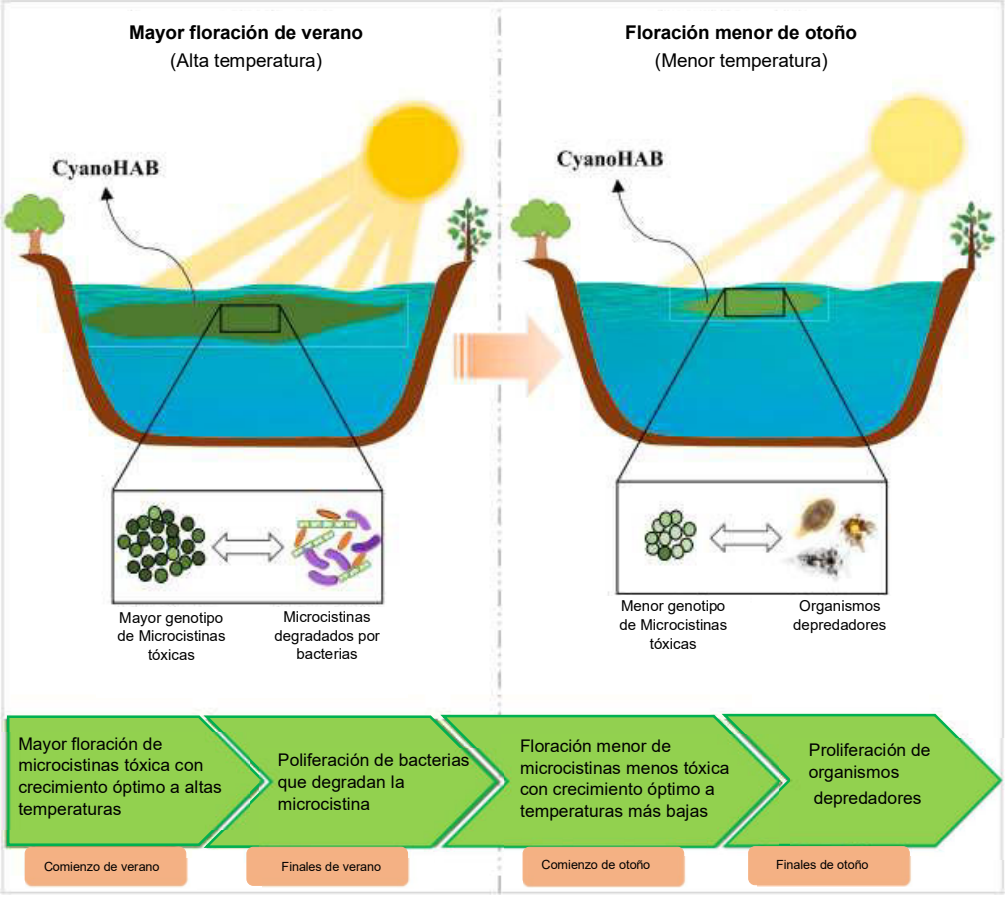
Son hepatotoxinas, hidrosolubles producidas por múltiples géneros incluyendo especies planctónicas y bentónicas por lo que no se sabe la cantidad exacta de variedades existentes; actualmente hay 279 registros (Buratti et al., 2017; Bouaicha, et al., 2019). Una cepa de una especie de cianobacteria puede producir más de una variante a la vez, la más común y letal es la microcistina-LR (Vela et al., 2008; Zaccaroni & Scaravelli, 2008; Buratti, et al., 2017; Silva, et al., 2018).

Su estructura es un ciclo compuesto de: D-alanina, aminoácido variable, ácido metilaspártico (Me-Asp), aminoácido variable, cadena lateral de aminoácidos específica (Adda), Ácido D-glutámico y N-metildehidroalanina (Mdha) (Pérez, 2008).

La microcistina-LR es producida principalmente por microcistinas, una cianobacteria de amplia distribución causante de la mayoría de las floraciones tóxicas alrededor del mundo (Almanza et al., 2016; Mendoza, 2016). Microcistinas forma densas masas macroscópicas en la superficie del agua gracias a sus aerótopos (Martín, et al., 2007; Almanza, et al., 2016). En los seres humanos esta toxina puede causar síntomas como vómito, diarrea, debilidad, dificultad para respirar y temblores musculares (Svrcek & Smith, 2004; Roegner, et al., 2014).

Figura 2

Sucesión estacional de microcistinas productoras de toxinas y su interacción con otros organismos (por ejemplo, bacterias degradadoras de microcistina y depredadores) en aguas dulces eutróficas en diferentes fases de floración



Nota. (Tanvir et al., 2021).

2.2.5. Clorofila

La clorofila es el pigmento de color verde predominante del fitoplancton responsable de determinar la productividad primaria (Munandar et al., 2023) (Inanc, 2011). La clorofila se encuentra en las hojas y tallo, está compuesta por átomos de carbono y nitrógeno junto con un ion de magnesio en posición central (Pareek et al., 2017).

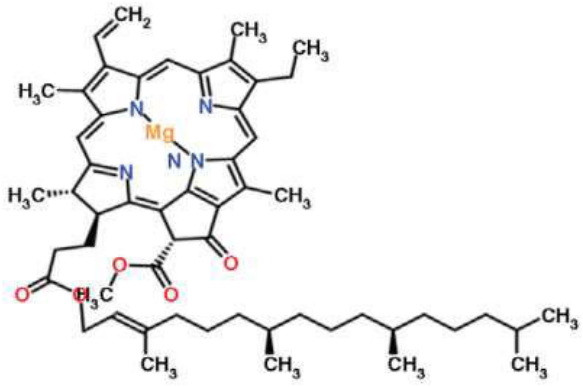
2.2.6. Clorofila – A

La clorofila-A está presente en casi todos los organismos fotosintéticos con plantas, cianobacterias y especies acuáticas (Jordan et al., 2001; Nakamura et al., 2003). La fórmula molecular de la Clorofila-A es

$C_{55}H_{72}MgN_4O_5$. Contiene un anillo de clorina en el que un magnesio está rodeado centralmente por cuatro átomos de nitrógeno (Taiz et al., 2006).

Figura 3

Fórmula molecular de la Clorofila-A



Nota. (Pareek et al., 2017)

2.3. Definición de términos

2.3.1. Floración de algas nocivas (FAN)

Floraciones de algas que producen toxinas o dañan el medio ambiente acuático, unas FAN suponen un riesgo para la salud pública al inducir intoxicaciones paralíticas, amnésicas, diarreicas o neurotóxicas (Heisler et al., 2008; Sellner et al., 2003).

2.3.2. Ficotoxinas de cianobacterias

Más conocidas como toxinas cianobacterianas, llamadas cianotoxinas, son metabolitos secundarios biológicamente activos que se producen durante la formación de fotopigmentos y se acumulan en el citoplasma. Suelen agruparse de diversas formas y dividirse en tres grupos según su efecto sobre los organismos que los consumen. Los que provocan intoxicación letal aguda (neurotoxinas y hepatotoxinas), los que tienen actividad biológica menos letal pero más selectiva (citotoxinas) y los que provocan irritación cutánea o toxicidad cutánea (Carmichael, 1992).

2.3.3. Análisis molecular

Proceso que se aplica para analizar material genético, ADN y de una muestra para detectar diferentes variantes de secuencia del ADN asociadas

a una enfermedad o determinar alguna secuencia de genes homólogos de familias o de diferentes especies (Instituto Nacional de Salud Pública – Gobierno de México, 2010).

2.3.4. Cebadores

Conocido también como primer, es un fragmento corto de ADN que se utiliza en diferentes técnicas de laboratorio como en una reacción en cadena polimerasa (PCR), hace referencia a un número reducido de nucleótidos de ADN (National Human Genome – Research Institute, 2023).

2.3.5. Metagenómica

La metagenómica es un enfoque completamente nuevo para el estudio de las comunidades microbianas y se define como el análisis funcional y la secuenciación de genomas microbianos colectivos en muestras ambientales basados en la expresión o secuenciación, adoptando así la captura de fragmentos de ADN (Rondon et al., 1999; (Handelsman et al., 2002).

2.3.6. Parámetros físico químicos

Son parámetros que nos permiten ver la naturaleza de las especies químicas del agua y características físicas a través de análisis rápidos, la metodología más usada incluye los parámetros Demanda bioquímica de Oxígeno (DBO_5), potencial de hidrógeno (pH), Oxígeno disuelto (OD), nitratos o amonio, fósforo total y sólidos suspendidos totales (SST) (Ruiz, 1991).

2.3.7. Metales pesados

Grupo de elementos metálicos naturales de alto peso molecular y densidad (Tchounwou et al., 2012) que, en concentraciones bajas, ciertos metales pesados, como el hierro, el zinc, el cobre y el manganeso, son esenciales para la supervivencia humana, pero pueden convertirse en agentes tóxicos en concentraciones más altas. Otros metales pesados, como el arsénico, el cadmio, el plomo, el talio y el mercurio, no cumplen ninguna función biológica. Los metales pesados al ser absorbidos por organismos acuáticos y, por lo tanto, la exposición humana puede ocurrir a través de la bioacumulación a lo largo de la cadena alimentaria (Yang et al., 2023) de manera similar a los metales esenciales, inducen toxicidad una vez que se alcanzan concentraciones específicas.

III. Metodología

3.1. Tipo y Nivel de investigación

Tipo básico debido a que el presente trabajo de investigación permitió aclarar fenómenos desconocidos y avanzar en conocimientos (Bentley et al.,2015).

Nivel correlacional debido que es una investigación no experimental y determina el grado de relación entre dos variables (Mejía T., 2017).

3.2. Ámbito temporal y espacial

3.2.1. Temporal

El presente estudio se realizó exclusivamente en temporada de estiaje comprendidos los meses de mayo hasta noviembre, las muestras se tomaron en el mes de julio y agosto del 2023.

3.2.1. Espacial

El trabajo de investigación fue realizado en el embalse hídrico de Pasto Grande, embalse creado en 1998 para mantener la oferta hídrica a toda la población de las ciudades de Moquegua, Ilo y Tambo (Ver Anexo N°03).

3.3. Población y muestra

3.3.1. Población

La población del estudio está conformada por el embalse hídrico de Pasto Grande ubicado en el distrito de Carumas, provincia de Mariscal Nieto, departamento de Moquegua (Ver Anexo 3).

3.3.2. Muestra

La muestra de agua se realizó mediante un muestreo probabilístico aleatorio simple, donde la selección de muestra de los elementos de la población tiene la misma probabilidad de ser elegidos y sea representativa (Ozten et al., 2017). Las muestras se seleccionaron al azar con la finalidad de complementar el total de las muestras que se necesitan.

Toma de muestras. Fueron realizados diez puntos de muestreo debidamente georreferenciados en el embalse Pasto Grande en época de estiaje (julio y agosto) debido que en esa temporada la radiación solar es alta (16 °C a 24°C) ideal para el desarrollo de las cianobacterias, se colectaron tres muestras con repeticiones en cada punto de muestreo para la validez estadística (Ver Tabla 4), totalizando 30 muestras de toda el área de estudio propuesto.

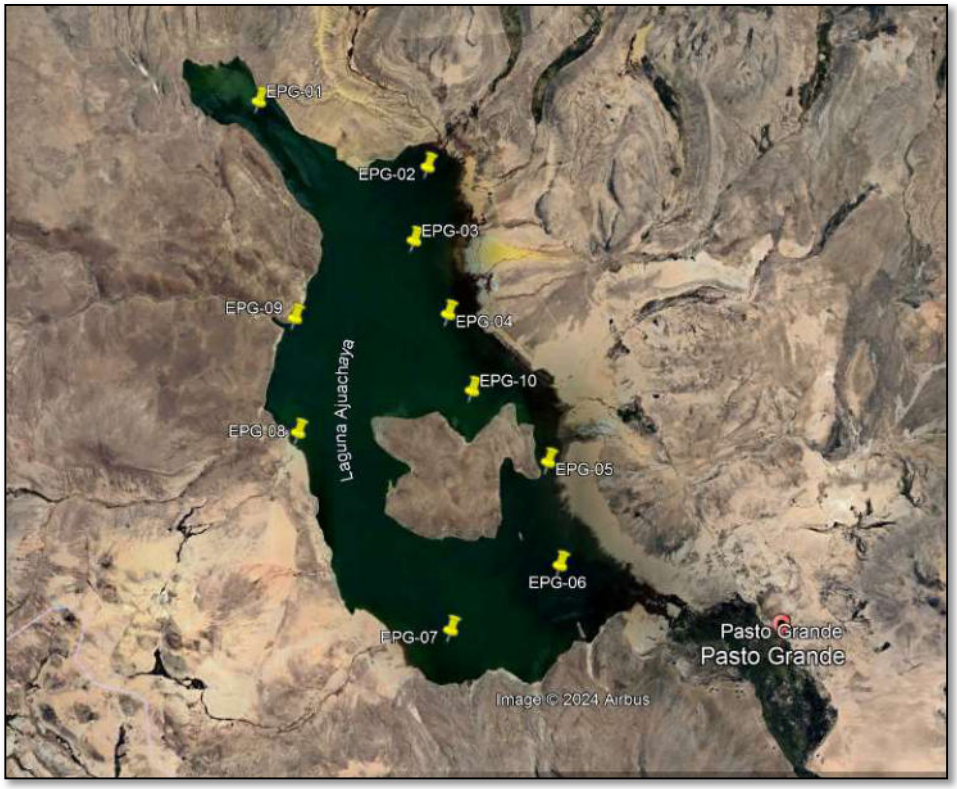
Tabla 4

Coordenadas de las estaciones de muestreo

N°	Estaciones de muestreo	Coordenadas - grados decimales	
		Latitud	Longitud
01	EPG–01	16°41'11.63"S	70°13'52.44"O
02	EPG-02	16°42'57.44"S	70°12'3.37"O
03	EPG-03	16°42'43.51"S	70°12'14.24"O
04	EPG-04	16°44'30.64"S	70°11'53.79"O
05	EPG-05	16°45'5.68"S	70°10'52.56"O
06	EPG-06	16°46'10.20"S	70°10'47.76"O
07	EPG-07	16°46'47.33 "S	70°11'0.58"O
08	EPG-08	16°46'35.38"S	70°12'18.22"O
09	EPG-09	16°43'28.98"S	70°13'34.04"O
10	EPG-10	16°44'19.11"S	70°11'10.23"O

Figura 4

Imagen satelital de la ubicación de los puntos de muestreo



Nota. Google Earth 2024.

Considerando que el agua del embalse Pasto Grande se encuentra en la Categoría 1; poblacional y recreacional, Subcategoría A: Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable, se tomó *In-situ* los parámetros físico químicos (pH, temperatura, conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos, oxígeno disuelto y turbidez) utilizando el equipo multiparámetro portátil calibrado (YSI-Pro Pluss, USA).

Para la toma de muestras de aguas superficiales nos guiamos del Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales (ANA, 2016).

Para la toma de muestra se realizó el siguiente procedimiento:

Muestra físicos químicos (metales pesados). Las muestras de agua superficiales se tomaron a 20 cm de profundidad, se utilizó frascos de plástico estéril de boca ancha y se llenó por completo (ANA, 2016).

Muestra para análisis metagenómico. Las muestras de agua se colectaron en los puntos muestreo determinados (Ver Tabla 4), se colectó 2L de aguas superficiales, se transportó la muestra en un cooler refrigerado a 4°C e inmediatamente en el laboratorio fueron filtradas utilizando membranas de 0.45µm posteriormente se almacenaron las membranas en la ultra congeladora de -86°C (Forero et al., 2021).

Conservación de las muestras en campo. Los envases se almacenaron dentro de cajas térmicas (coolers) a una temperatura de 4°C con ice packs, las muestras se embalaron y se colocaron de forma vertical para evitar roturas y derrames al momento del transporte, se rotularon cada una colocando el código, coordenadas, fecha, hora y lugar (ANA, 2016).

3.4. Instrumentos

3.4.1. Técnicas

Se siguió el protocolo nacional para monitoreo de calidad de recursos hídricos superficiales, las muestras de agua tomadas para la determinación de metales pesados y extracción de ADN se trasladaron al laboratorio de "Biología Molecular y Biotecnología Filial Ilo" de la Universidad Nacional de Moquegua.

3.4.2. Instrumentos

Para realizar las actividades programadas en la presente investigación se necesitó los siguientes materiales de campo, materiales de laboratorio, equipos e insumos químicos que se detallan a continuación:

Tabla 5

Lista de materiales de campo

Cantidad	Descripción
02	Balde de plástico
02	Cooler
30	Botellas de plástico
30	Guantes de nitrilo
01	Traje de agua

Tabla 6

Lista de equipos de laboratorio

Cantidad	Descripción
01	Multiparámetro de campo
01	GPS
01	Cámara fotográfica
02	Dispensador electrónico
01	Campana de flujo laminar
01	Sistema de electroforesis
01	Fotodocumentador
01	Espectrofotómetro
01	Termociclador de gradiente
01	Termociclador de PCR
01	Centrifuga refrigerada
01	Microcentrífuga refrigerada
01	Minicentrífuga refrigerada
01	Vórtex
01	Refrigeradora congeladora
01	Ultra congeladora
01	Máquina de escamas de hielo
01	Autoclave
01	Fluorómetro portátil
01	Agitador con incubación
01	Horno microondas
01	Equipo de Baño María
01	Balanza digital
01	Bomba de vacío
01	Termo de nitrógeno líquido 10 Lt
01	Analizador de metales pesados portátil

Tabla 7

Lista de materiales de laboratorio

Cantidad	Descripción
03	Beaker estéril
02	Matraz de vidrio
03	Pipeta serológica de vidrio
02	Matraz kitazato
02	Embudo buchner de porcelana
07	Tubo falcón 15 y 50 mL
10	Botellas de vidrio color ámbar
02	Tampón de matraz kitazato
03	Pinza de metal
06	Gradilla para tubos
03	Bagueta de vidrio
05	Crioviales
100	Membrana de nitrocelulosa 0.45µm
02	Papel aluminio
01	Parafilm

Tabla 8

Lista de insumos químicos

Cantidad	Descripción
100 mL	Acetona 98%
01 Kit	Kit de extracción de ADN WIZARD HMW
500 mL	Tris - EDTA 100x pH 8.0, grado Biología Molecular

3.5. Procedimientos

3.5.1. Técnicas de filtración

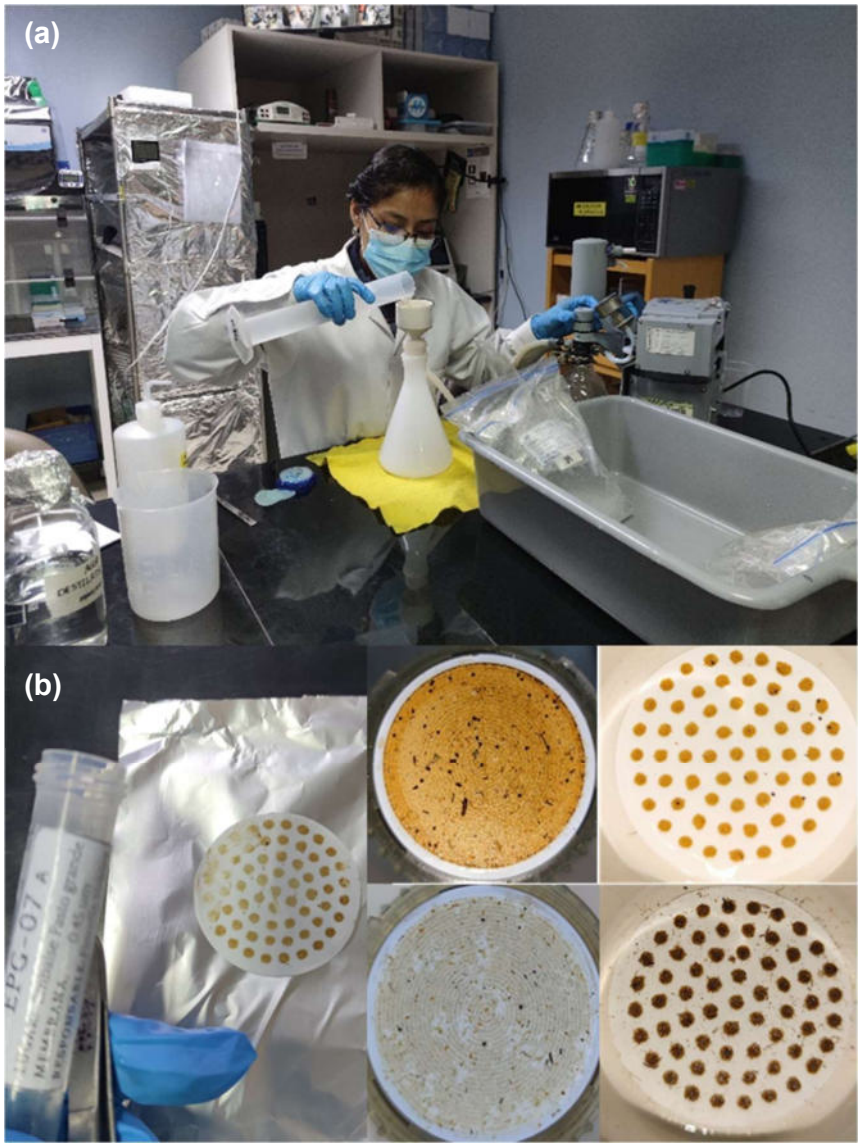
Método de filtración de agua por membranas de nitrocelulosa. Como indica Mulvany, 1969, en el equipo bomba de vacío (VACUUMBRAND, MZ 2C NT+AK+EK, Germany) se colocó asépticamente un filtro blanco estéril de 0.45 µm de 47 mm de diámetro (Millipore), con la rejilla hacia arriba en un porta filtros estéril.

- Se vertió la muestra de agua (730 mL) en el embudo y se aplicó al vacío para iniciar la filtración.
- Se enjuagó las paredes del embudo con 20 mL de la muestra de agua.

- Se retiró el embudo y se transfirió el filtro asépticamente a un tubo (Falcón) de 50 mL y se guardó a -86 °C en una ultra congeladora hasta su utilización para la extracción del ADN metagenómico.

Figura 5

Filtración de muestras de agua del embalse Pasto Grande por membranas de nitrocelulosa 0.45 µm

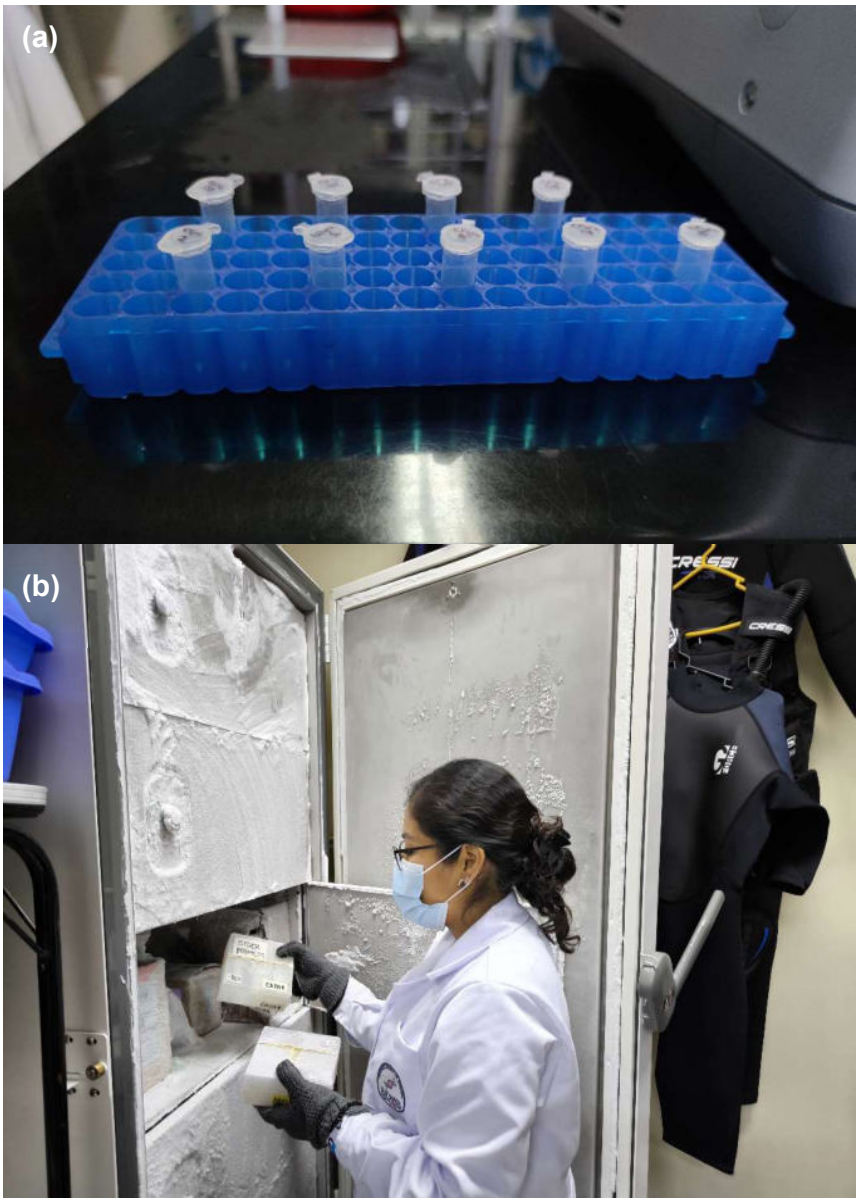


Nota: (a) Proceso de filtración por membranas con bomba de vacío

(b) Membranas filtradas con 750 mL de agua del embalse Pasto Grande (diversos puntos de muestreo)

Figura 6

Almacenamiento de membranas de nitrocelulosa de 0.45 µm conteniendo el material microalgal



Nota: (a) Muestras material microalgal

(b) Almacenamiento en la Ultracongeladora -86°C

3.5.2. Técnicas moleculares.

Extracción de ADN metagenómico. Fue realizado según la metodología de Hept & Greene, 2023 , para la extracción de ADN metagenómico se utilizó el Kit comercial de extracción de ADN de alto peso molecular Kit Wizard – PROMEGA (Purify High-Molecular -Weight DNA for Long-Red Sequencing-Catalogo N°A2920) y se siguió el protocolo del fabricante a continuación, se describe:

Previamente se extrajo el pellet de dos muestras de membrana filtrada (750 mL cada una), se colocó en un tubo falcón de 15 mL y se adicionó 4 mL de solución buffer Tris - EDTA pH 8.0, grado Biología Molecular (Sigma Aldrich, Código 93283, Alemania), los tubos se llevaron al vórtex por 3 min con la finalidad que el material de la membrana se desprenda, posteriormente con unas pinzas esterilizadas se retiró la membrana y se desechó. De los tubos falcón se extrajo con ayuda de una micropipeta 1.5 mL de la muestra tomando el sobrenadante y se colocó en un tubo de 2.0 mL y se llevó a la microcentrífuga por 2 min a 13 000 rpm a 17°C, al culminar el proceso se desechó el líquido con cuidado para que no se desprenda el sedimento de ADN, el mismo proceso se realizó hasta culminar toda la muestra obtenida.

- Se colocó el pellet en un tubo de microcentrífuga y se agregó 500µl de tampón de lisis A HMW, se agitó usando vórtex durante 1-5 segundos para humedecer el pellet.
- Se incubó a 65°C durante 15-30 minutos, posteriormente se enfrió el lisado a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se añadió 3µl de solución de RNasa A a la muestra y se mezcló invirtiendo el tubo 5-7 veces. Se llevó a incubar la mezcla a 37°C durante 15 minutos.
- Se añadió 20µl de solución de proteinasa K a cada muestra y se mezcló invirtiendo el tubo 10 veces. Se llevó a incubar la mezcla a 56°C durante 15 minutos y se enfrió a temperatura ambiente durante al menos 5 minutos o enfriar en hielo 1 minuto.
- Se llevó a centrifugar a 13.000-16.000 × g durante 3 minutos a temperatura ambiente para precipitar cualquier material insoluble. Se transfirió el lisado a un tubo de microcentrífuga limpio de 1,5 mL.
- Se añadió 200µl de solución de precipitación de proteínas al lisado nuclear. Con puntas de pipeta de 1.000 µl se mezcló la solución cinco veces. Posteriormente se puedo visualizar pequeños grumos de proteína. Se incubó en hielo durante 5 minutos.

- Se centrifugó a 13.000-16.000 × g durante 10 minutos a temperatura ambiente. Debe verse un precipitado verdoso. Si se observaba restos sin granular, se tenía que repetir el paso de centrifugación.
- Después se transfirió lentamente el sobrenadante a un tubo de microcentrífuga limpio de 1,5 mL decantando la muestra en un tubo que contenga 600 µl de solución a temperatura ambiente.

  Nota: Puede quedar algo de sobrenadante en el tubo original que contiene el precipitado de proteínas. Se dejó el líquido residual en el tubo para evitar contaminar la solución de ADN con la proteína precipitada.
- Se mezcló suavemente la solución invirtiendo el tubo ocho veces, después se lo llevó a incubar durante 1 minuto a temperatura ambiente y se repitió la inversión. Las hebras blancas de ADN pueden formar una masa visible.
- Se llevó a centrifugar a 13.000-16.000 × g durante 2 minutos a temperatura ambiente. El ADN puede ser visible como un pequeño precipitado blanco, el sobrenadante se decantó y se añadió 600µl de etanol al 70% a temperatura ambiente al ADN. Se invirtió suavemente el tubo varias para lavar el precipitado de ADN y las paredes del tubo de microcentrífuga. Centrifugar como se indica en el paso anterior.
- Se desechó el sobrenadante y repetir el paso anterior.
- Después se aspiró cuidadosamente el etanol. El pellet de ADN está muy suelto en este punto, por lo que se evitó perturbar o aspirar el pellet en la pipeta.
- Se dejo el tubo invertido sobre papel absorbente limpio y seque el pellet al aire durante 10-15 minutos.
- Posteriormente se añadió 100µl de solución de rehidratación de ADN al tubo. No se debe agitar en vórtex porque se produciría un cizallamiento mecánico y disminuiría el tamaño medio de los fragmentos. Se rehidrató el ADN incubando la solución durante toda la noche a temperatura ambiente (Ver figura 6).

  Nota. Si el ADN no parece homogéneo (por ejemplo, todavía se ve el precipitado no disuelto), mézclelo con puntas de pipeta de 200 µl de diámetro ancho.
- Al finalizar el ADN se almacenar a 2-8°C.

La concentración y pureza del ADN extraído fué evaluado mediante el espectrofotómetro Nano Drop OneC (ThermoScientific, USA) y el fluorímetro Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific). La calidad de las extracciones de ADN se verificó mediante la técnica de electroforesis en geles de agarosa al 1.0% teñidos con bromuro de etidio (EtBr) (10 mg/mL) y se visualizó en un fotodocumentador (Bio-Rad – GelDoc Go Imaging System, USA) (Sambrook y Russell, 2001) (Ver figura 7 y 8).

Figura 7

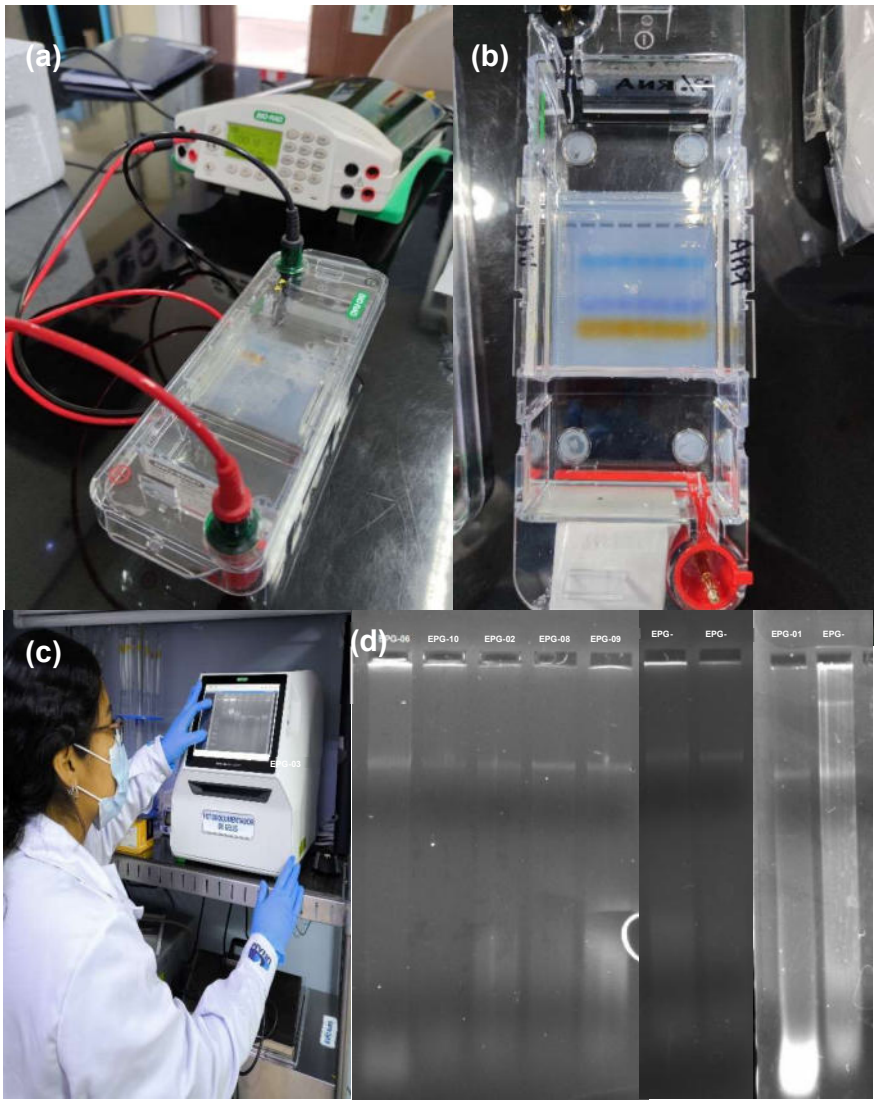
Extracción de ADN metagenómico con el Kit Promega



Nota: (a) Proceso de extracción de ADN metagenómico a partir de las membranas de nitrocelulosa

Figura 8

Análisis y visualización del ADN metagenómico mediante electroforesis y fotodocumentación



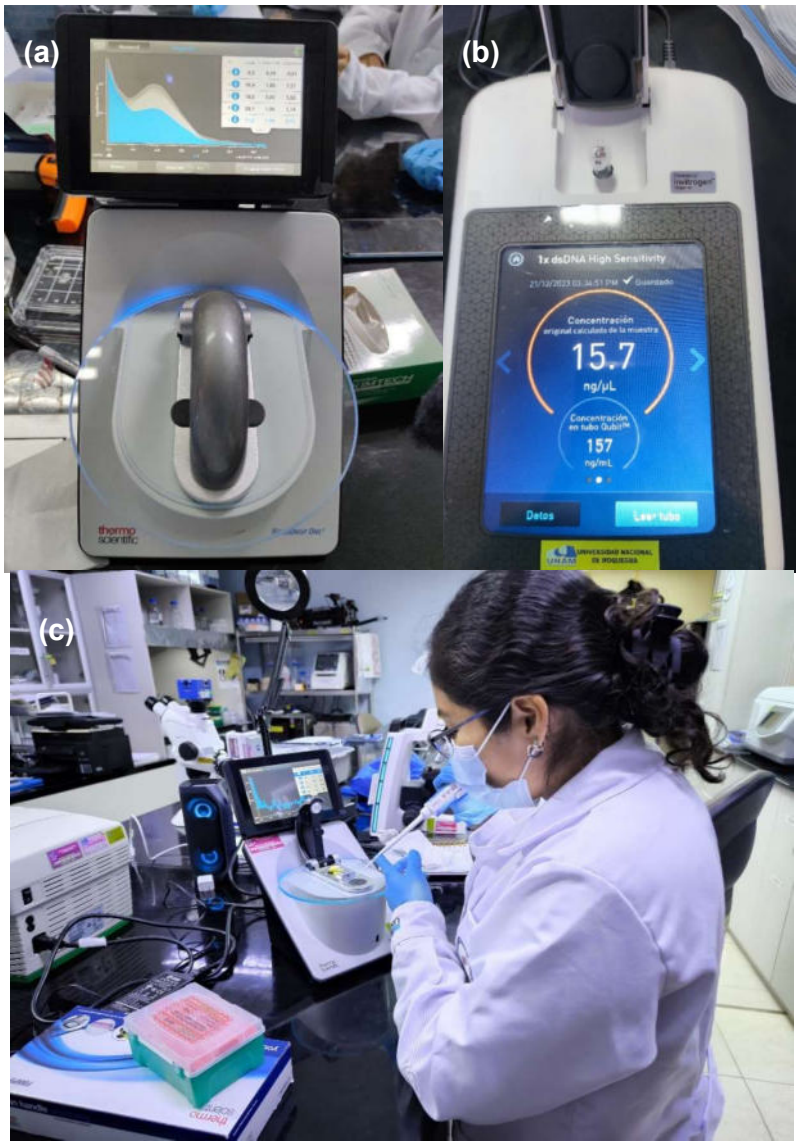
Nota: (a) y (b) Sistema de Electroforesis en gel de agarosa al 1%, muestras de ADN metagenómico

(c) Análisis del gel de agarosa en el fotodocumentador

(d) Imagen del gel con las respectivas muestras del ADN metagenómico.

Figura 9

Cuantificación y evaluación de la pureza del ADN metagenómico



Nota: (a) Utilización del Espectrofotómetro- Nanodrop OneC
(b) Utilización del fluorómetro Qubit 4
(c) Utilización de los equipos para la cuantificación y verificación de la calidad del ADN metagenómico

Preparación de bibliotecas y secuenciación. El ADN extraído para la secuenciación fueron preparadas según los protocolos de las biblioteca de secuenciación metgenómica 16S de Illumina MiSeq™/HiSeq™ (San Diego, CA, EE.UU). Se realizó una PCR dirigida a la región V3-V4 del gen 16S de las bacterias para cada muestra. Los cebadores utilizados fueron 341F (5′-CCTACGGGNGGCWGCAG-3′) y 805R (5′-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3′). La calidad e integridad del ADN se midió con el fluorómetro portátil Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific).

Análisis bioinformático. Las secuencias de ADN generadas fueron comparadas con las bases de datos:

- Datos Ribosomal Database Project (RDP) 16S: http://rdp.cme.msu.edu/misc/resources.jsp
- SILVA ribosomal RNA database 16S: biblioteca por defecto, https://www.arb-silva.de/
- Base de datos 16S National Center for Biotechnology Information (NCBI): http://ncbi.nlm.nih.gov/
- Genome Taxonomy Database (GTDB): base de datos por defecto de longitud completa https://gtdb.eco genomic.org/

Se procesaron utilizando los siguientes programas bioinformáticos:

Tabla 9

Programas informáticos utilizados en la secuenciación de ADNmg

Software	R Package	Versión	Autores
Cutadapt 1.18	Vegan	2.5-6	Martin, 2011
PEAR 0.9.8	Ggraph	2.0.0	-
PRINSEQ 0.20.4	Phyloseq	1.30.0	Schmieder et al., 2011
Usearch 11.0.667	Gplots	3.0.1.1	Lund et al., 2022
RDP classifier 2.12	Ape	5.3	Guo et al., 2013
NCBI Blast 2.10.0	mixOmics	6.10.6	Dash etal., 2021
Mothur 1.43.0	Ade4	1.7-13	Marizzoni et al., 2020
Muscle 3.8.31	Cluster	2.1	-
MAFFT 7.45	clusterSim	0.48-3	Kolb et al., 2024
BMGE 1.12	VennDiagram	1.6.20	Desingu et al., 2023
Fasttree 2.17	UpSetR	1.4.0	Chin et al., 2024
Krona 2.7.1	Circlize	0.4.8	Lv et al., 2022

ETE3 3.1.1	Ggtern	3.1.0	Cohelo et al., 2022
GraPhlAn 1.1.3	metagenomeSeq	1.28.0	Lê Cao et al., 2016
STAMP 2.1.3	DESeq2	1.26.0	Wang et al., 2022
LEfSe 1.1.0	randomForest	< 4.6 - 14	Gomez et al., 2017
SparCC 1.0.0	pROC	1.15.3	-
PICRUSt2 2.5.2	Corrplot	0.84	Kayongo et al., 2023
BugBase 0.10.0	Dada2	1.14.0	Cao et al., 2021
FAPROTAX 1.2.1			Cheng et al., 2024
FUNGuild 1			Tanunchai et al., 2023

Datos de secuencias originales. Los archivos de datos de imágenes originales obtenidos por Illumina MiSeq™/HiSeq™ se convirtieron en secuencias de lectura originales (Sequenced Reads) a través de un análisis de reconocimiento de bases (Base Calling). Los Datos Crudos (Raw Data) o Lecturas Crudas (Raw Reads) se almacenaron en formato FASTQ, que incluye información de la secuencia de las lecturas (reads) y la información de calidad de secuenciación.

Los archivos en formato FASTQ describen cada lectura (read) en cuatro líneas, como se muestra a continuación:

@MISEQ03:113:000000000-AFJGE:1:1101:12409:1286 1:N:0:TCTACA

NAAGAACACGTTCGGTCACCTCAGCACACTTGTGAATGTCATGGGATC

CAT

+

#55???BBBBB?BA@DEEFFCFFHHFFCFFHHHHHHHHFAE0ECFFD/AEHH

La primera línea comienza con “@”, seguida del identificador de secuenciación de Illumina (Sequence Identifiers) y texto descriptivo (opcional); la segunda línea representa la secuencia de bases; la tercera línea comienza con “+”, seguida nuevamente por el identificador de secuenciación de Illumina (opcional); y la cuarta línea representa la calidad de secuenciación de las bases correspondientes, donde el valor ASCII de cada carácter en esta línea menos 33 corresponde al valor de calidad de

secuenciación de la base en la segunda línea.

Para más detalles sobre el identificador de secuenciación de Illumina, ver la siguiente tabla:

Tabla 10

Detalles del identificador de secuenciación Illumina

MISEQ03	Instrumento – identificador único del secuenciador
113	Número de corrida – número de corrida en el instrumento
000000000AF-JGE	FlowCell ID -ID del flowcell
1	LaneNumber – Número entero positive
1101	TileNumber – Número entero positive
12409	X – Coordenada x del punto. Entero que puede ser negativo
1286	Y – Coordenada y del punto. Entero que puede ser negativo
0	Número de control – 0 cuando ninguno de los bits de control está activado, de lo contrario, es un número par
TCTACA	Secuencias de índice de Illumina

Los valores de calidad de secuenciación de bases de MiSeq™/HiSeq™ (Phred quality score, Qphred) son una representación entera de las probabilidades de error en la secuenciación de bases (probabilidades de error en la identificación de bases, P), con la relación de mapeo siendo: Qphred = -10log10(P).

Las puntuaciones de calidad Phred están vinculadas logarítmicamente a las probabilidades de error:

Tabla 11

Puntuaciones de calidad Phred

Puntuación de Calidad Phred	Probabilidad de llamada incorrecta de Base	Exactitud de la llamada de Base
10	1 en 10	90%
20	1 en 100	99%
30	1 en 1000	99.9%
40	1 en 10000	99.99%

Preprocesamiento de datos

Los datos de secuenciación obtenidos son secuencias de doble extremo, y las secuencias contienen secuencias de código de barras, además de los cebadores y secuencias de adaptadores añadidos durante la secuenciación. Primero, se elimina las secuencias de cebadores y adaptadores, luego, basándose en la relación de solapamiento entre los PE reads (lecturas de extremo emparejado), se unen (merge) los reads emparejados en una sola secuencia. Después, se identifican y separan las muestras según las secuencias de etiquetas de código de barras para obtener los datos de cada muestra, y finalmente, se realiza un control de calidad y filtrado de los datos de cada muestra para obtener datos válidos de cada muestra.

Métodos y parámetros de optimización de datos:

- Utilizar cutadapt para eliminar los adaptadores de secuenciación de 3' de Read1 AGATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCA y de Read2 AGATCGGAAGAGCGTCGTGTAGGGAAAGAGTGT;
- Utilizar PEAR para unir (merge) los reads emparejados en una sola secuencia, basándose en la relación de solapamiento entre los PE reads;
- Separar los datos de cada muestra a partir de los datos unidos, según las secuencias de código de barras y de cebadores de cada muestra, y corregir la orientación de las secuencias;
- Utilizar PRINSEQ para recortar las bases en el extremo de los reads con valores de calidad inferiores a 20, estableciendo una ventana de 10bp. Si el valor de calidad promedio dentro de la ventana es inferior a 20, se recorta la base del extremo comenzando desde la ventana, filtrando secuencias que contienen N y secuencias cortas, y finalmente eliminando secuencias de baja complejidad.

3.5.3. Técnicas fisiológicas

Determinación de clorofila-A. Para medición de la Clorofila-A se empleó el equipo Espectrofotómetro Nano Drop OneC (Thermo Scientific, USA) aplicando el procedimiento de Murakami et al., 2021, que se detalla a continuación:

Se tomó dos membranas de 0.45µm filtradas con 500mL de muestra de agua, se colocó en el tubo falcón de 15 mL y se adicionó 6 mL de acetona al 99.9% de pureza en el tubo y se lo llevó al vórtex por 1 min a 3 000 rpm.

Posteriormente se cubrió el tubo con papel aluminio para que la luz no degrade la clorofila presente en la muestra y se almacenó en la refrigeradora a 15°C por un tiempo no menor de 2 horas y no mayor de 24 horas.

Previamente a realizar la lectura con el Espectrofotómetro se realizó una prueba con Clorofila-A (Sigma-Aldrich, C5753) y se disolvió en Acetona al 99%.

Para empezar a hacer la lectura se realizó la prueba del "blanco" que contenía acetona al 99% en una cubeta de 1 cm. Posteriormente se procedió a realizar las lecturas por cada punto y para tener veracidad en los resultados se hizo pruebas por triplicado, se usó el software Nanodrop One V2.10.0. (Ver figura 10).

La concentración de Chl-A se calculó usando la siguiente fórmula.

$$Ch\ a\ \left(\frac{\mu g}{ml}\right) = 12.25\ x\ A^{\ 663.6}\ - 2.55\ x\ A^{\ 646.6}$$

Nguyen et al., 2021

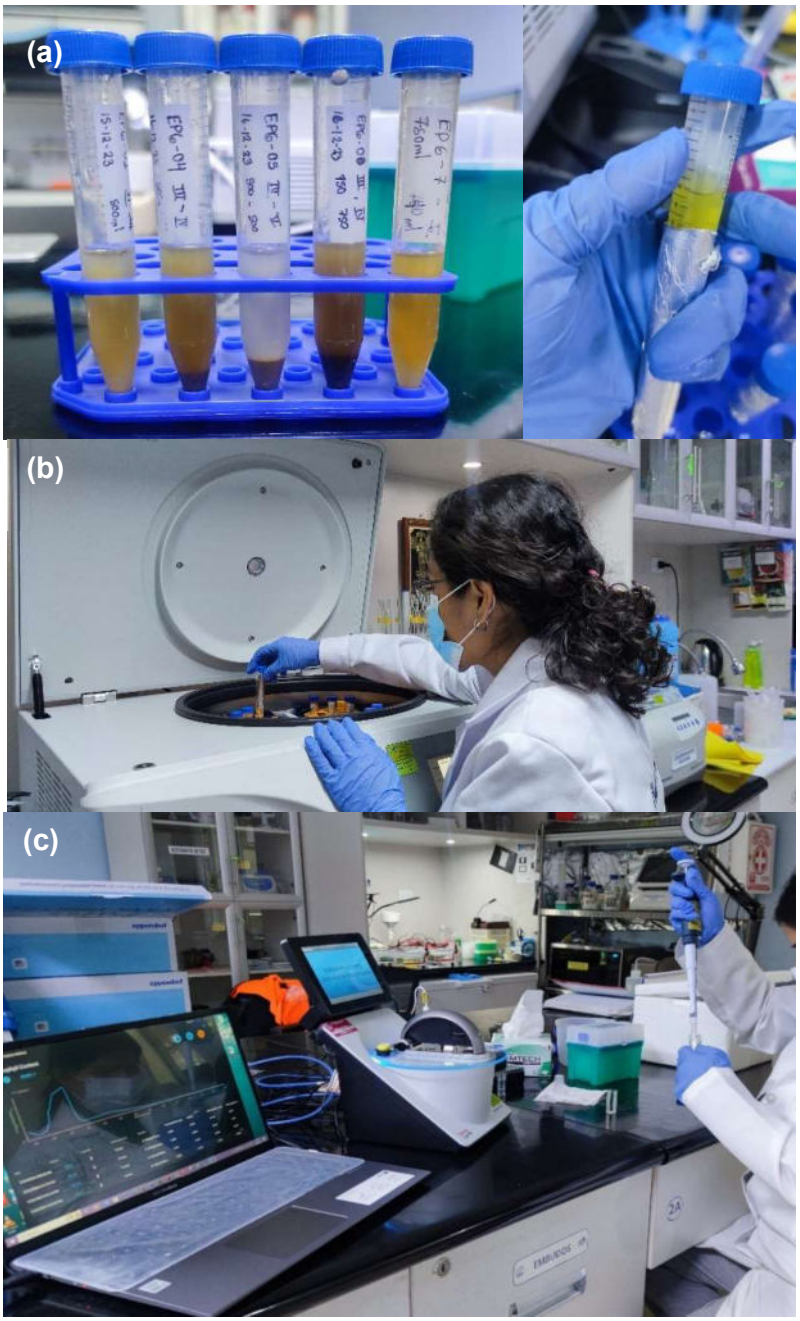
Dónde:

Ch a: clorofila-A

A : absorbancia

Figura 10

Cuantificación de Clorofila-A total de muestras de agua del embalse Pasto Grande



Nota: (a) Tubos falcón de 15 mL conteniendo membranas con Acetona al 99.99%

(b) Centrifugación de las muestras a temperatura ambiente

(c) Medición de la concentración de Clorofila-A con el espectrofotómetro Nanodrop One^{C} utilizando el NanoDrop OneC software

Determinación de metales pesados. Se aplicó la metodología según Tchigossou et al., (2017), para la determinación de la concentración de metales pesados de cada punto de muestreo se utilizó el equipo portátil Analizador de metales pesados de agua (Metalyzer field Pro HM3000 - Trace$_2$o - Reino Unido) debido que es un equipo que está siendo utilizado por el Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental (OEFA), siguiendo el protocolo del fabricante (Ver Anexo 9), este equipo determinó la concentración de los metales As, Hg, Mn, Ni, Cd, Cu, Se, Pb, Zn y Cr, los datos obtenidos fueron procesados con el Software especializado Trace$_2$o Metaware (V5).

Las muestras se procesaron y analizaron en el laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología de la Universidad Nacional de Moquegua – filial Ilo (Ver figura 11), los resultados que se obtuvo son preliminares con la finalidad que posteriormente se pueda realizar el análisis de metales pesados en laboratorios acreditados.

Tabla 12

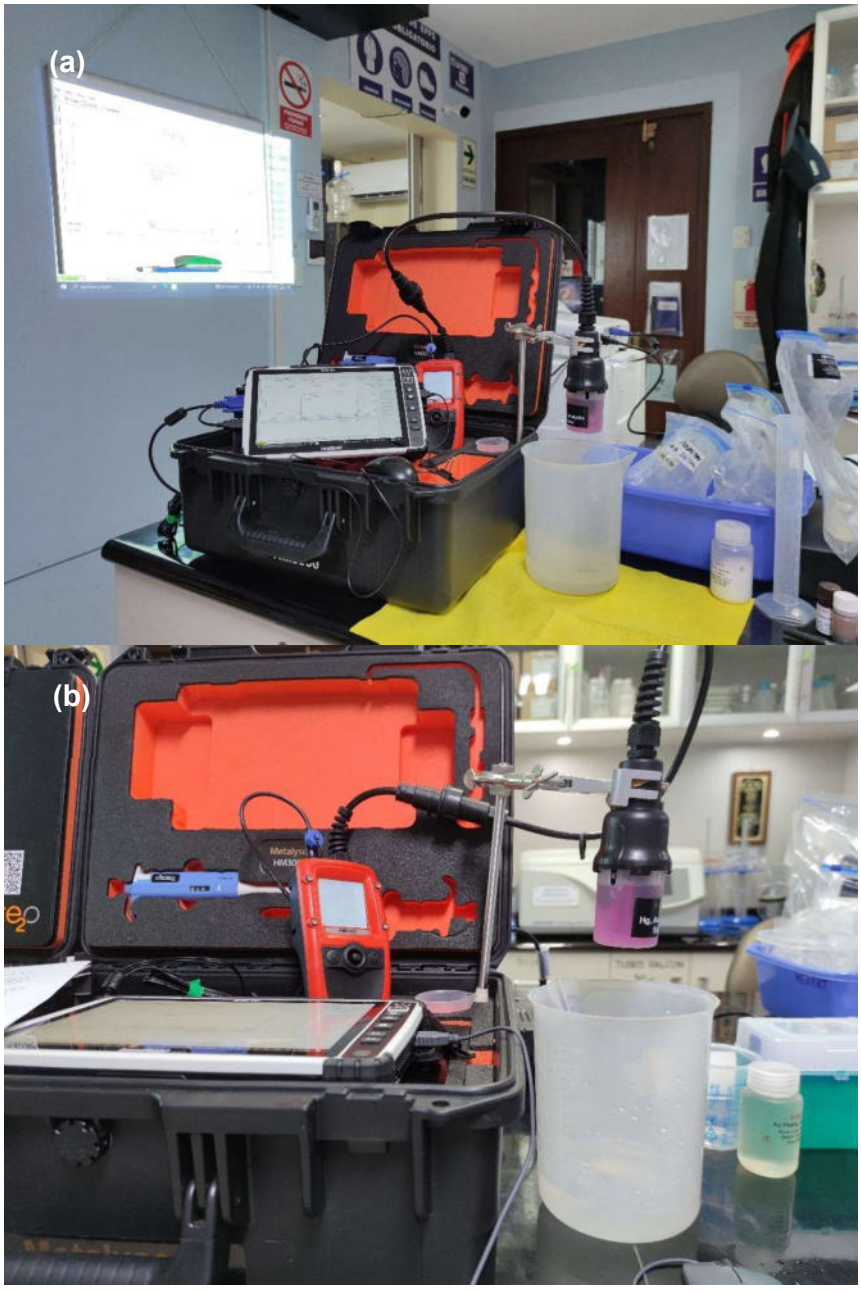
Electrodos para determinación de metales pesados

Elementos analizados	**Electrodo de trabajo**	**Solución de revestimiento**
Cd, Pb,Cu, Zn	WE1	HG500
Hg, As	WE2	AU500
Mn, Se	WE1 (Mn)	HG1000
Ni, Cr	WE3	-

Nota**.** Manual Metalyzer Field Pro HM3000 (Trace$_2$o, n.d.)

Figura 11

Determinación y cuantificación de metales pesados utilizando el equipo portátil Metalyzer HM3000



3.6. Análisis de datos

Se utilizó el Software *Primer-e v6* para determinar los índices de diversidad ecológica, siendo: Análisis del índice de Shannon – Weaver y Análisis de diversidad de Simpson (D) como también para determinar la Correlación de

Spearman entre los las variables de Clororfila-A y los taxones relacionados a cianotoxinas, debido a que permite realizar un análisis multivariado con los datos ecológicos y ambientales (Clarke & Gorley, 2015).

También se empleó el Software *R-Studio v4.3.3* para desarrollar el Análisis de Correlación Canónica (CCA) entre las variables ambientales de metales pesados y la presencia de cianobacterias con la finalidad de verificar estadísticamente si existe correlación positiva o negativa (Luo et al.,2014).

Índice de Simpson. Para el análisis de diversidad de Simpson (D) se emplearon los datos metagenómicos para medir la probabilidad de taxones del grupo de cianobacterias. Se calculó resolviendo la ecuación:

$$D = \sum_{i=1}^{S} p_i^2 \qquad\qquad D = \frac{\sum n\,(n-1)}{N(N-1)}$$

Dónde:

D: índice de Simpson

Pi: abundancia proporcional de la especie "i"

i: especie

n: número total de organismos de una especie

N: número total de organismos de todas las especies

Índice de Shannon. Para el análisis del índice de Shannon - Weaver (Shannon 1948) se utilizó los datos metagenómicos para cuantificar la diversidad y la riqueza de especies de cianobacterias, se calculó resolviendo la ecuación:

$$H = \sum_{i=1}^{S} pi \ln pi$$

Donde:

H: Índice de Shannon-Wiener

S: número de especies (riqueza de especies)

pi: proporción de individuos de la especie i

Ln: logaritmo natural

IV. Resultados y discusión

4.1. Resultados

4.1.1. Comparación de taxones de cianobacterias y su relación con la presencia de metales pesados (Cd, Pb, Cu y As).

Para saber si las variables ambientales presentan una asociación con las microalgas pertenecientes al grupo taxonómico de cianobacterias productoras de cianotoxinas se aplicó en el modelo estadístico denominado Análisis de Correspondencia Canónica (CCA), procesado por el Software estadístico R Studio 4.4.2 obteniendo el siguiente resultado:

Figura 12

Análisis de Correspondencia Canónica (CCA)



Los puntos azules representan las especies de cianobacterias encontradas en el análisis de secuenciación por Illunima, mientras que las flechas rojas representan los metales pesados cadmio (Cd), plomo (Pb), cobre (Cu) y arsénico (As). Asimismo, los puntos (especies) más cercanos a la dirección de una flecha tienden a estar más asociadas con esa variable.

Las microalgas *Cyanobacteriia* sp.*, Chamaesiphon PCC-7430* sp.*, unclassified Cyanobacteriia y la unclassified Tychonema CCAP 1459-11B* estuvieron asociadas a la presencia de arsénico (As) y cadmio (Cd), en el caso de *unclassified Tychonema CCAP 1459-11B* estuvo asociada con plomo (Pb), mientras que *Pseudanabaena PCC-7429* sp. estuvo asociada con el cobre (Cu) (Ver figura 12).

Así mismo, se observó de manera dispersa y alejada la presencia de *SepB-3* sp.*, unclassified Cyanobacteriia, Pseudanabaenaceae* sp.*, Scytonema UTEX 2349* sp.*, Tychonema CCAP 1459-11B* sp.*, Calothrix KVSF5* sp., *Tychonema bourrellyi CCAP 1459-11B, unclassified Microcystaceae, Tychonema tenue CCAP 1459-11B, Chamaesiphon PCC-7430* sp.*, unclassified Cyanobacteriales, unclassified Nostocaceae, unclassified Gloeobacter PCC-7421, unclassified Pseudanabaena PCC-7429, Snowella rosea 0TU37S04, Chamaesiphon subglobosus PCC-7430 y unclassified Nostoc PCC-73102* no mostraron relación con los metales pesados.

Tabla 13

Resultados del Análisis de Componentes Canónicos (CCA)

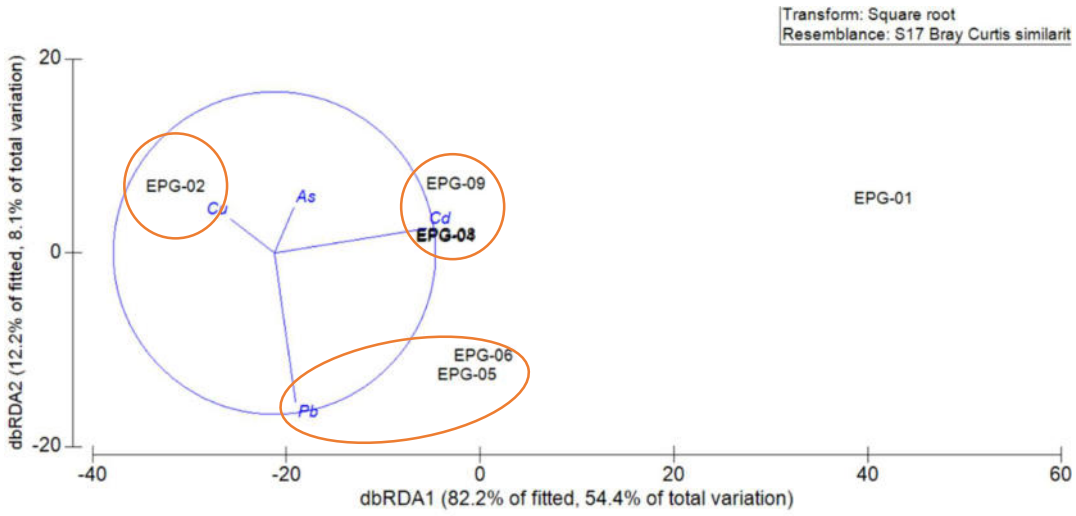
	CCA1	CCA2	CCA3	CCA4
Valor propio	0.17	0.09	0.08	0.07
Proporción explicada	0.41	0.21	0.20	0.18
Proporción acumulada	0.41	0.62	0.82	1.00

La tabla presenta los valores de los Vectores, que representan la cantidad de varianza explicada por cada eje en un Análisis de Correspondencia Canónica (CCA), así como la proporción de varianza explicada y acumulada por estos ejes. El primer eje (CCA1) es el más significativo, explicando el 41% de la varianza total, indicando que es el principal factor en la variabilidad de los datos. El segundo eje (CCA2) explica un adicional del 21%, lo que lleva la proporción acumulada de varianza explicada al 62%.

4.1.2. Análisis de Redundancia (RDA) entre estaciones de muestreo y variables ambientales

Figura 13

Análisis de Redundancia (RDA)



Este análisis indica que el 82.2% presentó una variación ajustada en el eje X y el 12.2% de la variación ajustada en el eje Y.

En el círculo (azul) se observa las variables cobre (Cu), arsénico (As), cadmio (Cd) y plomo (Pb).

Las estaciones de muestreo con mayor asociación a las variables ambientales fueron las siguientes:

Los puntos de muestreo EPG-08 y EPG-09 situados por la bocatoma del embalse están influenciadas por el metal pesado cadmio (Cd). EPG-06 y EPG-05 ubicados por los tributarios Patara y Tocco estan distantes al metal pesado plomo (Pb), mientras que EPG-02 situado cerca al afluente Millojahuira está más asociada a cobre (Cu).

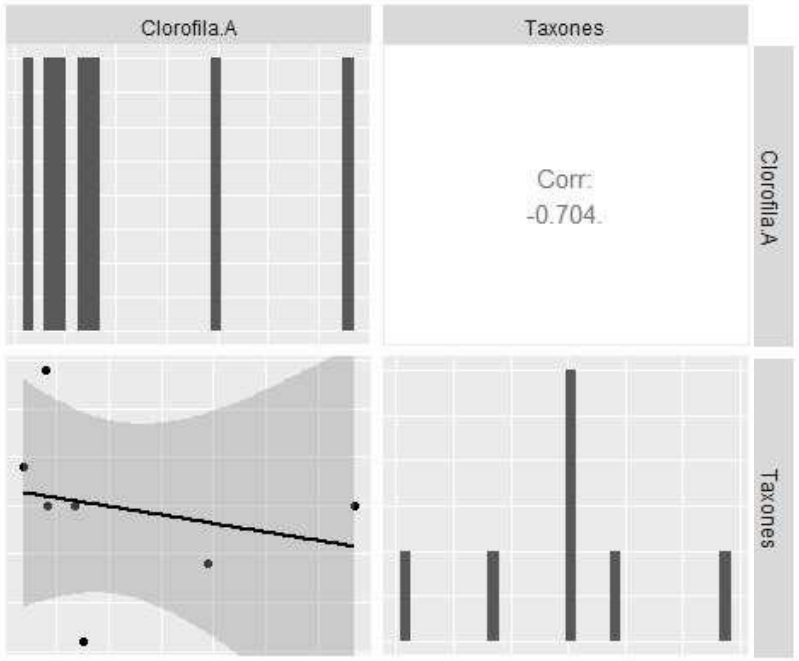
La estación EPG-01 ubicado en la parte Norte del embalse está claramente separada del resto de estaciones, lo que sugiere que tiene una composición muy diferente que no están bien explicada por las variables cobre (Cu), arsénico (As), cadmio (Cd) y plomo (Pb) Relación de la concentración de Clorofila-A y los taxones de cianobacterias con grado de toxicidad

4.1.3. Relación de la concentración de clorofila-A y los taxones de cianobacterias con grado de toxicidad

Para verificar si las variables biológicas presentan una asociación entre sí, se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman "r_s" debido a que los datos obtenidos durante la etapa de muestreo no mostraron una distribución normal razón por la cual se obtuvo los resultados que se detalla a continuación:

Figura 14

Análisis de Correlación Spearman para clorofila-A y taxones de cianobacterias



Histogramas representados en color gris donde se observa la distribución de cada variable y su dispersión. Las celdas con números representan la correlación entre dos variables la cual varía entre -1 y 1. Un valor cercano a 1 indica una correlación positiva fuerte, un valor próximo a -1 es una correlación negativa fuerte y cercano a 0 indica que no hay correlación lineal.

El coeficiente de correlación fue -0.704, indicando una correlación negativa moderada a fuerte entre la clorofila-A y los taxones de cianobacterias que producen cianotoxinas. Esto significa que, a medida que los niveles de clorofila-A aumentan, los taxones de cianobacterias productores de cianotoxinas tienden a disminuir, y viceversa.

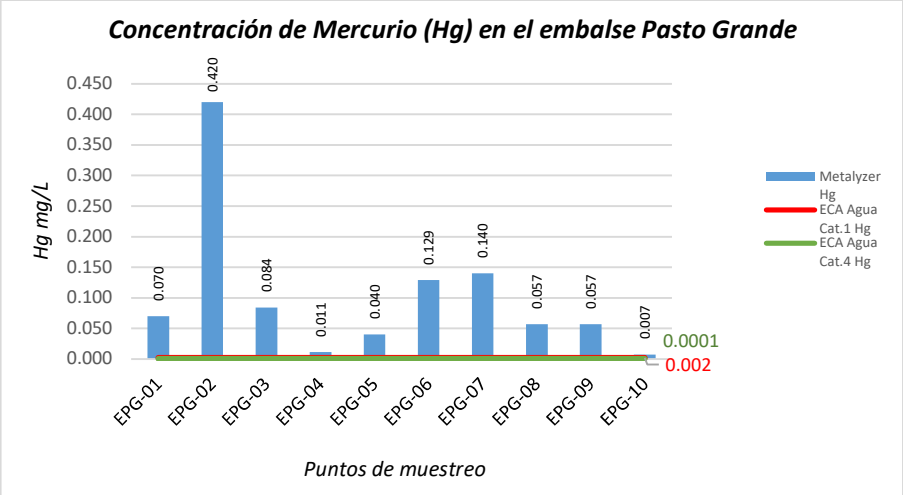
En términos ecológicos, la clorofila-A es un indicador de la presencia de fitoplancton (incluyendo cianobacterias) según García et al. (2024) señalaron que una correlación negativa sugiere que cuando otras formas de fitoplancton (no productoras de toxinas) son más abundantes, las cianobacterias tóxicas son menos predominantes. Este resultado podría reflejar una competencia entre diferentes tipos de organismos fotosintéticos en el ecosistema, donde el aumento de fitoplancton benigno podría estar limitando el crecimiento de las cianobacterias tóxicas, tal como lo manifestaron Sóndergaard et al. (2011).

4.1.4. Comparación de la concentración de metales pesados y ECA-Agua para Categoría 1 y 4

Los niveles de concentración de metales pesados (Ver tabla 18) fueron comparados con los valores del ECA para agua D.S. N°004-2017-MINAM.

Figura 15

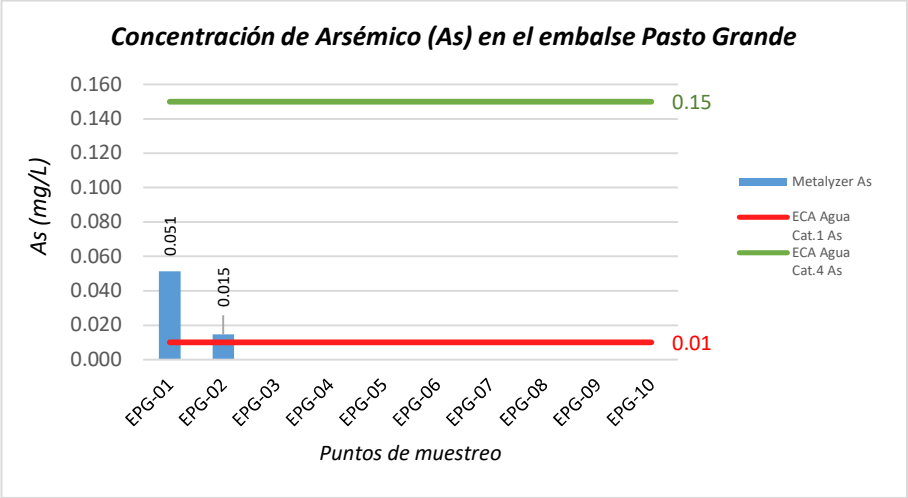
Concentración de Mercurio (Hg) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4



La concentración de mercurio (Hg) en el embalse Pasto Grande superó la máxima concentración establecida en los Estándares de Calidad Ambiental para la Categoría 1 – Poblacional y Recreacional “Aguas que se pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional” (0.002 mg/L) y Categoría 4 Conservación del ambiente acuático – Sub Categoría E1: Lagunas y lagos (0.0001 mg/L).

Figura 16

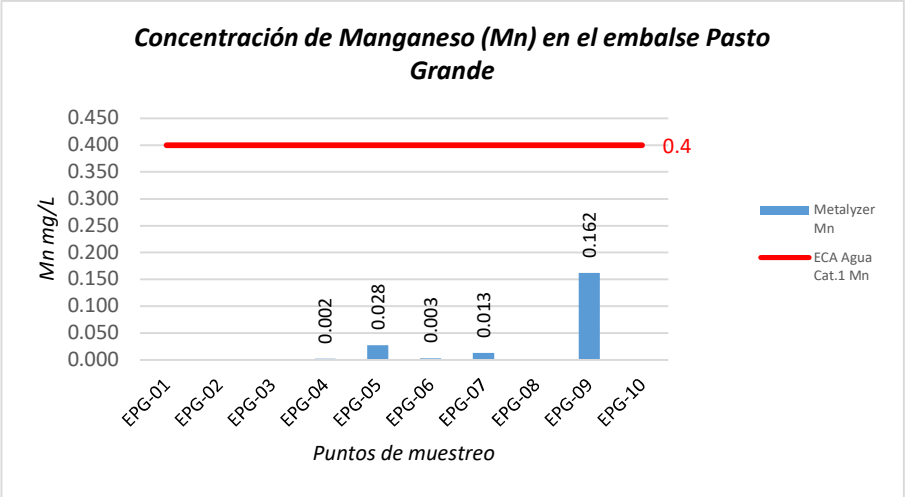
Concentración de Arsénico (As) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4



La concentración de arsénico (As) en las aguas del embalse Pasto Grande superó los Estándares de Calidad Ambiental para la Categoría 1 – Poblacional y Recreacional "Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional" (0.01 mg/L) en los puntos de muestreo EPG-01 con 0.051 mg/L y EPG-02 0.015 mg/L.

Figura 17

Concentración de Manganeso (Mn) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4

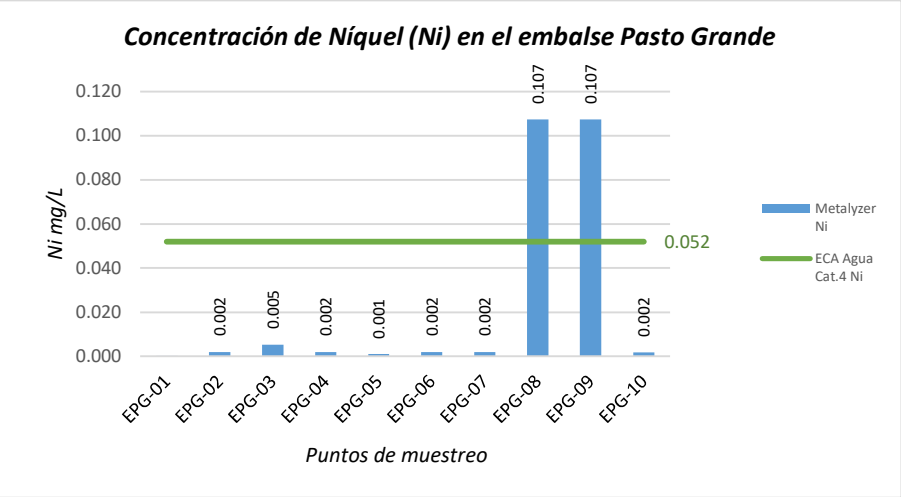


La concentración de manganeso (Mn) en el embalse Pasto Grande no superó los Estándares de Calidad Ambiental para la Categoría 1 – Poblacional

y Recreacional “Aguas que se pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional” (0.4 mg/L).

Figura 18

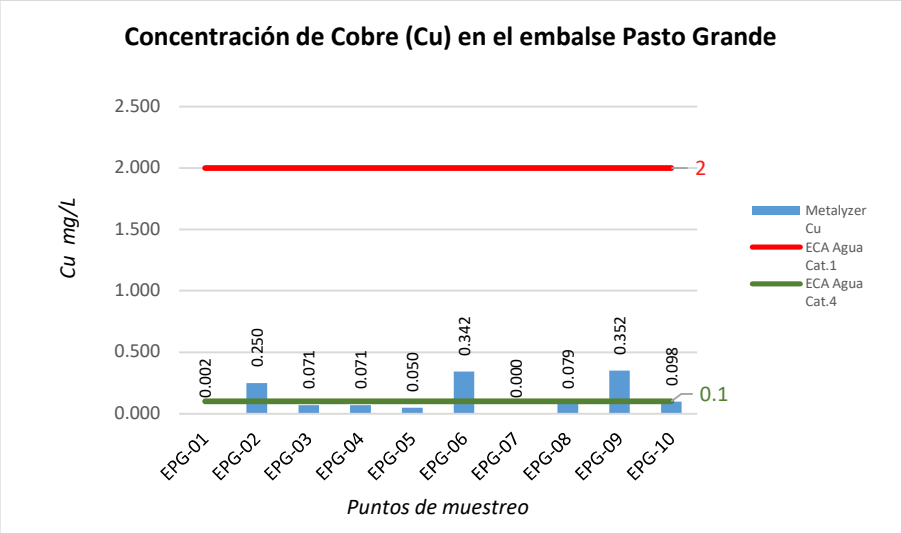
Concentración de Níquel (Ni) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4



La concentración de níquel (Ni) en todos los puntos de muestreo del embalse Pasto Grande no supera los Estándares de Calidad Ambiental en la Categoría 4 Conservación del ambiente acuático – Sub Categoría E1: Lagunas y lagos (0.052 mg/L).

Figura 19

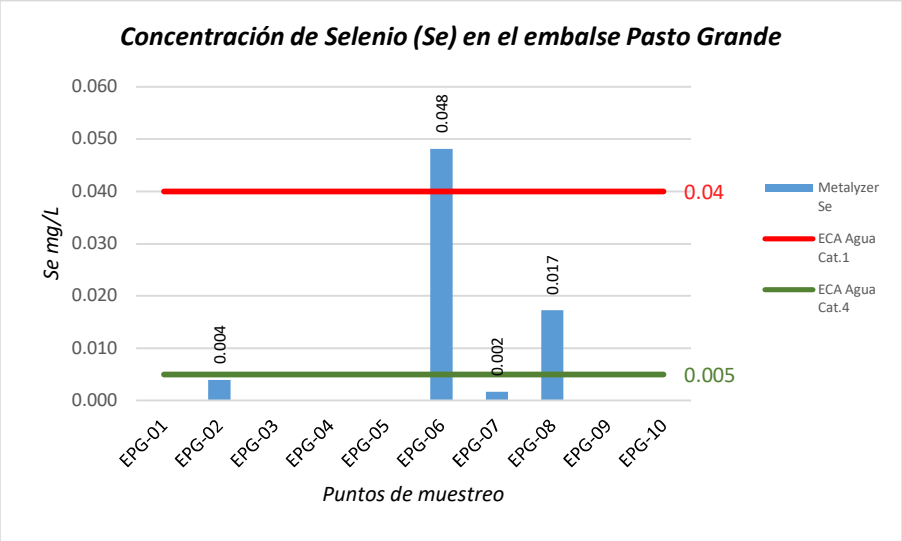
Concentración de Cobre (Cu) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4



Las muestras de agua del embalse Pasto Grande se determinó que la concentración de cobre (Cu) en los puntos de muestreo EPG-02 con un valor de 0.250 mg/L, EPG-06 mg/L y EPG-09 0.352 mg/L superan la concentración establecida en los Estándares de Calidad Ambiental en la Categoría 4 Conservación del ambiente acuático – Sub Categoría E1: Lagunas y lagos 0.1 mg/L.

Figura 20

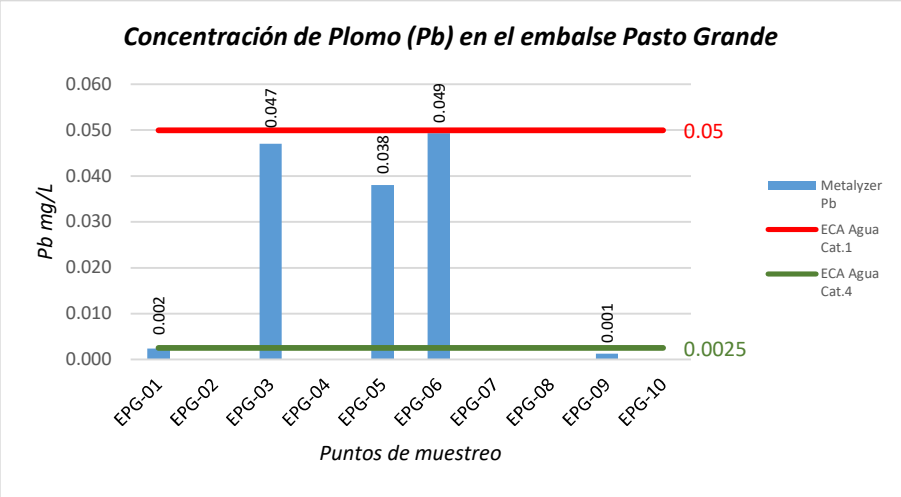
Concentración de Selenio (Se) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4



Las muestras de agua del embalse Pasto Grande la concentración de selenio (Se) en los puntos de muestreo EPG-06 0.048 mg/L y EPG-08 0.017 mg/L supera los Estándares de Calidad Ambiental para la Categoría 1 – Poblacional y Recreacional “Aguas que se pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional” de 0.005 mg/L y el punto de muestreo EPG-06 con un valor de 0.048 mg/L supera los Estándares de Calidad Ambiental en la Categoría 4 Conservación del ambiente acuático – Sub Categoría E1: Lagunas y lagos con 0.04 mg/L.

Figura 21

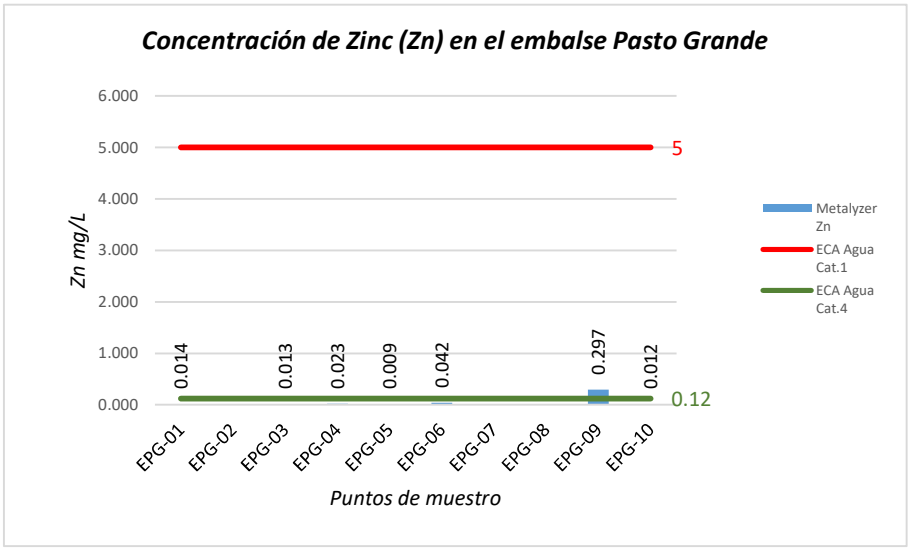
Concentración de plomo (Pb) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4



Las muestras de agua del embalse Pasto para plomo (Pb) se encontraron en los puntos de muestreo EPG-01 con un valor de 0.002 mg/L, EPG-03 0.047 mg/L, EPG-05 0.038 mg/Ly EPG-06 0.049 mg/L superan la concentración establecida en los Estándares de Calidad Ambiental para la Categoría 1 – Poblacional y Recreacional "Aguas que se pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional" con una concentración de 0.0025 mg/L y el punto de muestreo EPG-06 con un valor de 0.049 mg/L supera los Estándares de Calidad Ambiental en la Categoría 4 Conservación del ambiente acuático – Sub Categoría E1: Lagunas y lagos con 0.05 mg/L.

Figura 22

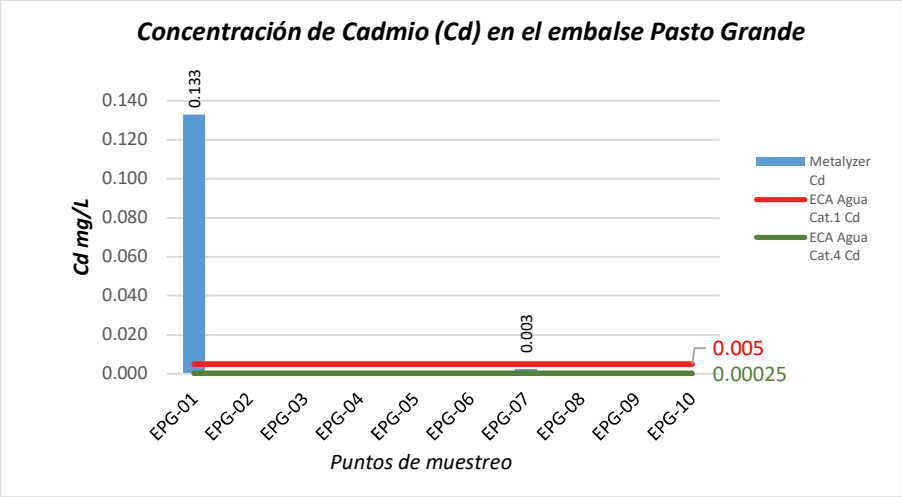
Concentración de Zinc (Zn) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4



Las muestras de agua del embalse Pasto Grande se determinó la concentración de zinc (Zn) en el punto de muestreo EPG-09 con un valor de 0.297 mg/L supera los Estándares de Calidad Ambiental en la Categoría 4 Conservación del ambiente acuático – Sub Categoría E1: Lagunas y lagos con una concentración de 0.12 mg/L.

Figura 23

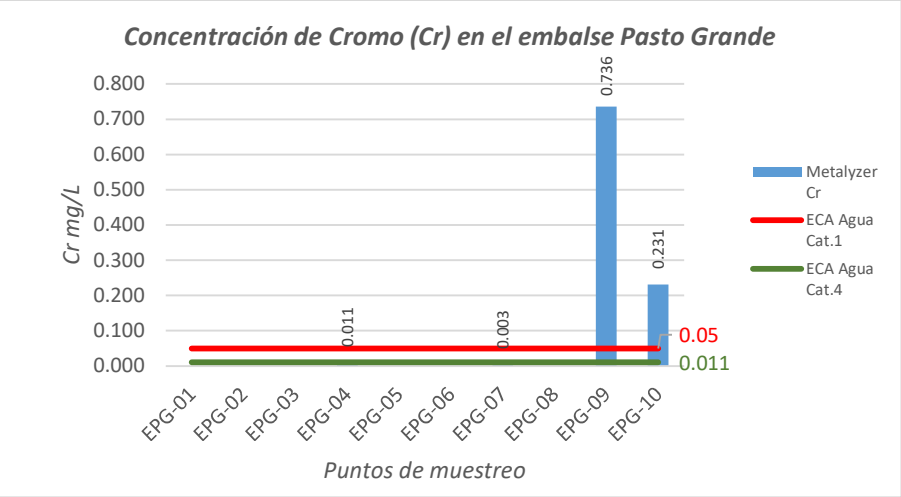
Concentración de Cadmio (Cd) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4



La concentración de cadmio (Cd) en el punto de muestreo EPG-07 con un valor de 0.003 mg/L supera los Estándares de Calidad Ambiental en la Categoría 4 Conservación del ambiente acuático – Sub Categoría E1: Lagunas y lagos, el punto de muestreo EPG-01 superó los Estándares de Calidad Ambiental para la Categoría 1 – Poblacional y Recreacional “Aguas que se pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional” con una concentración de 0.005 mg/L.

Figura 24

Concentración de Cromo (Cr) en los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4



La concentración de cromo (Cr) en el punto de muestreo EPG-04 con un valor de 0.011 mg/L se encuentra en el rango que establece los Estándares de Calidad Ambiental en la Categoría 4 Conservación del ambiente acuático – Sub Categoría E1: Lagunas y lagos con una concentración de 0.011 mg/L, los puntos de muestreo EPG-09 con un valor de 0.736 mg/L y EPG-10 con 0.231 mg/L superan la concentración de 0.005 mg/L permitida por los Estándares de Calidad Ambiental para la Categoría 1 – Poblacional y Recreacional "Aguas que se pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional".

4.1.5. Cálculo de Índices de diversidad

Para determinar los índices de diversidad de Shannon y de Simpson se empleó el software Primer-e v6 donde se analizaron los datos y se generaron diagramas que se detallan a continuación:

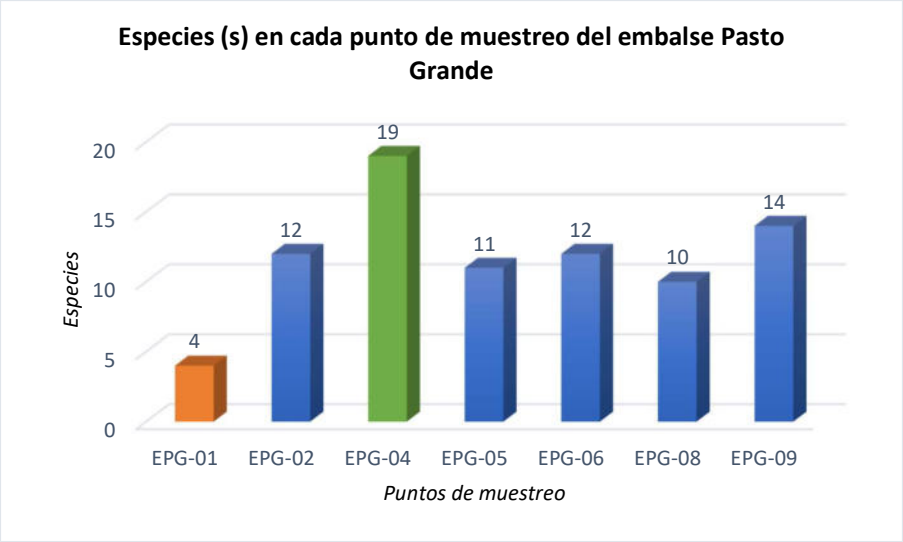
Tabla 14

Tabla de índices de diversidad

Índices de diversidad de especies	Estaciones						
	EPG-01	**EPG-02**	**EPG-04**	**EPG-05**	**EPG-06**	**EPG-08**	**EPG-09**
Especies (s)	4	12	**19**	11	12	10	14
Individuos (N)	1501	466	**1694**	693	1028	534	1182
Shannon (H´) (loge)	0.78	1.41	1.61	1.63	1.73	1.67	1.52
Simpson (λ)	0.53	0.35	0.23	0.23	0.20	0.23	0.26

Figura 25

Número de especies encontradas en los puntos de muestreo del embalse Pasto Grande



De los resultados obtenidos en la tabla 14 y figura 25, se observa que la riqueza (s) varió de 4 (EPG-01) a 19 (EPG-04) especies. La abundancia de individuos osciló desde 466 (EPG-02) a 1501 (EPG-01).

Figura 26

Índice de diversidad de Shannon (H')

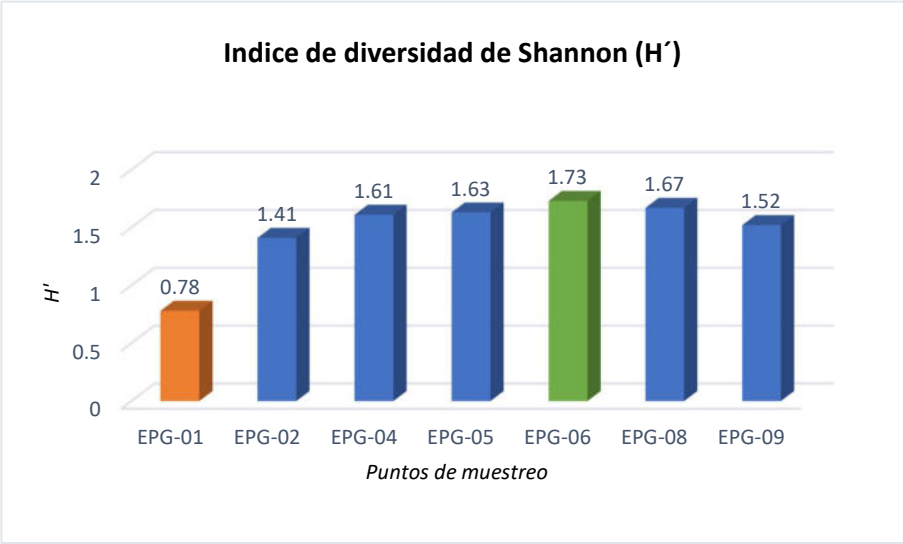


Tabla 15

Valorización del índice de diversidad de Shannon - Wiener

Valores	Interpretación
0.1 – 1.5	Diversidad Baja
1.6 – 3.0	Diversidad Media
3.1 – más	Diversidad Alta

Nota. (Kreps, 1985)

El valor más bajo de la serie fue de 0.78, está ubicado en el punto de muestreo EPG-01, lo que indica baja diversidad en la comunidad o muestra. Un valor tan bajo sugiere que una o unas pocas categorías están dominando la muestra, con una menor equidad. La mayoría de los individuos probablemente pertenezcan a una categoría dominante, lo que indica una distribución muy desigual.

Los puntos EPG-02 y EPG-09 obtuvieron un valor de 1.41 y 1.52, indica una diversidad moderada-baja. Es más alta que 0.78, lo que sugiere que hay más equidad en la distribución de las categorías, aunque todavía puede haber alguna categoría que predomine más que otras, se sugiere que las comunidades microalgales de cianobacterias no estarían completamente dominados.

Los puntos EPG-04 y EPG-05 obtuvieron un valor de 1.61 y 1.63, indica una diversidad moderada-alta. Hay una buena mezcla entre las categorías presentes, lo que sugiere que la comunidad es bastante diversa y las categorías están distribuidas de manera razonablemente equitativa.

EPG-06 obtuvo el valor más alto en los resultados con 1.73, indicando la mayor diversidad en la comunidad. Aquí, las categorías están distribuidas de manera más equitativa, sin una predominancia clara de ninguna en particular. Este valor refleja una alta equidad entre las categorías.

Razón por la cual la relación de la diversidad de Shannon (H´) en la estación EPG-06 presentó el valor más alto (1.73), lo que sugiere una comunidad diversa y equilibrada. En contraste, EPG-01 que obtuvo el valor más bajo (0.78).

Figura 27

Índice de diversidad de Simpson-D

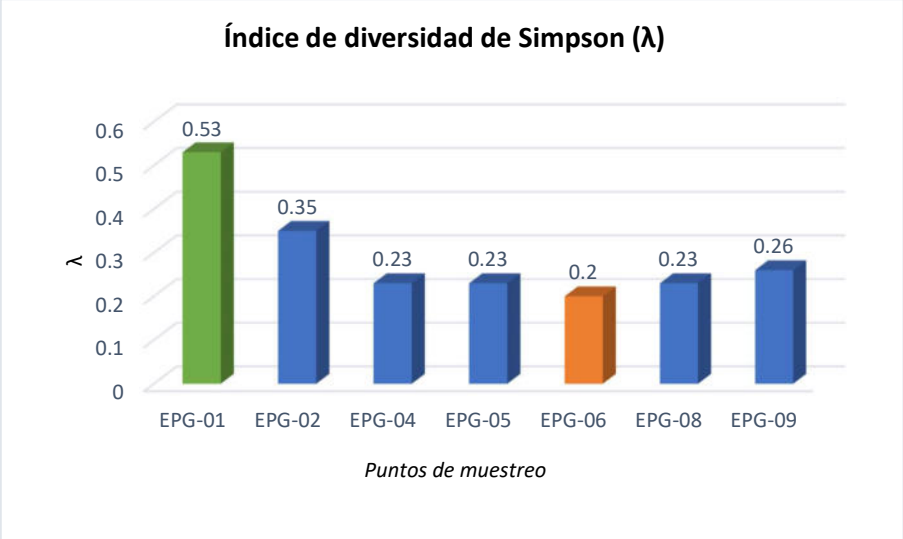


Tabla 16

Valorización del Índice de diversidad de Simpson

Valores	Interpretación
0.00 – 0.35	Diversidad Baja
0.36 – 0.75	Diversidad Media
0.46 – 1.00	Diversidad Alta

Nota. (Kreps, 1985)

Para el punto EPG-01 obtuvo un valor de 0.53 el cual representa un nivel moderado de diversidad. La probabilidad de que dos individuos seleccionados al azar pertenezcan a la misma categoría es del 53%, lo que indica que no hay una alta uniformidad en las categorías, pero tampoco hay una diversidad extrema.

En el punto EPG-02 posee un valor de 0.35 y muestra una mayor diversidad en comparación con el anterior. La probabilidad de seleccionar dos individuos de la misma categoría es del 35%, lo que implica una mezcla más equilibrada de categorías. Es decir, hay una mayor equidad entre las categorías, lo que sugiere que ninguna categoría domina de manera significativa.

En los puntos EPG-04, EPG-05 y EPG-08 muestran tres valores iguales a 0.23 sugieren una alta diversidad. Aquí, la probabilidad de que dos individuos seleccionados al azar pertenezcan a la misma categoría es del 23%. Este valor es bajo, lo que indica que las categorías están bien distribuidas y no hay una categoría dominante, es decir, que la población es diversa y equitativamente representada.

EPG-06 presentó un valor 0.20 lo cual indica el nivel más alto de diversidad en los datos proporcionados. La probabilidad de que dos individuos seleccionados pertenezcan a la misma categoría es del 20%, lo que representa una distribución aún más equitativa de las categorías. Este valor sugiere que hay una gran diversidad con muchas categorías representadas de forma similar en términos de proporción.

Finalmente, en el punto EPG-09 tuvo un valor de 0.26, este valor vuelve a mostrar un buen nivel de diversidad, aunque ligeramente inferior al 0.20 y 0.23. La probabilidad de que dos individuos seleccionados al azar pertenezcan a la misma categoría es del 26%, lo que todavía representa una situación de diversidad considerable.

En conjunto, estos valores sugieren una población o muestra con una diversidad moderada a alta. El hecho de que algunos valores como 0.20 y 0.23 aparezcan repetidos o cercanos entre sí sugiere que las categorías están razonablemente bien distribuidas en esas instancias. El valor más alto, 0.53, indica que, en un contexto, la diversidad es más limitada, ya que hay una mayor probabilidad de que dos individuos sean de la misma categoría.

4.2. Discusión

4.2.1. Taxones de cianobacterias relacionadas a metales pesados (Cd, Pb, Cu y As)

Al obtener nuestros resultados para determinar la relación de los taxones de cianobacterias con los metales pesados cadmio (Cd), plomo (Pb), cobre (Cu) y arsénico (As), se demostró la presencia de las microalgas *Cyanobacteriia* sp*., Chamaesiphon PCC-7430* sp*., unclassified Cyanobacteriia, unclassified Tychonema CCAP 1459-11B, unclassified Tychonema CCAP 1459-11B y Pseudanabaena PCC-7429* sp. (Ver figura 12), probablemente influenciadas por la presencia de arsénico (As), distintos a los estudios técnicos realizados por el Consorcio V-5, (2012), que no evidenció la presencia de arsénico (As) durante ese año, sin embargo, fue determinado cadmio (Cd) en concentraciones (0.002 mg/L) menores a los valores del ECA-agua, a su vez reportaron las cianobacterias de las especies *Anabaena y Oscillatorias*. Otro estudio de monitoreo de la Evaluación Ambiental del embalse Pasto Grande realizado por García et al., (2016) para la época de estiaje encontraron valores de 0.033 mg/L para Cadmio y para el Arsénico de 0.041 mg/L, mientras que en el presente estudio encontramos valores superiores de 0.133 mg/L y 0.162 mg/L respectivamente en época de estiaje para el año 2023 el cual nos indica que el embalse actualmente permanece contaminado. Igualmente, García et al, 2016, en su estudio 0.041 mg/L realizaron la evaluación de Fitoplancton a nivel de Phylum encontrando 03 grupos taxonómicos de Bacillariophyta, Charophyta y Chlorophyta, sin embargo, en otro monitoreo realizado durante el año 2015 evidenciaron la presencia de un nuevo Phylum taxonómico denominado Cyanobacteria, en nuestro estudio se pudo determinar por métodos modernos de biología molecular utilizando la metagenómica nuevos grupos taxonómicos pertenecientes al Phylum cianobacteria (Ver tabla 22) e incluso se determinó a nivel de género y especies de cianobacterias.

En este estudio se evidenció la presencia valores superiores de plomo (Pb) posiblemente asociados a la cianobacteria Tychonema en comparación a las concentraciones (0.006 mg/L) reportadas por García et al. (2016) durante la época de estiaje en el año 2015, los que a su vez no se detectaron en el 2012 en el estudio realizado por el Consorcio V-5, (2012). El aumento de concentración para plomo evidenciado en este estudio estaría llegando al umbral del ECA-agua 0.05 mg/L para la Categoría 1.

En relación al cobre (Cu) y su relación con la cianobacteria *Pseudanabaena sp.* presentó una posible asociación con el metal pesado, según el CCA, en este estudio se determinó la concentración de 0.342 mg/L superando el valor permitido por el ECA-agua Categoría 4. En comparación al monitoreo realizado por el Consorcio V-5, (2012), obtuvieron un valor de 0.021 mg/L, igualmente en otro estudio realizado por García et al. (2016) presenció el cobre (Cu) en concentración de 0.0087 mg/L en la época de estiaje. En el presente estudio se puede evidenciar un aumento significativo del Cobre. Cabe indicar que el cobre es un oligoelemento importante y un micronutriente esencial para los organismos, pero también puede ser tóxico para los humanos y otra biota cuando está presente en concentraciones elevadas (Sullivan et al., 2022; Leybourne y Cameron, 2008).

4.2.2. Relación de la concentración de clorofila-A y los taxones de cianobacterias con grado de toxicidad

Los resultados obtenidos de la concentración de clorofila-A fueron en promedio 0.130 g/L el cual posiblemente es consecuencia de un ambiente acuático oligotrófico ácido con escaza productividad primaria, razón por la cual fueron encontrados una baja diversidad de taxones de cianobacterias productoras de cianotoxinas, el cual fue demostrado mediante una correlación negativa. El estudio realizado por el Consocio V-5, (2012), indica que el agua del embalse Pasto Grande es considerado un ambiente tóxico, debido a la acumulación de metales pesados, bofedales de origen y restos de dinoflagelados, también revelaron que el embalse ya poseía un escenario Oligotrófico, en nuestro estudio también demostró la acidificación de las aguas del embalse en un promedio de 4.4 pH (Ver tabla 17). En el monitoreo realizado el 2012 solo se tuvo el 2% de cianobacterias conformado por *Anabaena sp.* y *Oscillatoria sp.* productoras de neurotoxinas, pero Flores (2020), identificó seis especies de cianobacterias productoras de cianotoxinas como *Microcystis sp., Anabaena sp., Nostoc sp., Plectonema sp., Lyngya sp. y Oscillatoria sp.*

En el presente estudio utilizando técnicas avanzadas de biología molecular mediante metagenoma del agua y utilizando marcadores moleculares del gen 16S Ribosomales se evidenció una mayor diversidad de comunidades de cianobaterias relacionadas a la producción de cianotoxinas, destacando *Tychonema sp., Cyanobacteriia, Chamaesiphon sp.,*

Pseudanabaena sp., Cyanobacteriia sp., Scytonema sp., Calothrix sp., Nostocaceae, Tychonema bourrellyi, Pseudanabaena, Snowella rosea, Tychonema tenue, Pseudanabaenaceae sp., Microcystaceae, Pseudanabaena y Nostoc. Estas especies posiblemente generan hepatoxinas; esta toxina generan tumores hepáticos y muerte celular en los seres humanos (Runnegar et .,1981; Rocha et al., 2024). y neurotoxinas; produciendo contracciones musculares y afectan a los neurotransmisores (Bartram & Chorus, 1999) (Rocha et al., 2024).

En nuestro estudio determinamos mayor número de taxones de cianobacterias durante la época de estiaje posiblemente debido al aumento de la radiación solar, el cual es corroborado por el estudio de Mwaura et al, (2004), donde encontró una dominancia de cianobacterias en los embalses Kinangop - Kenia, el autor indica que posiblemente se deba a la mayor radiación solar propio de las zonas y también mayor presencia de nutrientes.

El Consorcio V-5, 2012, realizaron análisis hidrobiológico cuantitativo de fitoplancton siendo que evaluaron las ficotoxinas y la Clorofila-A, el cual se evidencio la presencia de cianobacterias *Anabaena* y *Oscillatorias*, al contrastar las dos variables no se apreció una relación estrecha debido a que no solo las cianobacterias dan el pigmento en el agua si no otras algas como las diatomeas ya que estas presentaron mayor valor y también se debe a la radiación solar de la zona. En nuestro estudio se determinaron altas concentraciones de clorofila-A, el cual probablemente sea producto de las comunidades de diatomeas pues son tolerantes a los ambientes ácidos (comprobado en anteriores estudios), algunas especies de diatomeas pueden producir toxinas que afectan a organismos acuáticos y pueden acumularse en la cadena alimentaria (Narayanan et al., 2022).

4.2.3. Comparación de la concentración de metales pesados y ECA – Agua

En nuestro estudio determinamos la concentración del metal pesado mercurio (Hg), se obtuvo valores superiores al límite que se encuentra establecido en los ECA-Agua D.S N°004-2017-MINAM para Categoría 1: Poblacional y Recreacional, siendo de 0.002 mg/L como también para la Categoría 4: Conservación del medio acuático, siendo de 0.001 mg/L, encontrándose en un rango de 0.007 a 0.420 mg/L comparando con los datos obtenidos en el informe de Evaluación Ambiental elaborado por García et al,

2016, las concentraciones del mercurio (Hg) en el agua oscilaba entre 0.00009 a 0.00014 mg/L superando los ECA Agua para Categoría 4, al ver este aumento significativo de la concentración se pude determinar que posiblemente se debe a la presencia de la actividad minera donde utilizan el mercurio (Hg) como ingrediente de amalgamación para extraer oro (Au) y plata (Ag) del mineral triturado, cabe indicar que en la cabecera del río Patara está ubicada la mina Cacachara (Proceso de cierre) se dedicaba a la extracción de zinc (Zn), plomo (Pb) y cobre (Cu) y la mina Santa Rosa (Proceso de cierre) realizaba extracción de plomo (Pb), cobre (Cu), zinc (Zn) y oro (Au). El mercurio (Hg) presentes en los ecosistemas acuáticos puede convertirse en monometilmercurio (MeHg), una especie altamente tóxica, persistente y bioacumulable, siendo una amenaza para la salud humana y la vida silvestre (Radway et al., 2001, Pickhardt et al., 2002, He et al., 2008).

Para el arsénico (As) solo hubo dos puntos de muestreo (EPG-01 y EPG-02) (Ver figura N°16) superaron la concentración máxima que está permitido según el ECA Agua para Categoría 1: Poblacional y Recreacional (0.01 mg/L) como también para la Categoría 4: Conservación del medio acuático (0.15 mg/L) teniendo un valor de 0.015 a 0.051 mg/L, recopilando la evaluación ejecutada por el Consorcio V-05, (2012) en los puntos de muestreo que establecieron no se presenciaron valores para las muestras tomadas en la superficie y a una profundidad media, sin embargo, en el informe de García et al., (2016), si se pudo determinar la concentración en todos sus puntos de muestreo teniendo un rango de 0.0005 a 0.041 mg/L. Flores, (2020) determinó la concentración de arsénico (As) 0.005 mg/L, al ver que la concentración se mantiene en un rango ± 10 mg/L se pude determinar que la concentración del metal se debe a la movilidad y liberación del arsénico (As) en los sedimentos y en el agua está influenciada en gran medida por el comportamiento geoquímico de los óxidos de hierro y manganeso en los ambientes acuáticos (Keimowitz et al., 2017, Kong et al., 2021, Cai et al., 2022) y depende de múltiples propiedades como el tamaño del grano, los óxidos metálicos, el pH y la materia orgánica (Cai et al., 2022; Li et al., 2022), esto quiere decir que cuando el suelo se inunda el pH disminuye y provoca la liberación de arsénico (As) de la superficie de las partículas del suelo (Ponting et al., 2021; Cai et al., 2022).

En los muestreos realizados el año 2012 los valores de manganeso (Mn) oscilaban entre 0.756 hasta 1.265 mg/L, en nuestro estudio se obtuvo concentraciones inferiores a lo establecido en el ECA Agua Categoría 1

teniendo valores de 0.002 a 0.162 mg/L (Ver figura 16). Como indica Gillispie et al, (2016) la presencia de este metal en los cuerpos de agua se da a través de la meteorización de suelos ricos en Mn y lecho de roca (De Vitre y Davison, 1993) en el embalse Pasto Grande, la cabecera de cuenca actualmente sufre el fenómeno de la meteorización por el cambio climático, dichos metales son transportados hasta el embalse a su vez Krueger et al, (2020), señala que durante los meses de la época de estiaje el aumento de temperatura da lugar a un contraste de densidad entre las aguas superficiales y aguas profundas, lo que provoca la estratificación de la columna de agua, el cual da origen a la acumulación de Mn soluble.

Anteriormente, no se realizaron monitoreos en el agua del embalse Pasto Grande para el metal níquel (Ni) pero en el presente estudio se realizó el muestreo obteniendo valores bajos de 0.002 a 0.107 mg/L (Ver tabla 18). Según Ponton y Hare, (2009), el níquel (Ni) puede estar presente en los cuerpos de aguas que se encuentran cerca a sitios mineros e industriales, como se detalló anteriormente en la cabecera de los ríos tributarios al embalse Pasto Grande había la presencia de dos minas que son la mina Cacachara que se dedicaba a la extracción de zinc (Zn), plomo (Pb) y cobre (Cu) y la mina Santa Rosa realizaba extracción de plomo (Pb), cobre (Cu), zinc (Zn) y oro (Au), el cual probablemente este asociado a dicho metal encontrado en este estudio. En otros estudios sobre níquel (Ni), según Lappalainen et al, (2007) detalla que las concentraciones extremadamente altas de níquel (Ni) constituyen una amenaza para la biota acuática y se han encontrado algunos lagos que han perdido sus poblaciones de peces, esto nos podría dar una explicación a la desaparición de los peces nativos y exóticos que habitaban las aguas del embalse Pasto Grande.

En el muestreo ejecutado por el Consorcio V-5, 2012, los valores de cobre (Cu) para el embalse Pasto Grande fue de 0.008 a 0.017 mg/L en época de estiaje, sin embargo valores diferentes fueron obtenidos en el muestreo realizado por Garcia et al, 2016, donde las concentraciones oscilaban entre 0.0087 a 0.0151 g/L, en la presente investigación en los tres puntos de muestreo (EPG-02, EPG-06 y EPG-09) (Ver figura 19) superaron el límite que estable el ECA-Agua Categoría 4 teniendo un valor de 0.002 a 0.352 mg/L, el cual se presencia un aumento de la concentración de cobre (Cu), otros autores, como Sullivan et al., 2022; Leybourne y Cameron, 2008, indican que el cobre está presente de forma natural y biodisponible en suelos y aguas superficiales a partir de procesos como la erosión de rocas y suelos o la

deposición atmosférica como también debido a diversas actividades humanas como procesos de minería, fundición de metales, etc. (Calero et al., 2018; Al-Homaidan et al.,2014; Daehn et al., 2017; Kerfoot et al., 1999; Yin et al., 2015).

Igualmente, no se realizaron monitoreos en el agua del embalse Pasto Grande para la detección del metal selenio (Se), en este estudio se obtuvo valores en dos puntos de muestreo (EPG-06 y EPG-08) (Ver figura 19) el cual si superaron lo establecido en el ECA Agua entre 0.017 a 0.048 mg/L. Como indican Ormachea Muñoz et al., 2013; Sarret et al., 2019; Tapia et al., 2019, en los ecosistemas acuáticos de gran altitud (por encima de los 3500 m.s.n.m. como los lagos, embalses, aguas subterráneas y superficiales, se encuentra la presencia de selenio (Se) debido a la liberación natural al medio ambiente desde fuentes geogénicas que incluyen rocas volcánicas, emisiones atmosféricas (gas y cenizas volcánicas) y fluidos geotérmicos que ascienden desde reservorios geotérmicos profundos (Bundschuh et al., 2020). El selenio (Se) al ser un oligoelemento esencial para los humanos y los microorganismos que puede ser un antagonista potencial de la toxicidad del As y el Hg dependiendo de su especiación (Wang et al., 2004). Sin embargo, en concentraciones elevadas, el selenio (Se) puede ser tóxico representando un problema ambiental en algunos ecosistemas acuáticos (Maier y Knight, 1994).

Para el plomo (Pb) en tres puntos de muestreo (EPG-03, EPG-05 y EPG-06) superaron los valores del ECA-Agua para la Categoría 4 con valores que oscilan de 0.001 a 0.049 mg/L, en el estudio realizado por García et al, 2016, se observó que el muestreo realizado en la época de estiaje tuvo valores inferiores de ≤ 0.001 hasta 0.006 mg/L, el cual se nota un aumento significativo de los valores encontrados en el presente estudio. Este es un parámetro que debe de ser monitoreado debido a que el Pb es tóxico, persistentes, bioacumulables y plantea un alto riesgo para la salud humana y el ecosistema incluso en concentraciones más bajas, se han convertido en contaminantes preocupantes a nivel mundial (Hasan et al., 2021).

Para la determinación de zinc (Zn), los valores obtenidos en el muestreo realizado por García et al, 2016, presentó concentraciones de 0.268 a 0.387 mg/L, igualmente Flores, (2020), en su estudio encontró un valor de 0.334 mg/L, muy diferente a los resultados obtenidos en nuestro muestreo realizado en época de estiaje que oscilaba entre los valores de 0.009 a 0.297 mg/L los cuales superan el ECA-agua Categoría 4. Según estudios de Loring, 1991; Nelson y Lamothe, 1993 la concentración del metal zinc (Zn) en

cuerpos de agua y sedimentos representan condiciones de enriquecimiento natural o antropogénico, debido a que el contenido natural de los metales puede variar dependiendo de la mineralogía, contenido de materia orgánica y distribución del tamaño del grano, para las plantas, algunos metales son esenciales para su desarrollo, puesto que son componentes y/o catalizadores para proteínas y enzimas (Mn^{2+}, Fe^{3+}, Zn^{2+}, Cu^{2+}) (Pabón et al., 2020) pero las concentraciones de zinc (Zn) pueden ser tóxicas para peces, invertebrados y otros organismos acuáticos, afectando su crecimiento, reproducción y supervivencia.

Para el metal cadmio (Cd) en el informe presentado por el Consorcio V-5, (2012) las aguas del embalse presentaban concentraciones de 0.001 a 0.002 mg/L, pero García et al. (2016), indica que el agua del embalse Pasto Grande tiene un valor de Cadmio de 0.0028 a 0.033 mg/L, en contraste a los datos que se han obtenido en el presente estudio solo un punto de muestreo (EPG-01) superó el valor permitido por el ECA-Agua Categoría 1 y 4 con 0.133 mg/L, lo cual indica que existe actualmente aumento de dicho metal. Castrillo et al. (2012), el cadmio (Cd) es un metal tóxico que es liberado al ambiente por dos fuentes naturales como la actividad volcánica, los incendios forestales y el transporte por el viento de partículas del suelo (Filipič, 2012) y antrópicas como la minería, el uso de fertilizantes fosfatados, la fundición de metales, la quema de combustibles fósiles (Pernía et al. 2008). El cadmio (Cd) liberado al ambiente tiende a acumularse en los suelos haciéndose disponible para las plantas, entrando así a la cadena alimenticia (Castrillo et al. 2012), en el embalse Pasto Grande la presencia de cadmio (Cd) posiblemente proviene de las actividades mineras y de fuentes naturales.

En el presente estudio las concentraciones de cromo (Cr) mostraron que en dos puntos de muestreo (EPG-09 y EPG-10), los valores superaron el límite que indica en el ECA-Agua Categoría 1 y 4, presentando un valor de 0.231 y 0.736 mg/L (Ver tabla 18), sin embargo, en el monitoreo realizado por el Consorcio V-05, (2012), las aguas del embalse Pasto Grande no presentaban concentraciones de Cromo. En este estudio fue detectado por primera vez la presencia del metal en altas concentraciones, el cual se sugiere que posiblemente se puede deber a la escorrentía de sus ríos tributarios existiendo de forma natural minerales que poseen en su composición cromo (Cr) y a la vez dichos ríos actualmente son ácidos, el cual favorece a la dilución de la roca, siendo corroborado por los estudios de Flórez et al. 2017, la presencia de este metal como otros en el embalse puede deberse a la

actividad antrópica y/o a procesos naturales, tales como la meteorización, erosión de las rocas y los suelos por actividades silvopastoriles registradas en las zonas aledañas a los embalses y los metales pesados a diferencia de los contaminantes orgánicos, son persistentes en la naturaleza, por lo tanto, tienden a acumularse en distintos nichos de los ecosistemas tal como lo indican Madera-Parra et. al., 2014.

4.2.4. Índices de diversidad ecológica

La información sobre la diversidad biológica de cualquier ecosistema acuático puede proporcionar una evaluación integrada de una masa de agua sensible a las variables físicas o químicas, por esta razón las cianobacterias tienen la capacidad de crecer a grandes altitudes, porque muestran tolerancia a la radiación y poseen mecanismos de defensa contra los daños causados por los rayos UV (Mataloni et al. 2000; Leavitt et al. 2003), en el presente trabajo de investigación, utilizando métodos avanzados de biología molecular como la técnica de metagenómica se consiguió la extracción de ADN ambiental a partir de muestras de agua del embalse Pasto Grande, se pudo determinar que el punto de muestreo EPG-04 presentó mayor diversidad a nivel de especies de cianobacterias compuesto de 19 taxones (Ver tabla 14).

Utilizando técnicas convencionales de identificación de fitoplancton realizado por Flores, (2020), se puede observar, que ya no son adecuadas para estudios limnológicos, el cual prevalece actualmente las técnicas moleculares, en este estudio solo cinco grupos funcionales Crysophyta, Euglenophyta, Chlorophyta, Bacillariophyta (diatomeas) y Cianobacterias, donde la Bacillariphyta fueron determinados por dicho autor. Dentro del grupo de las Cianobacterias, fueron identificadas *Mycrocystis sp, Anabaena sp, Nostoc sp, Plectonema sp, Lyngbya sp y Oscillatoria chabiles sp.* Según el Consorcio V-5, (2012), fueron encontrados tres comunidades taxonómicas siendo Diatomeas, Chlorophyceas y Cianobacterias. Dentro del grupo de las cianobacterias fueron reportadas las especies *Chroococcus sp., Anabaena sp., Oscillatoria sp., Pseudanabaena sp. y Amphidinium sp.* De igual forma en el muestreo realizado por Garcia et al., 2016, realizó estudios de la composición siendo identificados 29 especies representadas por 5 phylums siendo Bacillariophyta con 17 especies, Chlorophyta con 07 especies, Charophyta con 03 especies, Euglenophyta con 01 especie y Cianobacterias con 01 especie no identificada. En el presente estudio, al haber utilizado las

técnicas moleculares, fue posible determinar mayor número de taxones a partir del análisis de ADN ambiental, diferente a los estudios de identificación convencionales realizado por Flores (2020); García et al., (2016) y Consorcio V-5, (2012). Según Singh et al. (2014) indica que la presencia de cianobacterias en los embalses que se encuentran en una altitud de 4883 m.s.n.m., donde la temperatura oscila entre 6 y 18 °C, pertenecen a la familia de Pseudanabaenaceae y Nostocaceae en aguas dulces y en los ecosistemas de aguas frías Chroococcales, Oscillatoriales y Nostocales (Taton et al. 2003, 2006a, b; Jungblut et al. 2005).

Así mismo, en nuestro estudio se determinó el índice de diversidad de Shannon (H') para medir la riqueza y la equitatividad en la comunidad biológica presente en el embalse exclusivamente de cianobacterias, es por ello que de los siete puntos, el punto de muestreo EPG-06 (Ver Anexo N°03) obtuvo el valor de 1.73, el cual, nos indica que posee una diversidad moderada y que en la comunidad existe varias especies presentes, algunas más comunes que otras, por otra parte, en el estudio realizado por Flores, (2020), para el índice de diversidad de Shannon (H') presentó valores altos en dos puntos con 2.57 y 2.62, indicando que posee una diversidad moderada, según estos estudios, existe un divergencia entre los resultados encontrados en el presente estudio comparado con el trabajo de Flores, (2020), pues no indica la época de colecta de las muestras de fitoplancton.

En cuanto al índice de Simpson-D, en el punto de muestreo EPG-06 se obtuvo el valor 0.20 (Ver Tabla 14), esto nos demuestra que presenta una escala entre moderada a alta diversidad, debido a que existe una comunidad con varias especies y unas suelen ser más abundantes que otras y el trabajo de Flores, (2020), obtuvo valores cercanos a 1.0, lo cual indicaría que tiene una baja diversidad y alta dominancia de especies en el embalse de Pasto Grande, dicho estudio fue realizado con todas las comunidades fitoplanctónicas.

V. Conclusiones

- Existe relación entre los grupos de las cianobacterias *Cyanobacteriia sp., Chamaesiphon PCC-7430 sp., unclassified Cyanobacteriia, unclassified Tychonema CCAP 1459-11B, unclassified Tychonema CCAP 1459-11B* y *Pseudanabaena PCC-7429 sp*. con la presencia de metales pesados Arsénico (As), Cadmio (Cd), Plomo (Pb) y Cobre (Cu) realizados en este estudio.

- No existe relación directa entre la concentración de clorofila-A y la presencia de taxones del grupo de cianobacterias tóxicas identificadas mediante la tecnología de metagenómica.

- Hay presencia de metales pesados en el embalse Pasto Grande según los Estándares de Calidad Ambiental (ECA-Agua) D.S N°004-2017-MINAM mostró que varios metales, como mercurio (Hg), selenio (Se), cadmio (Cd) y cromo (Cr), superaron las concentraciones permitidas para la Categoría 1 y Categoría 4. También, el arsénico (As) y manganeso (Mn) presentaron concentraciones elevadas, excediendo los valores establecidos en la Categoría 4. De manera similar, el cobre (Cr), plomo (Pb) y zinc (Zn) sobrepasaron los límites fijados para aguas destinadas al consumo humano. El níquel (Ni), por otro lado, mantuvo niveles bajos, dentro de los parámetros permitidos para ambas categorías.

VI. Recomendaciones

Se recomienda realizar nuevos estudios y métodos de biología molecular aplicados a técnicas de metagenómica (ADNmg) ambiental utilizando muestras de agua y sedimentos.

Los resultados obtenidos con el muestreador de metales pesados Metalyzer HM3000 demostró altas concentraciones de metales pesados en unos puntos de muestreo, cabe indicar que los resultados obtenidos son preliminares por lo cual se recomienda que se realice un análisis de metales pesados en un laboratorio acreditado por INACAL.

Realizar trabajos de toxicología para la determinación de diversos tipos de cianotoxinas presentes en el agua del embalse Pasto Grande para comprobar si están dentro del límite permitido por las normas internacionales.

Ejecutar monitoreos para la medición de Fosfatos y Nitratos en el embalse Pasto Grande y el río Tocco debido de que actualmente existe una actividad ganadera (alpaquera).

Se recomienda a la empresa prestadora de servicio de agua (EPS Moquegua) incluir en sus monitoreos la determinación de cianotoxinas en el agua para consumo humano de Moquegua e Ilo.

Igualmente, las Autoridades del Proyecto especial Pasto Grande (PERPG) deberían de realizar monitoreos trimestrales o estacionales (venida y estiaje) para ver la variabilidad de los parámetros físico, químicos y biológicos al largo del tiempo y poder implementar medidas de control ante cualquier problema que pueda presentarse.

El Proyecto especial Pasto Grande (PERPG) debe de implementar técnicas de descolmatación del embalse debido a que cada año va disminuyendo su capacidad de almacenamiento.

VII. Referencias bibliográficas

Almanza, Viviana, Parra, Oscar, De M. Bicudo, Carlos E., González, Mariela A., Lopez, Marcela, & Urrutia, Roberto. (2016). Floraciones de fitoplancton y variación de la estructura comunitaria fitoplanctónica en tres lagos someros eutróficos de Chile Central. *Gayana. Botánica*, 73(2), 191-205. https://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432016000200191

Alvarez Dalinger Florencia, Borja Claudia, Laura Lozano Verónica, Moraña Liliana, Salusso María. (2024). Bloom-forming cyanobacteria and dinoflagellates in five Argentinian reservoirs: Multi-year sampling, *Water Biology and Security, Volume 3, Issue 1, 100232, ISSN 2772-7351,* https://doi.org/10.1016/j.watbs.2023.100232.

Al-Homaidan, Al-Houri HJ, Al-Hazzani AA, Elgaaly G., Moubayed NMS. (2014). Biosorción de iones de cobre de soluciones acuosas por biomasa de Spirulina). *Chem., págs. 57-62*, 10.1016/j.arabjc.2013.05.022

Autoridad Nacional del Agua - ANA. (2016). Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales. https://sinia.minam.gob.pe/documentos/protocolo-nacional-monitoreo-calidad-recursos-hidricos-superficiales

Bentley, P.J., Gulbrandsen, M. & Kyvik, S. (2015). The relationship between basic and applied research in universities. *High Educ 70, 689–709*. https://doi.org/10.1007/s10734-015-9861-2

Brooks AW, Kohl KD, Brucker RM, van Opstal EJ, Bordenstein SR (2016) Phylosymbiosis: Relationships and Functional Effects of Microbial Communities across Host Evolutionary History. *PLOS Biology 14(11): e2000225.* https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2000225

Bouaicha, N., Miles, C.O., Beach, D.G., Labidi, Z., Djabri, A., Benayache, N.Y. Nguyen-Qang, T. (2019). Structural Diversity, Characterization and Toxicology of Microcystins. *Toxins. 11 (12): 714.* Doi:10.3390/toxins11120714

Bundschuh J., et al. (2020). Arsenic in Latin America: new findings on source, mobilization and mobility in human environments in 20 countries based on decadal research 2010-2020. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. (2020), pp. 1-139*

Buratti, F. M., Manganelli, M., Vichi, S., Stefanelli, M., Scardala, S., Testai, E., Funari, E. (2017). Cyanotoxins: Producing organisms, occurrence, toxicity,

mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. *Archives of Toxicology. 91 (3): 1049-1130.* Doi:10.1007/s00204-016-1913-6

Cai Y., Wang B., Pan F., Fu Y., Guo W., Guo Z. and. Liu H. (2022). Effects of manganese, iron and sulfur geochemistry on arsenic migration in the estuarine sediment of a small river in Xiamen, Southeast China. *Environ. Pollut., 293 (2022), Article 118570*

Calero M., Iáñez-Rodríguez I., Pérez A., Martín-Lara and G. Blázquez G. (2018). Modelización neuronal difusa de la eliminación de cobre del agua por biosorción en columnas de lecho fijo utilizando hueso de aceituna y cáscara de piñón Bioresour. *Technol., 252 (2018), págs. 100-109*, 10.1016/j.biortech.2017.12.074

Cao, Y., Zhu, B., Li, F., Zhang, D., Guo, T., Li, F., & Yang, G. (2021). The Destruction of the Anaerobic Environment Caused by Rumen Fistula Surgery Leads to Differences in the Rumen Microbial Diversity and Function of Sheep. *Frontiers in veterinary science, 8, 754195.* https://doi.org/10.3389/fvets.2021.754195

Carmichael, WW Jussi Meriluoto, Lisa Spoof y Geoffrey A. Codd. (2018). Manual de monitoreo de cianobacterias y análisis de cianotoxinas. *Anal Bioanal Chem 410 , 1405–1406* https://doi.org/10.1007/s00216-017-0804-x

Carmichael, W.W. (1992), Cyanobacteria secondary metabolites—the cyanotoxins. *Journal of Applied Bacteriology, 72: 445-459*. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1992.tb01858.x

Castrillo M., Pernía B., De Sousa A. y Reyes R. (2012). Utilization of different aspects associated with cadmium tolerance in plants to compare sensitive and bioindicator species. *Phytotechnologies: remediation of environmental contaminants. CRC Press, Nueva York, EUA, pp. 427-440*.

Chaidir, Z., Fadjria, N., Armaini, & Zainul, R. (2016). Isolation and molecular identification of freshwater microalgae in Maninjau Lake West Sumatra. *Der Pharmacia Lettre, 8(20)*, 177–187.

Chen Jun, Shaikh Zahir. (2009). Activation of Nrf2 by cadmium and its role in protection against cadmium-induced apoptosis in rat kidney cells, *Toxicology and Applied Pharmacology, Volume 241, Issue 1, 2009, Pages 81-89, ISSN 0041-008X,* https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.07.038.

Cheng, S., Meng, F., Wang, Y., Zhang, J., & Zhang, L. (2024). The potential linkage between sediment oxygen demand and microbes and its contribution to the

dissolved oxygen depletion in the Gan River. *Frontiers in microbiology, 15, 1413447.* https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1413447

Chin, H. S., Ravi Varadharajulu, N., Lin, Z. H., Chen, W. Y., Zhang, Z. H., Arumugam, S., Lai, C. Y., & Yu, S. S. (2024). Isolation, molecular identification, and genomic analysis of Mangrovibacter phragmitis strain ASIOC01 from activated sludge harboring the bioremediation prowess of glycerol and organic pollutants in high-salinity. *Frontiers in microbiology, 15, 1415723.* https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1415723

Chorus I. and Welker M. (2021). Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management (2nd ed), CRC Press, London

Chorus, I., & Bartram, J. (Eds.). (1999). Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management (1st ed.). CRC Press. https://doi.org/10.1201/9781482295061

Consorcio V-5. Gobierno Regional de Moquegua, Proyecto Especial Regional Pasto Grande. (2012). Caracterización física, química y biológica de las aguas del sistema del embalse Pasto Grande. https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/4573567/Tomo-3.pdf?v=1684379402

Consorcio V-5. Gobierno Regional de Moquegua, Proyecto Especial Regional Pasto Grande. (2012). Caracterización física, química, biológica hidrológia de las aguas de afluentes del embalse Pasto Grande. https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/4573566/Tomo-2.pdf?v=1684379402

Cirés, S., Casero, M. C., & Quesada, A. (2017). Toxicity at the edge of life: A review on cyanobacterial toxins from extreme environments. *Marine Drugs, 15(7)*, 1–18. https://doi.org/10.3390/md15070233

Clarke, K. R., & Gorley, R. N. (2015). PRIMER v7

Daehn K.E., Serrenho A.C., Allwood J.M. (2017). How will copper contamination constrain future global steel recycling? *Environ. Sci. Technol., 51 (11) (2017), pp. 6599-6606*, 10.1021/acs.est.7b00997

Dash, S., Rahman, S. R., Hines, H. M., & Feng, W. C. (2021). iBLAST: Incremental BLAST of new sequences via automated e-value correction. *PloS one, 16(4), e0249410*. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249410

De Leon, L., & Yunes, J. S. (2001). First report of a microcystin-containing bloom of the cyanobacterium microcystis aeruginosa in the La Plata River, South America. *Environmental toxicology, 16(1), 110–112.*

De Vitre R.R. and Davison W. (1993). Manganese particles in freshwaters Environmental *Particles, 2, CRC Press (1993), p. 317*

Desingu, P. A., Rubeni, T. P., & Sundaresan, N. R. (2023). Deciphering the Origin of DNA Viruses (Replication-Associated Parvo-NS1) That Infect Vertebrates from Invertebrate-Infecting Viruses. *Microbiology spectrum, 11(4), e0457022.* https://doi.org/10.1128/spectrum.04570-22

Echenique, I. G. L. (2021). Variación morfológica de Cyanotetras (Cyanobacteria) en el lago de Catemaco Veracruz, México. *9525, 43–53.* https://doi.org/10.18387/polibotanica.51.3

Filipič M. (2012). Mechanisms of cadmium induced genomic instability. *Mutat. Res. 733 (1 -2), 69-77.* DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2011.09.002

Flórez Molina Maria, Parra Sánchez Luis, Bolaños Benítez Sandra, Gallo Sánchez Lina, Poveda Sáenz Adriana, Agudelo Echavarría Diana. (2017). Caracterización de los sedimentos de tres embalses de empresas públicas de Medellín, Colombia. *Revista Politécnica ISSN 1900-2351, ISSN 2256-5353(en línea), Año 13, Número 24, pp. 49-63, Enero-Junio 2017*

Flores Justo, A. (2020). Contaminación del embalse Pasto Grande por elementos químicos tóxicos y su efecto en los productores primarios. *Repositorio UJBG.*

Forero Pineda, N., Marín - Suárez, J., Forero- Ulloa, F. E., & Gómez-Palacio, A. (2021). Extracción de ADN bacteriano a partir de cuerpos de agua de uso agrícola. *Ciencia y Agricultura, 18(1), 36–45.* https://doi.org/10.19053/01228420.v18.n1.2021.11703

Francis, T. &. (1999). Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring, and Management.

França, J. M. B. de, Silva, S. M. O. da, Monteiro, C. M. G., Paulino, W. D., & Capelo Neto, J. (2022). Qualidade da água em um sistema de reservatórios em cascata – um estudo de caso no semiárido brasileiro. *Engenharia Sanitaria e Ambiental, 27(1)*, 113–123. https://doi.org/10.1590/s1413-415220200328

García Francisco, Gonzales Julio, Peña Daniel, Escobedo Mario y Chama Víctor. (2016). Informe de la Evaluación Ambiental del Embalse Pasto Grande, ejecutado durante los años 2014 y 2015. https://hdl.handle.net/20.500.12788/94

García Nieto Paulino, García Gonzalo Esperanza, Fernández José, Diaz Muñiz Cristina. (2024). Forecast of chlorophyll-a concentration as an indicator of phytoplankton biomass in El Val reservoir by utilizing various machine learning techniques: A case study in Ebro river basin, Spain. *Journal of Hydrology, Volume 639*. https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2024.131639.

Gutiérrez Rojas, Carlos FernandoGeerts D, Bovy A, de Vrieze G, Borrias M, Weisbeek P. Inducible expression of heterologous genes targeted to a chromosomal platform in the cyanobacterium Synechococcus sp. PCC 7942. *Microbiology (Reading). 1995 Apr;141 (Pt 4):*831-41. doi: 10.1099/13500872-141-4-831.

Gkelis, S., Panou, M., Konstantinou, D., Apostolidis, P., Kasampali, A., Papadimitriou, S., … Arsenakis, M. (2019). Diversity, cyanotoxin production, and bioactivities of cyanobacteria isolated from freshwaters of greece. *Toxins*, *11(8),* 1–20. https://doi.org/10.3390/toxins11080436

Gobierno Regional de Moquegua-Proyecto especial regional Pasto Grande (2012). Tomo N°9: Alternativas de tratamiento biológico en el sistema del embalse Pasto Grande. https://www.pastogrande.gob.pe/wp-content/uploads/2021/09/Tomo-9-.pdf

Gomez, D. E., Arroyo, L. G., Costa, M. C., Viel, L., & Weese, J. S. (2017). Characterization of the Fecal Bacterial Microbiota of Healthy and Diarrheic Dairy Calves. *Journal of veterinary internal medicine, 31(3), 928–939*. https://doi.org/10.1111/jvim.14695

Guo, F., Ju, F., Cai, L., & Zhang, T. (2013). Taxonomic precision of different hypervariable regions of 16S rRNA gene and annotation methods for functional bacterial groups in biological wastewater treatment. PloS one, 8(10), e76185. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076185

Handelsman, J., Liles, M., Mann, D., Riesenfeld, C., & Goodman, R. M. (2002). Cloning the metagenome: Culture-independent access to thediversity and functions of the uncultivated microbial world. *Methods in Microbiology, 33,* 241–255. https://doi.org/10.1016/s0580-9517(02)33014-9

He T, Feng X, Guo Y, Qiu G, Li Z, Liang L, Lu J. (2008). The impact of eutrophication on the biogeochemical cycling of mercury species in a reservoir. A case study fromHongfeng Reservoir, Guizhou, China. *Environ Pollut 2008;154:56–67.*

Heisler J, Glibert P, Burkholder J, Anderson D, Cochlan W, Dennison W, Gobler C, Dortch Q, Heil C, Humphries E, Lewitus A, Magnien R, Marshall H, Sellner

K, Stockwell D, Stoecker D, Suddleson M. Eutrophication and Harmful Algal Blooms: A Scientific Consensus. *Harmful Algae. 2008 Dec;8(1):3-13.* doi: 10.1016/j.hal.2008.08.006.

Hept, M. A., & Greene, L. H. (2023). Extracting high-molecular weight DNA from cyanobacteria using Promega's Wizard® HMW DNA extraction kit with a modified protocol, METIS. MethodsX, 11. https://doi.org/10.1016/j.mex.2023.102341

Ho, J. C., Michalak, A. M., & Pahlevan, N. (2019). Widespread global increase in intense lake phytoplankton blooms since the 1980s. *Nature*, *574*(7780), 667-670.

Huisman, Jef & Codd, Geoffrey & Paerl, Hans & Ibelings, Bas & Verspagen, Jolanda & Visser, Petra. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology.* 16. 10.1038/s41579-018-0040-1.

Huo, D., Gan, N., Geng, R., Cao, Q., Song, L., Yu, G., & Li, R. (2021). Cyanobacterial blooms in China: diversity, distribution, and cyanotoxins. *Harmful Algae, 109*, 102106. https://doi.org/10.1016/J.HAL.2021.102106

Inanc AL. 2011. Chlorophyll: structural properties, health benefits and its occurrence in virgin olive oils. Akadem Gida, 9(2):26–32.

Instituto Nacional de Salud Pública-Gobierno de México. (2010, Junio). Unidad de diagnóstico y análisis molecular. https://www.insp.mx/de-interes/investigacion-en-enfermedades-infecciosas/unidad-de-diagnostico-y-analisis-molecular.htmL

Ji, X., Verspagen, J. M. H., Stomp, M., & Huisman, J. (2017). Competition between cyanobacteria and green algae at low versus elevated CO2: Who will win, and why?. *Journal of Experimental Botany, 68(14),* 3815–3828. https://doi.org/10.1093/jxb/erx027

Jordan P, Fromme P, Witt HT, Klukas O, Saenger W, Kraub N. 2001. Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution. Nature, 411(6840):909–917.

Jungblut A-D, Hawes I, Mountfort D, Hitzfeld B, Dietrich DR, Burns BP, Neilan BA (2005). Diversity within cyanobacterial mat communities in variable salinity meltwater ponds of McMurdo Ice Shelf, Antarctica. *Environ Microbiol 7:519–529*

Kayongo, A., Bartolomaeus, T. U. P., Birkner, T., Markó, L., Löber, U., Kigozi, E., Atugonza, C., Munana, R., Mawanda, D., Sekibira, R., Uwimaana, E., Alupo, P., Kalyesubula, R., Knauf, F., Siddharthan, T., Bagaya, B. S., Kateete, D.

P., Joloba, M. L., Sewankambo, N. K., Jjingo, D., Forslund, S. K. (2023). Sputum Microbiome and Chronic Obstructive Pulmonary Disease in a Rural Ugandan Cohort of Well-Controlled HIV Infection. *Microbiology spectrum, 11(2), e0213921. Advance online publication.* https://doi.org/10.1128/spectrum.02139-21

Keimowitz A. R., Mailloux B.J., Wovkulich K., Harkness J. S., Ross J.M. y Chillrud S. N. (2017).El tampón redox de manganeso limita la liberación de arsénico de sedimentos contaminados, Union Lake, Nueva JerseyAppl. *Geochem.,77 (2017), págs . 24-30*

Kerfoot W.C., Harting S., Rossmann R. and Robbins J.A. (1999). Anthropogenic copper inventories and mercury profiles from Lake Superior: evidence for mining impacts *J. Great Lakes Res., 25 (4), pp. 663-682*, 10.1016/s0380-1330(99)70769-0

Kolb, A. W., Chau, V. Q., Miller, D. L., Yannuzzi, N. A., & Brandt, C. R. (2024). Phylogenetic and Recombination Analysis of Clinical Vitreous Humor-Derived Adenovirus Isolates Reveals Discordance Between Serotype and Phylogeny. *Investigative ophthalmology & visual science, 65(2), 12.* https://doi.org/10.1167/iovs.65.2.12

Kong M., Zhu Y., Han J., Zhang S., Li J., Xu X., Chao J., Zhang Y. and Gao Y. (2021). Interactions of heavy metal elements across sediment-water interface in Lake Jiaogang. *Environ. Pollut., 286 (2021), Article 117578*

Krueger K.M., Vavrus C.E., Lofton M.E., McClure R.P., Gantzer P., Carey C.C. and Schreiber M.E. (2020). Iron and manganese fluxes across the sediment-water interface in a drinking water reservoir Water Res*., 182, Article 116003*

Kurtz, T., Zeng, T., & Rosario-Ortiz, F. L. (2021). Photodegradation of cyanotoxins in surface waters. *Water Research, 192,* 116804. https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116804

Lappalainen Antii, Tammi Jouni and Puro-Tahvanainen Annuka. (2007). The effects of nickel smelters on water quality and littoral fish species composition in small watercourses in the border area of Finland, Norway and Russia. *Boreal Environment Research, 2007, v. 12, n. 4, p. 455*

Leavitt Peter, Cumming B., Smol P., Reasoner M., Pienitz R., Hodgson D. (2003). Climatic control of ultraviolet radiation effects on lakes. *Limnol. Oceanogr., 48(5), 2003, 2062–2069*

Leybourne M.I. and Cameron E.M. (2008). Source, transport, and fate of rhenium, selenium, molybdenum, arsenic, and copper in groundwater associated with

porphyry-Cu deposits, Atacama Desert, Chile *Chem. Geol., 247 (1–2) (2008), pp. 208-228*, 10.1016/j.chemgeo.2007.10.017

Lê Cao, K. A., Costello, M. E., Lakis, V. A., Bartolo, F., Chua, X. Y., Brazeilles, R., & Rondeau, P. (2016). MixMC: A Multivariate Statistical Framework to Gain Insight into Microbial Communities. *PloS one, 11(8), e0160169*. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160169

Li Y.Y., Gao B., Xu D.Y., Lu J., Zhou H.D. and Gao L. (2022). Heavy metals in the water-level-fluctuation zone soil of the Three Gorges Reservoir, China: remobilization and catchment-wide transportation J. *Hydrol., 612 (2022), Article 128108*

Lund, P. J., Gates, L. A., Leboeuf, M., Smith, S. A., Chau, L., Lopes, M., Friedman, E. S., Saiman, Y., Kim, M. S., Shoffler, C. A., Petucci, C., Allis, C. D., Wu, G. D., & Garcia, B. A. (2022). Stable isotope tracing in vivo reveals a metabolic bridge linking the microbiota to host histone acetylation. *Cell reports, 41(11), 111809.* https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111809

Luo, W.; Chen, H.; Lei, A.; Lu, J.; Hu, Z. Estimating Cyanobacteria Community Dynamics and its Relationship with Environmental Factors. Int. J. *Environ. Res. Public Health 2014, 11, 1141-1160*. https://doi.org/10.3390/ijerph110101141

Lv, J., Ye, Y., Zhong, Y., Liu, W., Chen, M., Guo, A., Lv, J., & Ma, H. (2022). Microbial diversity and functional genes of red vinasse acid based on metagenome analysis. *Frontiers in microbiology, 13, 1025886.* https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1025886

Madera-Parra C. A., Peña-Salamanca E. J., & Solarte-Soto J. A. (2014). Efecto de la concentración de metales pesados en la respuesta fisiológica y capacidad de acumulación de metales de tres especies vegetales tropicales empleadas en la fitorremediación de lixiviados provenientes de rellenos sanitarios. *Ingeniería y Competitividad, 16 (2), 179-188.*

Marizzoni, M., Gurry, T., Provasi, S., Greub, G., Lopizzo, N., Ribaldi, F., Festari, C., Mazzelli, M., Mombelli, E., Salvatore, M., Mirabelli, P., Franzese, M., Soricelli, A., Frisoni, G. B., & Cattaneo, A. (2020). Comparison of Bioinformatics Pipelines and Operating Systems for the Analyses of 16S rRNA Gene Amplicon Sequences in Human Fecal Samples. *Frontiers in microbiology, 11, 1262.* https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01262

Martin M. Cutadapt Removes Adapter Sequences From High-Throughput Sequencing Reads EMBnet J. 17, 10–12. https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200

Martín, Beatriz & Pellicer, Silvia & Bes, María & Vela, Laura & Sevilla, Emma. (2007). Las Microcistinas. *Revista de la Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza*, ISSN 0370-3207, Nº. 62, 2007, pags. 135-146. 62.

Mavila, M. A. G., Moreno, S. L. E., Mashacuri, H. N. R., Castro, C. G., Vásquez, M. M. T., Marapara, J. L., & Gómez, J. C. C. (2021). Aislamiento y caracterización molecular y bioquímica de una cianobacteria (*Anabaena sp*.) del río Amazonas, Loreto-Perú.

Mataloni G., Tell G., Wynn-Williams D. (2000). Estructura y diversidad de las comunidades algales del suelo de la punta Cierva (península Antártica) Polar *Biol. , 23 (2000) , págs. 205-211*

Mejía T. (2017). Investigación Correlacional: Definición, Tipos y Ejemplos. https://www.lifeder.com/investigacioncorrelacional/

Mendoza-Carbajal, Leonardo H. (2016). El género Sphaerocavum y dominancia de S. brasiliense y Microcystis wesenbergii (Microcystaceae, Cyanophyceae) en la floración algal de la laguna Huacachina, Perú. *Revista Peruana de Biología, 23(1), 53-60.* https://dx.doi.org/10.15381/rpb.v23i1.11835

MINAM. (2017). Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen disposiciones complementarias. El peruano, 6–9.

Ministerio de Salud de la Nación (Buenos Aires – Argentina). (2015). Cianobacterias como determinantes ambientales de la salud. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2015-cianobacterias-preguntasyrespuestas_nuevo.pdf

Montoya T, Haydee, Gómez C, José, Mariano A, Mauro, Jara P, Enoc, Mayta H, Egma, & Benavente P, Mario. (2017). Diversidad fenotípica de la cianobacteria Pseudophormidium tenue (Oscillatoriales, Microcoleaceae), nuevo reporte para el Perú. *Arnaldoa*, *24*(1), 369-382. https://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.241.24119

Mulvany, J. G. (1969). Membrane Filter Techniques in Microbiology. In Chapter VII Membrane Filter Techniques in Microbiology, (pp. 205–253).

Munandar, B., Wirasatriya, A., & Nugroho, D. (2023). Distinct mechanisms of chlorophyll-a blooms occur in the Northern Maluku Sea and Sulu Sill

revealed by satellite data. *Dynamics of Atmospheres and Oceans, 102 101360.* https://doi.org/10.1016/j.dynatmoce.2023.101360

Mwaura Francis, Koyo Anderson O .and Zech Ben. (2004). Cyanobacterial blooms and the presence of cyanotoxins in small high altitude tropical headwater reservoirs in Kenya. *Journal of Water and Health 02.1*.

Nakamura A, Akai M, Yoshida E, Taki T, Watanabe T. 2003. Reversed-phase HPLC determination of chlorophyll a and phylloquinone in photosystem I of oxygenic photosynthetic organisms. Universal existence of one chlorophyll a molecule in Photosystem I. *Eur J Biochem, 270:2446–2458*.

Narayanan Sujatha, Loh Rebecca K, Bannister Wayne and Taylor David. (2022). Evaluation of a diatom eDNA-based technique for assessing water quality variations in tropical lakes and reservoirs, Ecological Indicators, *Volume 141,109108, ISSN 1470-160X*. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109108.

National Human Genome Research Institute. (2023, Marzo). Glosario de términos genómicos y genéticos. https://www.genome.gov/es/genetics-glossary.

Ndlela, Luyanda. (2016). An overview of cyanobacterial bloom occurrences and research in Africa over the last decade. *Harmful Algae. 60*. 11-26. 10.1016/j.hal.2016.10.001.

Nelson, C.; Lamothe, P. (1993). Heavy metals anomalies in the Tinto and Odiel river and estuary system, Spain. *Estuar. Res. Fundat.16 (3A)*: 496-511. 1993.

O'Farrell, Motta, M. Forastier, W. Polla, S. Otaño, N. Meichtry, M. Devercelli, R. (2019). Lombardo Ecological meta-analysis of bloom-forming planktonic Cyanobacteria in Argentina. *Harmful Algae, 83 (2019), p. 1e13*, 10.1016/j.hal.2019.01.004

Ormachea M., et al. (2013).Geogenic arsenic and other trace elements in the shallow hydrogeologic system of Southern Poopo Basin, Bolivian Altiplano *J. Hazard. Mater., 262 (2013), pp. 924-940*

Otzen Tamara & Manterola Carlos. (2017). Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. *International Journal of Morphology, 35(1), 227-232.* https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022017000100037

Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Toxicidad de metales pesados y medio ambiente. Exp Suppl. 2012; 101 :133-64. [Artículo gratuito de PMC] [PubMed] [Lista de referencias]

Pabón S., Benítez R., Sarria-Villa A. y Gallo J. (2020). Water contamination by heavy metals, analysis methods and removal technologies. *A review. Entre Ciencia e Ingeniería, vol. 14, no. 27, enero-junio de 2020, páginas 9-18*

Paerl, H. W., & Huisman, J. (2009). Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. Environmental microbiology reports, 1(1), 27–37. https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2008.00004.x

Pareek, S., Sagar, N. A., Sharma, S., Kumar, V., Agarwal, T., González-Aguilar, G. A., & Yahia, E. M. (2017). Chlorophylls: Chemistry and biological functions. Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health: Second Edition, 1(May), 269–284. https://doi.org/10.1002/9781119158042.ch14

Pernía B., Sousa A. D. E., Reyes R. y Castrillo M. (2008). Biomarcadores de contaminación por cadmio en plantas. *Interciencia 33 (2), 112-119.*

Pérez, Soraci, T. (2008). Cianobacterias Y Cianotoxinas: Rol de las microcistinas en la salud humana y animal y su detección en muestras de agua. 28(7000), 5–13.

Pick, F. R. (2016). Blooming algae: A Canadian perspective on the rise of toxic cyanobacteria. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 73(7)*, 1149–1158. https://doi.org/10.1139/cjfas-2015-0470

Pickhardt PC, Folt CL, Chen CY, Klaue B, Blum JD. Algal blooms reduce the uptake of toxic methylmercury in freshwater food webs. *Proc Natl Acad Sci USA 2002;99(7):4419–23.*

Ponting J., Kelly T.J., Verhoef A., Watts M.J. and Sizmur T. (2021). The impact of increased flooding occurrence on the mobility of potentially toxic elements in floodplain soil – a review *Sci. Total, Environ., 754 (2021), Article 142040*

Ponton Dominic y Hare Landis. (2009). Assessment of Nickel Contamination in Lakes Using the Phantom Midge Chaoborus As a Biomonitor. *Environmental Science & Technology. doi: 10.1021/es900920b*

Radway JC, Wilde EW, Whitaker MJ, Weissman JC. (2001). Screening of algal strains for metal removal capabilities. *J Appl Physiol 2001;13:451–5.*

Ramírez, R., E. Martínez, M. D. Martínez & C. Eslava. (2004). Cianobacterias, microorganismos del fitoplancton y su relación con la salud humana. Microbiología Básica, NE-SEMARNAT, México, pp. 83-106.

Rocha Maria, Vieira Grace, Bergamasco Rosângela, Guttierres Raquel, (2024). Cyanobacteria and cyanotoxins in the environment and water intakes: Reports, diversity of congeners, detection by mass spectrometry and their impact on health, Toxicon, Volume 238, 107589, ISSN 0041-0101, https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107589.

Roegner, Amber & Brena, Beatriz & Gonzalez-Sapienza, Gualberto & Puschner, Birgit. (2014). Microcystins in potable surface waters: Toxic effects and removal strategies. *Journal of applied toxicology: JAT. 34.*10.1002/jat.2920.

Rondon, M. R., Goodman, R. M., & Handelsman, J. (1999). The Earth's bounty: Assessing and accessing soil microbial diversity. *Trends in Biotechnology, 17(10),* 403–409. https://doi.org/10.1016/S0167-7799(99)01352-9

Ruiz Samboni, N. E., Escobar Carvajal, Y., & Escobar, J. C. (1991). A review of physical-chemical parameters as water quality and contamination indicators. Chemische Berichte, 124(10), 2245–2248. https://doi.org/10.1002/cber.19911241016

Runnegar M, Falconer I and Silver J. (1981). Deformation of isolated rat hepatocytes by a peptide hepatotoxin from the blue-green alga *Microcyatis aeruginosa, Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmac, exp. Path*. 317, 268-272.

Salomón, S., Rivera-Rondón, C. A., & Zapata, Á. M. (2020). Cyanobacterial blooms in Colombia: State of knowledge and research needs in the context of climate global change. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Fisicas y Naturales, 44(171),* 376–391. https://doi.org/10.18257/raccefyn.1050

Sambrook J, y Russell D. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. 3ra Ed. New York:Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.

Sarret G. et al. (2019). Extreme arsenic bioaccumulation factor variability in Lake Titicaca, Bolivia. *Sci. Rep., 9 (1) (2019), p. 10626*

Schopf J. William. (1993). Microfossils of the Early Archean Apex Chert: New Evidence of the Antiquity of Life. Science260,640-646(1993). DOI:10.1126/science.260.5108.640

Schmieder R, Edwards R. Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. Bioinformatics. 2011;27(6):863-864.

Sellner, Kevin & Doucette, Gregory & Kirkpatrick, Gary. (2003). Harmful algal blooms: Causes, impacts and detection. *Journal of industrial microbiology & biotechnology. 30. 383-406.* 10.1007/s10295-003-0074-9.

Silva LM, Jacobs DT, Allard BA, Fields TA, Sharma M, Wallace DP, Tran PV. (2018). Inhibition of Hedgehog signaling suppresses proliferation and microcyst formation of human Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease cells. *Sci Rep. 2018 Mar 21;8(1):4985*. doi: 10.1038/s41598-018-23341-2.

Sóndergaard Martin, Larsen Sóren, Jórgensen Torben, Jeppesen Erik. (2011). Using chlorophyll a and cyanobacteria in the ecological classification of lakes, *Ecological Indicators, Volume 11, Issue 5, Pages 1403-1412*. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.03.002.

Sullivan K.V., Kidder J.A., Junqueira T.P., Vanhaecke F., M.I. Leybourne M.I. (2022). Emerging applications of high-precision Cu isotopic analysis by MC-ICP-MSSci. *Total Environ., 838 (2022), Article 156084*, 10.1016/j.scitotenv.2022.156084

Svrcek, Clark & Smith, Daniel. (2004). Cyanobacteria toxins and the current state of knowledge on water treatment options: A review. *Journal of Environmental Engineering and Science. 3. 155-185.* 10.1139/s04-010.

Taiz L, Zeiger E, Moller IM, Murphy A. (2006). Chlorophyll biosynthesis. *Plant Physiology,* 4th edn. Sinauer: Sunderland.

Tanvir, R. U., Hu, Z., Zhang, Y., & Lu, J. (2021). Cyanobacterial community succession and associated cyanotoxin production in hypereutrophic and eutrophic freshwaters. *Environmental Pollution, 290(August), 118056.* https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118056

Tanunchai, B., Ji, L., Schroeter, S. A., Wahdan, S. F. M., Hossen, S., Delelegn, Y., Buscot, F., Lehnert, A. S., Alves, E. G., Hilke, I., Gleixner, G., Schulze, E. D., Noll, M., & Purahong, W. (2023). FungalTraits vs. FUNGuild: Comparison of Ecological Functional Assignments of Leaf- and Needle-Associated Fungi Across 12 Temperate Tree Species. *Microbial ecology, 85(2), 411–428.* https://doi.org/10.1007/s00248-022-01973-2

Tapia J., Murray J., Ormachea M., Tirado N. and Nordstrom D.K. (2019). Origin, distribution, and geochemistry of arsenic in the Altiplano-Puna plateau of Argentina, Bolivia, Chile, and Perú. *Sci. Total Environ., 678 (2019), pp. 309-325*

Taton A, Grubisic S, Brambilla E, De Wit R, Wilmotte A (2003). Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of Lake Fryxell (Mc Murdo Dry Valleys, Antarctica): A morpho-logical and molecular approach. *Appl Environ Microbiol 69:5157–5169*

Taton A, Grubisic S, Balhasart P, Hodgson DA, Laybourn-Parry J, Wilmotte A (2006a) Biogeographical distribution and ecological ranges of benthic cyanobacteria in East Antarctic lakes. *FEMS Microbiol Ecol 57:272–289*

Taton A, Grubisic S, Ertz D, Hodgson DA, Piccardi R, Biondi N, Tredici MR, Mainini M, Losi D, Marinelli F, Wilmotte A (2006b) Polyphasic study of antarctic cyanobacterial strains. *J Phycol 42:1257–1270*

Trace2O. (n.d.). Metalyzer® Field Pro HM3000.

Valério Elisabete, Chambel Lélia, Paulino Sérgio, Faria Natália, Pereira Paulo, R. T. (2006). Multiplex PCR for Detection of Microcystins-Producing Cyanobacteria from Freshwater Samples. Far Eastern Entomologist, 165(April), 16. https://doi.org/10.1002/toxWhitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Jun 9;95(12):6578-83. doi: 10.1073/pnas.95.12.6578. PMID: 9618454.

Vela, L.; Sevilla, E.; Gonzalez, C.; Bes, M.T.; Fillat, M.F.; Peleato, M.L. (2008). Exploring the interaction of microcystin-LR with proteins and DNA. Toxicol. In Vitro 2008, 22, 1714–1718.

Vendrell-Puigmitja L., Abril M., Proia L., Espinosa A.C., Ricart M., Oatley-Radcliffe D.L., Williams P.M., Zanainc M., Llenas L.. (2020). Assessing the effects of metal mining effluents on freshwater ecosystems using biofilm as an ecological indicator: Comparison between nanofiltration and nanofiltration with electrocoagulation treatment technologies. E*col. Ind., 113 (2020), Article 106213*, 10.1016/j.ecolind.2020.106213

Wang, C., An, W., Guo, Q., Jia, Z., Wang, Q., Yu, J., et al., (2020). Assessing the hidden social risk caused by odor in drinking water through population behavioral responses using economic burden. *Water Res. 172, 1–8.* https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115507.

Wang, X., Zhang, Z., Li, B., Hao, W., Yin, W., Ai, S., Han, J., Wang, R., & Duan, Z. (2022). Depicting Fecal Microbiota Characteristic in Yak, Cattle, Yak-Cattle Hybrid and Tibetan Sheep in Different Eco-Regions of Qinghai-Tibetan Plateau. *Microbiology spectrum, 10(4), e0002122*. https://doi.org/10.1128/spectrum.00021-22

Wiegand, C., & Pflugmacher, S. (2005). Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites a short review. *Toxicology and Applied Pharmacology, 203*(3 SPEC. ISS.), 201–218. https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.11.002

Yang Yunxi, Yang Laquin, Liu Benle, Wang Zehao, Yu Yuechen, Bo Luji, Li Bing. (2023). Accumulation, migration and health risk of trace metals in a soil-strawberry-human system of the Yangtze River Delta region, China. *Environmental Research, Volume 231, Part 3.116310.* https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116310.

Yin N.H., Sivry Y., Benedetti M.F., Lens P.N. and Hullebusch E.D. (2015). Application of Zn isotopes in environmental impact assessment of Zn-Pb metallurgical industries: a mini review *Appl. Geochem., 64 (2015), pp. 128-135*, 10.1016/j.apgeochem.2015.09.016

Zaccaroni, A. and Scaravelli, D. (2008) Toxicity of Sea Algal Toxins to Humans and Animals. In: Evangelista, V., et al., Eds., *Algal Toxins: Nature, Occurrence, Effect and Detection, Springer Science + Business Media B.V., Berlin,*

Zapata, F. B. (2004). Soil Bacterial Diversity: Microbial Culture-Independent Methods of Study and Biotechnological Implications*. Agrociencia, 38(6),* 583–592.

Zhang Jifeng, Shi Kun, Paerl Hans, Rühland Kathleen, Yuan Yanli, Wang Rong, Chen Jie, Ge Mengjuan, Zheng Lingling, Zhang Zhiping, Qin Boqiang, Liu Jianbao, Smol John. (2023). Ancient DNA reveals potentially toxic cyanobacteria increasing with climate change. *Water Research, Volume 229, 119435.* https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.119435.

VIII. Anexos

Anexo 1 ECA-Agua Categoría 1: Poblacional y recreacional

Parámetros	Unidad de medida	A1 Aguas que pueden ser potabilizadas con desinfección	A2 Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional	A3 Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento avanzado
FÍSICOS- QUÍMICOS				
Aceites y Grasas	mg/L	0,5	1,7	1,7
Cianuro Total	mg/L	0,07	**	**
Cianuro Libre	mg/L	**	0,2	0,2
Cloruros	mg/L	250	250	250
Color (b)	Color verdadero	15	100 (a)	**
Conductividad	(µS/cm)	1 500	1 600	**
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	mg/L	3	5	10
Dureza	mg/L	500	**	**
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/L	10	20	30
Fenoles	mg/L	0,003	**	**
Fluoruros	mg/L	1,5	**	**
Fósforo Total	mg/L	0,1	0,15	0,15
Materiales Flotantes de Origen Antropogénico		Ausencia de material flotante de origen antrópico	Ausencia de material flotante de origen antrópico	Ausencia de material flotante de origen antrópico
Nitratos (NO -) (c) **3**	mg/L	50	50	50
Nitritos (NO -) (d) **2**	mg/L	3	3	**
Amoniaco- N	mg/L	1,5	1,5	**
Oxígeno Disuelto (valor mínimo)	mg/L	≥ 6	≥ 5	≥ 4
Potencial de Hidrógeno (pH)	Unidad de pH	6,5 – 8,5	5,5 – 9,0	5,5 - 9,0
Sólidos Disueltos Totales	mg/L	1 000	1 000	1 500
Sulfatos	mg/L	250	500	**
Temperatura	°C	Δ 3	Δ 3	**
Turbiedad	UNT	5	100	**
INORGÁNICOS				
Aluminio	mg/L	0,9	5	5
Antimonio	mg/L	0,02	0,02	**
Arsénico	mg/L	0,01	0,01	0,15
Bario	mg/L	0,7	1	**
Berilio	mg/L	0,012	0,04	0,1
Boro	mg/L	2,4	2,4	2,4

Parámetros	Unidad de medida	A1 Aguas que pueden ser potabilizadas con desinfección	A2 Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional	A3 Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento avanzado
Cadmio	mg/L	0,003	0,005	0,01
Cobre	mg/L	2	2	2
Cromo Total	mg/L	0,05	0,05	0,05
Hierro	mg/L	0,3	1	5
Manganeso	mg/L	0,4	0,4	0,5
Mercurio	mg/L	0,001	0,002	0,002
Molibdeno	mg/L	0,07	**	**
Níquel	mg/L	0,07	**	**
Plomo	mg/L	0,01	0,05	0,05
Selenio	mg/L	0,04	0,04	0,05
Uranio	mg/L	0,02	0,02	0,02
Zinc	mg/L	3	5	5
II. CIANOTOXINAS				
Microcistina-LR	mg/L	0.001	0.001	**

Nota. (MINAM, 2017)

Anexo 2 ECA-Agua Categoría 4: Conservación del Medio Acuático

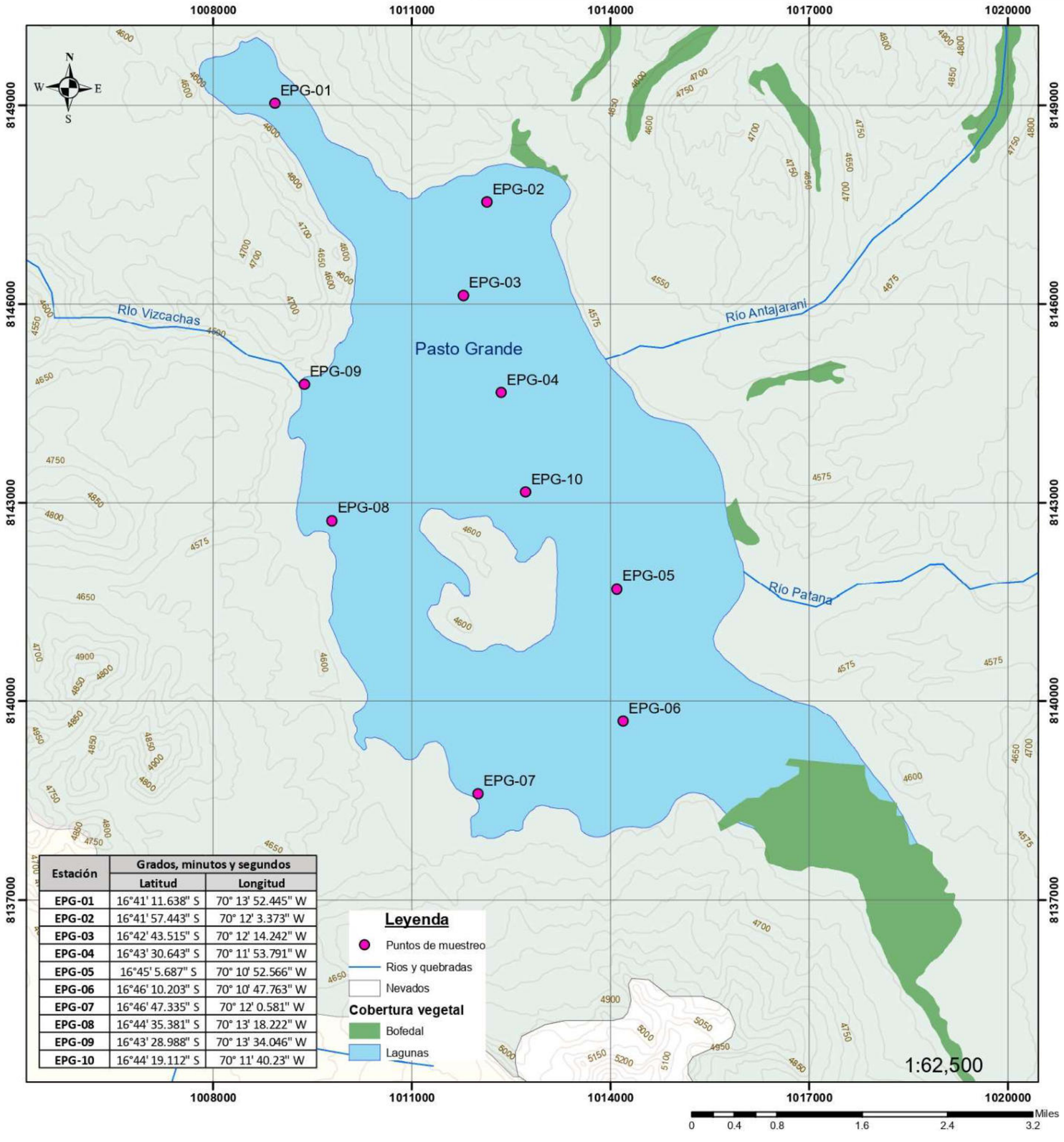
Parámetros	Unidad de medida	E1: Lagunas y lagos	E2: Ríos		E3: Ecosistemas costeros y marinos	
			Costa y sierra	Selva	Estuarios	Marinos
		FÍSICOS- QUÍMICOS				
Aceites y Grasas (MEH)	mg/L	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Cianuro Libre	mg/L	0,0052	0,0052	0,0052	0,001	0,001
Color (b)	Color verdadero Escala Pt/Co	20 (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 -) (c) 3	mg/L	13	13	13	200	200
Amoniaco Total (NH) 3	mg/L	(1)	(1)	(1)	(2)	(2)

Parámetros	Unidad de medida	E1: Lagunas y lagos	E2: Ríos		E3: Ecosistemas costeros y marinos	
			Costa y sierra	Selva	Estuarios	Marinos
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

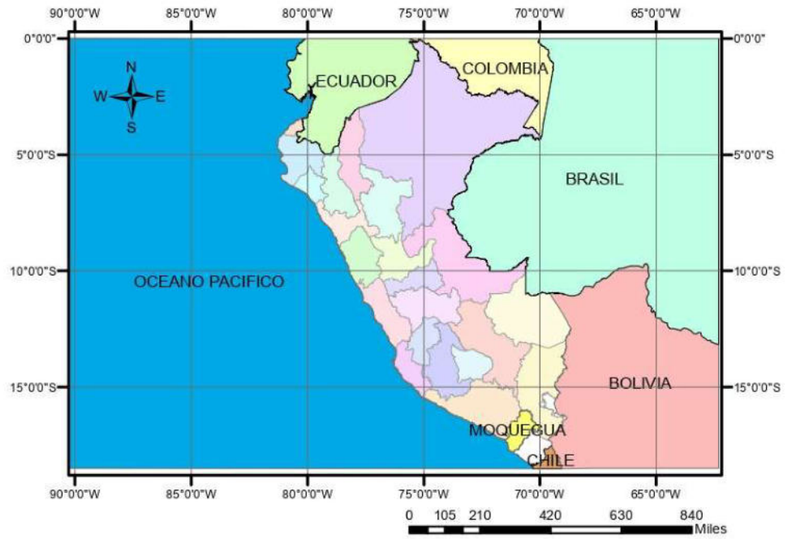
Nota. (MINAM, 2017)

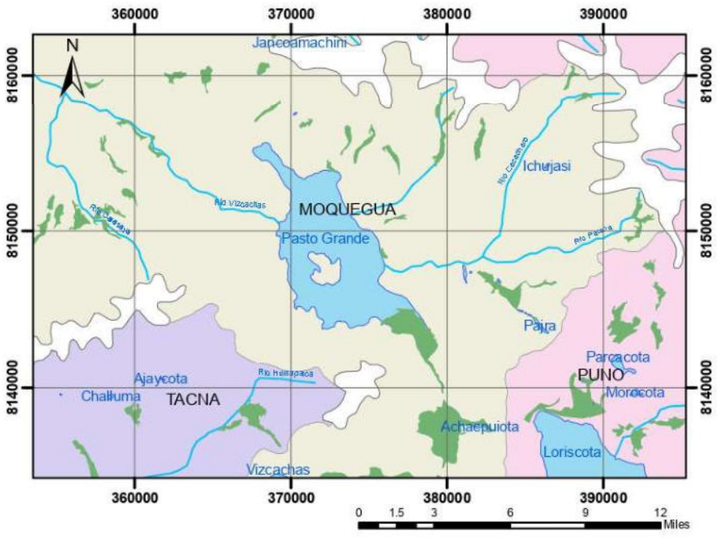
Anexo 3 Plano de ubicación de los puntos de muestreo en el embalse Pasto Grande

Puntos de muestreo del embalse Pasto Grande



Estación	Grados, minutos y segundos	
	Latitud	Longitud
EPG-01	16°41' 11.638" S	70° 13' 52.445" W
EPG-02	16°41' 57.443" S	70° 12' 3.373" W
EPG-03	16°42' 43.515" S	70° 12' 14.242" W
EPG-04	16°43' 30.643" S	70° 11' 53.791" W
EPG-05	16°45' 5.687" S	70° 10' 52.566" W
EPG-06	16°46' 10.203" S	70° 10' 47.763" W
EPG-07	16°46' 47.335" S	70° 12' 0.581" W
EPG-08	16°44' 35.381" S	70° 13' 18.222" W
EPG-09	16°43' 28.988" S	70° 13' 34.046" W
EPG-10	16°44' 19.112" S	70° 11' 40.23" W





UNAM	UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA	
Facultad de: Ingeniería y Arquitectura	**Escuela Profesional:** Ingeniería Ambiental	
Elaborado por: Fiorella Caroline Valdez Espinoza	**Escala:** 1: 62 500	

Anexo 4 Parámetros físico químicos de los puntos de muestreo en el embalse Pasto Grande

Tabla 17

Parámetros físico-químicos de los puntos de muestreo

Punto de muestreo	*Temperatura*	*pH*	*DBO (mg/L)*	*Conductividad (µS/cm)*	*TDS (mg/L)*	*Turbiedad (UNT)*	*Salinidad (ppt)*
EPG-01	8.2	4.27	14.05	674.7	438.75	7.12	0.33
EPG-02	12.4	4.21	12.87	1430	929.5	4.79	0.72
EPG-03	8.6	4.26	14.08	693	450.45	4.07	0.34
EPG-04	7.21	4.25	20.07	703.1	456.95	5.43	0.34
EPG-05	9.35	4.35	19.47	702	456.3	52.7	0.34
EPG-06	5.4	4.26	18.87	700.6	456.65	3.54	0.34
EPG-07	10	4.3	13.45	683.8	444.6	2.24	0.35
EPG-08	10.4	4.28	12.76	707	461.5	4.22	0.35
EPG-09	12.2	4.36	15.15	707	461.5	1.28	0.35
EPG-10	7.8	4.97	11.26	679.7	454.35	5.89	0.33

Figura 28

Promedio de temperatura del agua en el embalse Pasto Grande en época de estiaje

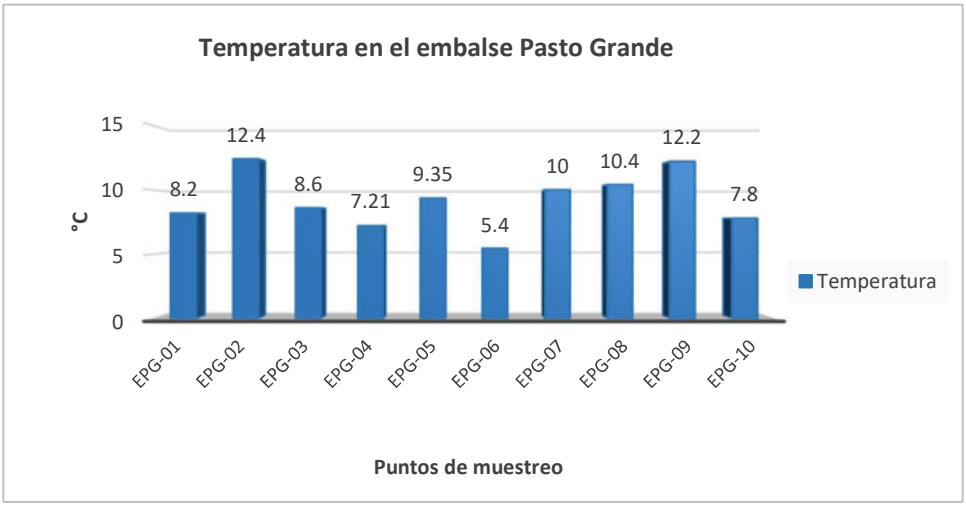


Figura 29

Valor de la Conductividad eléctrica de los puntos de muestreo en relación a los ECA Categoría 1 y Categoría 4

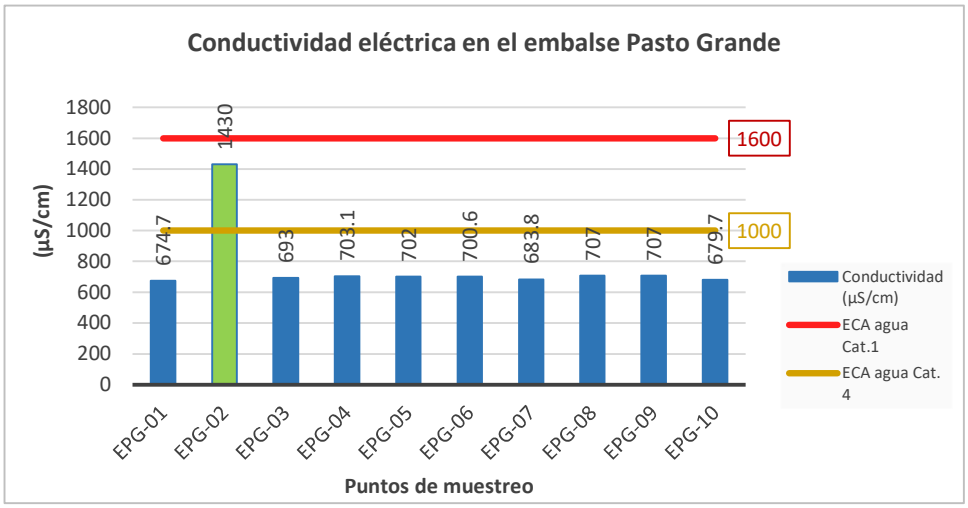


Figura 30

Concentración de pH en los puntos de muestreo en relación a los ECA-agua Categoría 1 y Categoría 4

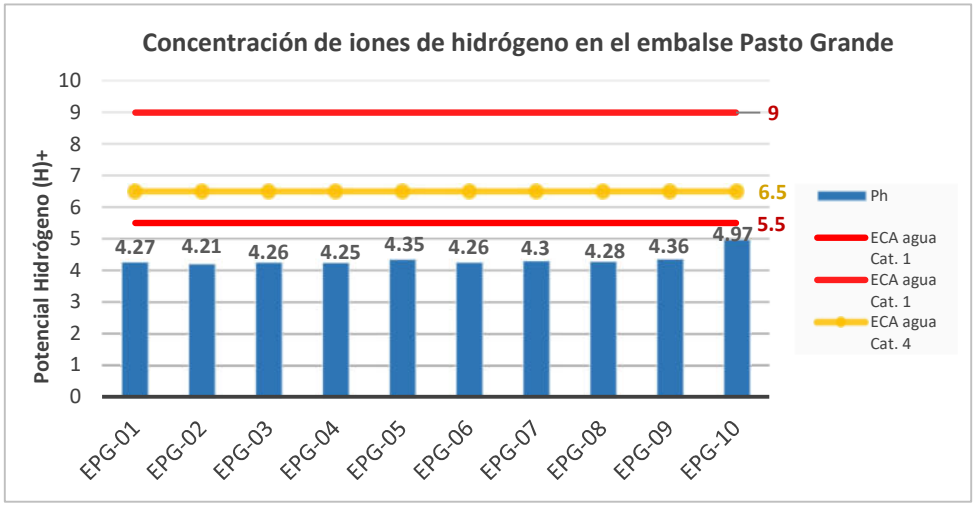


Figura 31

Concentración de DBO en los puntos de muestreo en relación a los ECA-Agua Categoría 1 y Categoría 4

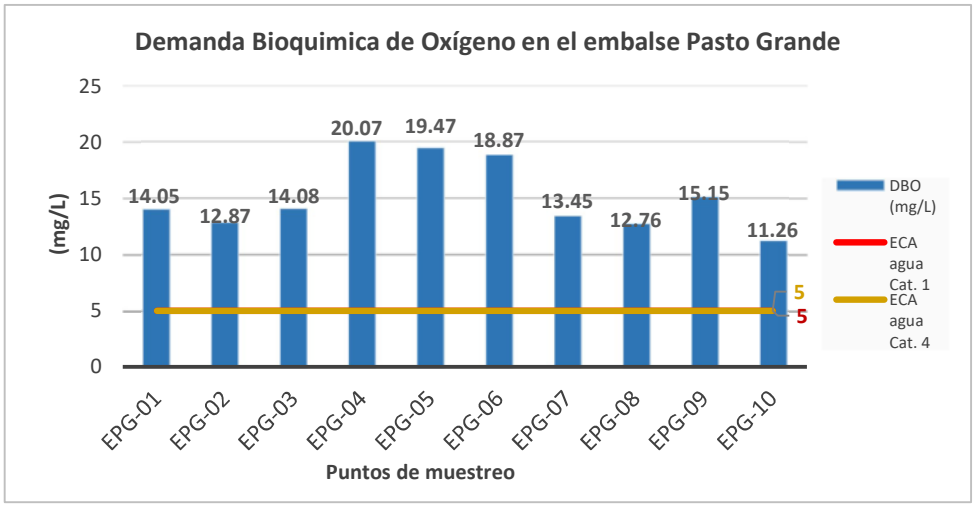


Figura 32

Concentración de TDS en los puntos de muestreo en relación a los ECA-Agua Categoría 1 y Categoría 4

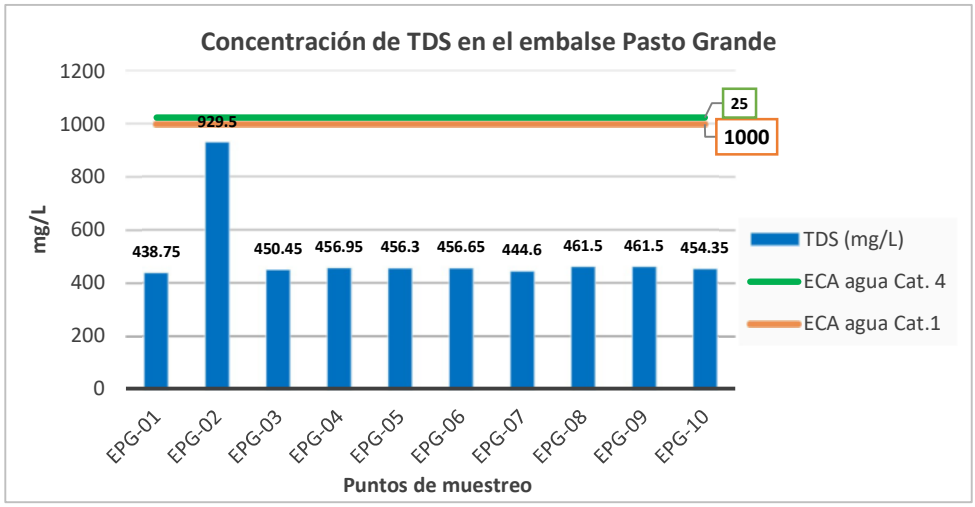


Tabla 18

Concentración de metales pesados en aguas del embalse Pasto Grande

Punto de muestreo	Metalyzer Hg	Metalyzer As	Metalyzer Mn	Metalyzer Ni	Metalyzer Cd	Metalyzer Cu	Metalyzer Se	Metalyzer Pb	Metalyzer Zn	Metalyzer Cr
EPG-01	0.070	0.051	0.000	0.000	0.133	0.002	0.000	0.002	0.014	0.000
EPG-02	0.420	0.015	0.000	>0.002	0.000	0.250	0.004	> 0.0001	> 0.001	0.000
EPG-03	0.084	0.000	0.000	0.005	0.000	0.071	0.000	0.047	0.013	0.000
EPG-04	0.011	0.000	0.002	0.002	0.000	0.071	0.000	> 0.0001	0.023	0.011
EPG-05	0.040	0.000	0.028	0.001	0.000	0.050	0.000	0.038	0.009	0.000
EPG-06	0.129	0.000	0.003	>0.002	0.000	0.342	0.048	0.049	0.042	0.000
EPG-07	0.140	0.000	0.013	>0.002	0.003	> 0.0001	0.002	> 0.0001	> 0.001	0.003
EPG-08	0.057	0.000	0.000	0.107	0.000	0.079	0.017	> 0.0001	> 0.001	0.000
EPG-09	0.057	0.000	0.162	0.107	0.000	0.352	0.000	0.001	0.297	0.736
EPG-10	0.007	0.000	0.000	0.002	0.000	0.098	0.000	> 0.0001	0.012	0.231

Anexo 5 Cuantificación de Clorofila-A en los puntos de muestreo en el embalse Pasto Grande

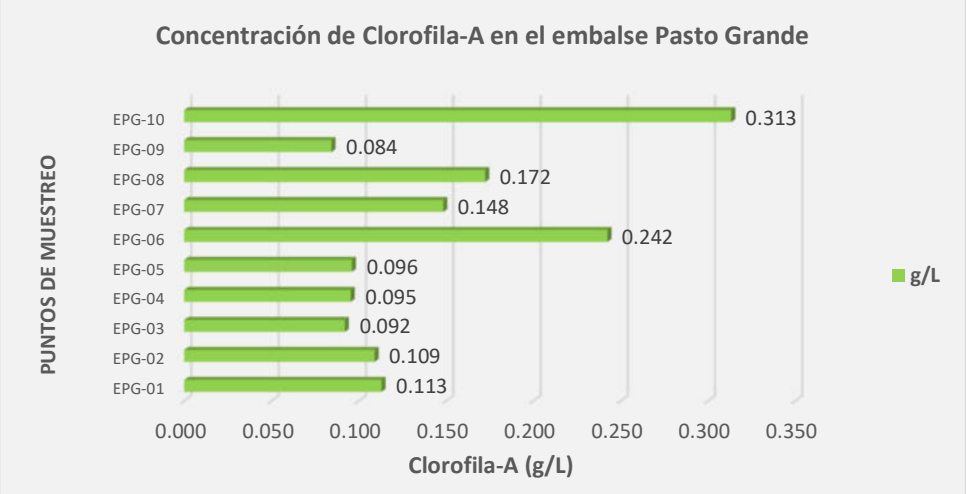
Tabla 19

Concentración de Clorofila-A en los puntos de muestreo

Puntos	Clorofila - A		
	Membrana	filtro	Concentración
	Agua (mL)		g/L
EPG-01	500	0.45 µm	0.113
EPG-02	500	0.45 µm	0.109
EPG-03	500	0.45 µm	0.092
EPG-04	500	0.45 µm	0.095
EPG-05	500	0.45 µm	0.096
EPG-06	500	0.45 µm	0.242
EPG-07	500	0.45 µm	0.148
EPG-08	500	0.45 µm	0.172
EPG-09	500	0.45 µm	0.084
EPG-10	500	0.45 µm	0.313

Figura 33

Concentración de Clorofila-A en los puntos de muestreo del embalse Pasto Grande



Anexo 6 Resultados de la Extracción de ADN Metagenómico (ADNmg)

Tabla 20

Cuantificación de ADN en 2uL de muestra

PUNTOS DE MUESTREO	***Nanodrop OneC***			***QUBIT4 (ng/L)***
	Ácido nucleico (ng/uL)	**A260/A280**	**A260/A230**	
EPG-01	165.640	2.155	1.596	43.5
EPG-02	65.855	2.002	0.931	15.7
EPG-03	21.959	1.921	0.310	5.8
EPG-04	145.035	1.723	0.844	19.8
EPG-05	6.979	2.095	0.081	-
EPG-06	21.808	1.639	0.287	10.4
EPG-07	10.406	2.077	0.127	-
EPG-08	12.243	2.253	0.350	2.57
EPG-09	31.946	1.945	0.662	16.6
EPG-10	23.744	1.875	0.393	5.68

Anexo 7 Informe de análisis de secuenciación taxonómica microbiana (Metabarcoding 16S)

BTS Consultores
Solución e Innovación Biotecnológica

INFORME DE ENSAYO N° 001-16S18S2405074GB

DATOS DEL CLIENTE		
Solicitado por	:	UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
Domicilio legal	:	CALLE ANCASH 1RA CUADRA S/N – MARISCAL NIETO – MOQUEGUA - MOQUEGUA
DATOS DE LA MUESTRA		
Producto declarado	:	MUESTRAS DE ADN METAGENÓMICO
Lugar de muestreo	:	EMBALSE PASTO GRANDE
Fecha de muestreo	:	2023
Procedencia	:	Muestra proporcionada por el solicitante
Cantidad recibida	:	07 muestras x > 40 µl
Presentación, condición de recepción	:	Microtubos de 2ml, refrigerado con gel packs
Identificación y descripción	:	Según se indica
Fecha de recepción	:	28 / 06 / 2024
Fecha de inicio de ensayo	:	11 / 07 / 2024
Fecha de término de ensayo	:	20 / 09 / 2024
Ensayo realizado en	:	Secuenciación: Sangon Biotech Ltd. (China)
		Análisis bioinformático: BTS Consultores S.A.C. (Perú)
Identificado con	:	Metabarcoding 16S
Validez del documento	:	Este documento solo es válido para las muestras descritas

DETALLES DE LAS MUESTRAS ENVIADAS				
Código de muestra	Coordenadas Longitud		Concentración ng/µl *(cuantificado mediante QUBIT)*	Volumen µl
	Latitud	Longitud		
EPG-09	16°43'28.98"S	70°13'34.04"O	55	>40
EPG-04	16°44'30.64"S	70°11'53.79"O	24.7	>40
EPG-02	16°42'57.44"S	70°12'3.37"O	14	>40
EPG-05	16°45'5.68"S	70°10'52.56"O	26.9	>40
EPG-06	16°46'10.20"S	70°10'47.76"O	23.4	>40
EPG-01	16°41'11.63"S	70°13'52.44"O	53	>40
EPG-08	16°46'35.38"S	70°12'18.22"O	31.1	>50

Firmado por:

LUIS ENRIQUE SARAVIA CAHUANA
GERENTE DE I+D+i - CTO R&D&I
BTS CONSULTORES S.A.C.
RUC 20562642145

Tabla 21

Taxones encontrados en el ADN metagenómico a través del secuenciador Illumina (16S)

OTU	*Phylum*	*Class*	*Order*	*Family*	*Genus*	*Species*
OTU6	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Phormidiaceae	*Tychonema CCAP 1459-11B*	*Tychonema CCAP 1459-11B* sp.
OTU73	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Phormidiaceae	*Tychonema CCAP 1459-11B*	*Tychonema CCAP 1459-11B* sp.
OTU56	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	*unclassified Cyanobacteriia*	*unclassified Cyanobacteriia*
OTU28	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Leptolyngbyales	Leptolyngbyaceae	*Chamaesiphon PCC-7430*	*Chamaesiphon PCC-7430* sp.
OTU39	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Pseudanabaenales	Pseudanabaenaceae	*Pseudanabaena PCC-7429*	*Pseudanabaena PCC-7429* sp.
OTU32	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	norank Cyanobacteriia	norank Cyanobacteriia	*norank Cyanobacteriia*	*Cyanobacteriia* sp.
OTU604	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Nostocaceae	*Scytonema UTEX 2349*	*Scytonema UTEX 2349* sp.
OTU1012	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Leptolyngbyales	Leptolyngbyaceae	*Chamaesiphon PCC-7430*	*Chamaesiphon PCC-7430* sp.
OTU991	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Gloeobacterales	Gloeobacteraceae	*Gloeobacter PCC-7421*	*unclassified Gloeobacter PCC-7421*
OTU2513	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Phormidiaceae	*Tychonema CCAP 1459-11B*	*unclassified Tychonema CCAP 1459-11B*
OTU454	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Leptolyngbyales	Leptolyngbyaceae	*Calothrix KVSF5*	*Calothrix KVSF5* sp.
OTU587	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	SepB-3	norank SepB-3	*norank SepB-3*	*SepB-3* sp.
OTU706	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	*unclassified Cyanobacteriia*	*unclassified Cyanobacteriia*
OTU833	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Nostocaceae	*unclassified Nostocaceae*	*unclassified Nostocaceae*

OTU2034	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	*unclassified Cyanobacteriia*	*unclassified Cyanobacteriia*
OTU1378	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	norank Cyanobacteriia	norank Cyanobacteriia	*norank Cyanobacteriia*	*unclassified Cyanobacteriia*
OTU1547	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	*unclassified Cyanobacteriia*	*unclassified Cyanobacteriia*
OTU1638	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Phormidiaceae	*Tychonema CCAP 1459-11B*	*unclassified Tychonema CCAP 1459-11B*
OTU1650	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	*unclassified Cyanobacteriia*	*unclassified Cyanobacteriia*
OTU1988	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Phormidiaceae	*Tychonema CCAP 1459-11B*	*Tychonema bourrellyi CCAP 1459-11B*
OTU1662	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Pseudanabaenales	Pseudanabaenaceae	*Pseudanabaena PCC-7429*	*unclassified Pseudanabaena PCC-7429*
OTU1672	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Phormidiaceae	*Tychonema CCAP 1459-11B*	*Tychonema tenue CCAP 1459-11B*
OTU1686	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	*unclassified Cyanobacteriia*	*unclassified Cyanobacteriia*
OTU1720	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Microcystaceae	*Snowella 0TU37S04*	*Snowella rosea 0TU37S04*
OTU1731	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	*unclassified Cyanobacteriia*	*unclassified Cyanobacteriia*
OTU1756	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Leptolyngbyales	Leptolyngbyaceae	*Chamaesiphon PCC-7430*	*Chamaesiphon subglobosus PCC-7430*
OTU1766	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	*unclassified Cyanobacteriia*	*unclassified Cyanobacteriia*
OTU1802	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	unclassified Cyanobacteriales	*unclassified Cyanobacteriales*	*unclassified Cyanobacteriales*
OTU1976	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Phormidiaceae	*Tychonema CCAP 1459-11B*	*Tychonema tenue CCAP 1459-11B*
OTU2876	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Pseudanabaenales	Pseudanabaenaceae	*norank Pseudanabaenaceae*	*Pseudanabaenaceae sp.*

OTU2108	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	unclassified Cyanobacteriales	*unclassified Cyanobacteriales*	*unclassified Cyanobacteriales*
OTU1989	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Microcystaceae	*unclassified Microcystaceae*	*unclassified Microcystaceae*
OTU562	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Pseudanabaenales	Pseudanabaenaceae	*Pseudanabaena PCC-7429*	*unclassified Pseudanabaena PCC-7429*
OTU2205	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Leptolyngbyales	Leptolyngbyaceae	*Chamaesiphon PCC-7430*	*Chamaesiphon subglobosus PCC-7430*
OTU2484	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	*unclassified Cyanobacteriia*	*unclassified Cyanobacteriia*
OTU2527	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	unclassified Cyanobacteriia	*unclassified Cyanobacteriia*	*unclassified Cyanobacteriia*
OTU2913	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Nostocaceae	*Nostoc PCC-73102*	*unclassified Nostoc PCC-73102*
OTU3074	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Phormidiaceae	*Tychonema CCAP 1459-11B*	*Tychonema tenue CCAP 1459-11B*

Tabla 22

Abundancia de especímenes en cada punto de muestreo

Especies	***EPG-01***	***EPG-02***	***EPG-04***	***EPG-05***	***EPG-06***	***EPG-08***	***EPG-09***
Tychonema CCAP 1459-11B sp.	0	252	288	146	138	200	386
Tychonema CCAP 1459-11B sp.	1	100	3	69	50	77	110
unclassified Cyanobacteriia	81	19	204	65	188	100	35
Chamaesiphon PCC-7430 sp.	403	39	524	185	235	59	286
Pseudanabaena PCC-7429 sp.	0	32	499	8	307	34	14
Cyanobacteriia sp.	1016	15	149	210	96	60	337
Scytonema UTEX 2349 sp.	0	1	2	1	0	1	2
Chamaesiphon PCC-7430 sp.	0	1	0	0	0	0	0
unclassified Gloeobacter PCC-7421	0	0	0	0	0	1	0
unclassified Tychonema CCAP 1459-11B	0	0	1	0	3	0	0
Calothrix KVSF5 sp.	0	1	0	1	0	0	1
SepB-3 sp.	0	0	0	0	0	1	1
unclassified Cyanobacteriia	0	0	0	0	0	0	3
unclassified Nostocaceae	0	0	0	3	0	0	0
unclassified Cyanobacteriia	0	0	0	2	0	0	0
unclassified Cyanobacteriia	0	0	0	0	0	0	2
unclassified Cyanobacteriia	0	0	0	0	0	0	2
unclassified Tychonema CCAP 1459-11B	0	0	4	0	1	0	0
unclassified Cyanobacteriia	0	0	2	0	0	0	0
Tychonema bourrellyi CCAP 1459-11B	0	2	0	0	0	0	2
unclassified Pseudanabaena PCC-7429	0	0	2	0	0	0	0
Tychonema tenue CCAP 1459-11B	0	0	2	0	0	0	0
unclassified Cyanobacteriia	0	0	2	0	0	0	0
Snowella rosea 0TU37S04	0	0	2	0	0	0	0
unclassified Cyanobacteriia	0	0	2	0	0	0	0
Chamaesiphon subglobosus PCC-7430	0	0	2	0	0	0	0
unclassified Cyanobacteriia	0	0	2	0	0	0	0
unclassified Cyanobacteriales	0	0	2	0	0	0	0

Tychonema tenue CCAP 1459-11B	0	2	0	0	0	0	0
Pseudanabaenaceae sp.	0	0	0	0	0	0	1
unclassified Cyanobacteriales	0	0	0	3	0	0	0
unclassified Microcystaceae	0	2	0	0	0	0	0
unclassified Pseudanabaena PCC-7429	0	0	0	0	4	0	0
Chamaesiphon subglobosus PCC-7430	0	0	0	0	2	0	0
unclassified Cyanobacteriia	0	0	0	0	2	0	0
unclassified Cyanobacteriia	0	0	0	0	2	0	0
unclassified Nostoc PCC-73102	0	0	0	0	0	1	0
Tychonema tenue CCAP 1459-11B	0	0	2	0	0	0	0

Tabla 23

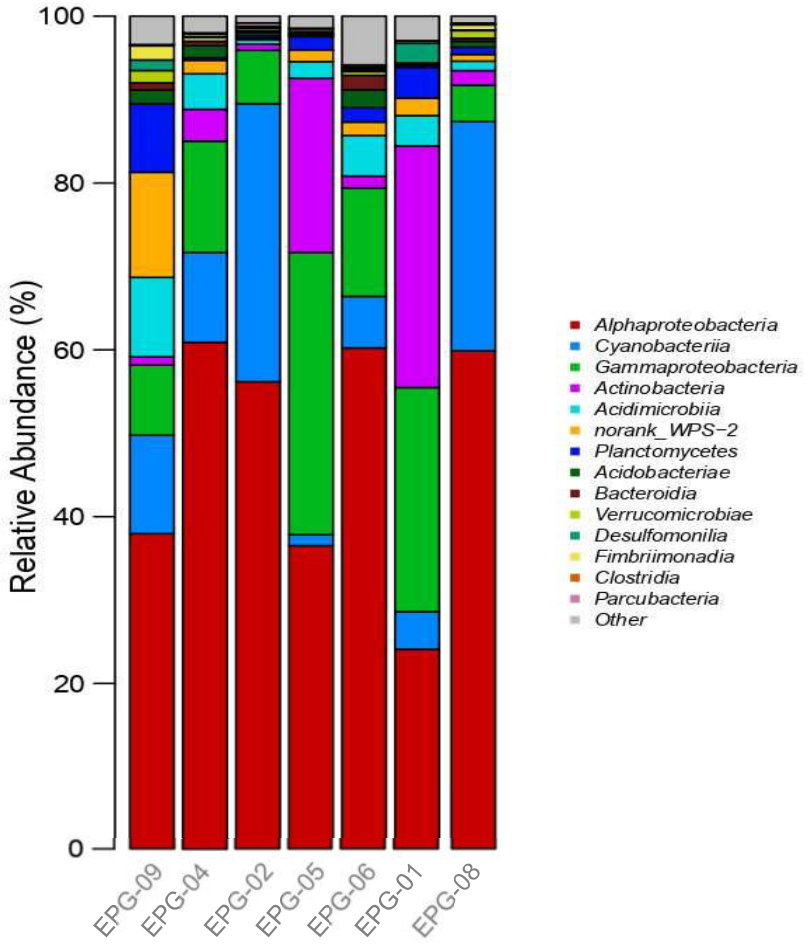
Listado de Cianobacterias productoras de cianotoxinas

Especies	***Toxinas***
Tychonema CCAP 1459-11B sp.	Anatoxina-a (ATX)
Tychonema CCAP 1459-11B sp.	Anatoxina-a (ATX)
unclassified Cyanobacteriia	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
Chamaesiphon PCC-7430 sp.	-
Pseudanabaena PCC-7429 sp.	Microcystins-LR, Microcystins-A, cylindrospermopsins (CYN), Anatoxin-a
Cyanobacteriia sp.	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
Scytonema UTEX 2349 sp.	Axitoxina (STX)
Chamaesiphon PCC-7430 sp.	-
unclassified Gloeobacter PCC-7421	-
unclassified Tychonema CCAP 1459-11B	Anatoxina-a (ATX)
Calothrix KVSF5 sp.	β-Methylamino-l-alanine (BMAA)
SepB-3 sp.	-
unclassified Cyanobacteriia	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
unclassified Nostocaceae	Microcystin (MCs), nodularins (NOD), nodularins-R (NOD-R), anatoxins (ATX), saxitoxins (SXT), β-Methylamino-l-alanine (BMAA), Aeruginosin-865 (Aer-865), anabaenopeptins (Aps), banyasides, cyanopeptolins (CPs), Cyanovirin-N (CV-N), microviridins (MVs), nostocyclopeptides (Ncps), nostopeptolids (Nos), Nostosins (Ns), nostocyclamide, nostodione A (Nd A), nostophycin, nostoweipeptins (W1-W7), nostoginins, nostopeptins, insulapeptolides, nostocyclins, microginins, muscaride A, Psp A-F; Geo Microcistina, saxitoxina
unclassified Cyanobacteriia	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
unclassified Cyanobacteriia	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
unclassified Cyanobacteriia	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
unclassified Tychonema CCAP 1459-11B	Anatoxina-a (ATX)
unclassified Cyanobacteriia	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
Tychonema bourrellyi CCAP 1459-11B	Anatoxina-a (ATX)
unclassified Pseudanabaena PCC-7429	Microcystins-LR, Microcystins-A, cylindrospermopsins (CYN), Anatoxin-a
Tychonema tenue CCAP 1459-11B	Anatoxina-a (ATX)

unclassified Cyanobacteriia	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
Snowella rosea 0TU37S04	Microcystin (MCs)
unclassified Cyanobacteriia	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
Chamaesiphon subglobosus PCC-7430	-
unclassified Cyanobacteriia	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
unclassified Cyanobacteriales	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
Tychonema tenue CCAP 1459-11B	Anatoxina-a (ATX)
Pseudanabaenaceae sp.	Microcystins-LR, Microcystins-A, cylindrospermopsins (CYN), Anatoxin-a
unclassified Cyanobacteriales	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
unclassified Microcystaceae	Microcystin (MCs), Anatoxina-a (ATXs), β-Methylamino-l-alanine (BMAA)
unclassified Pseudanabaena PCC-7429	Microcystins-LR, Microcystins-A, cylindrospermopsins (CYN), Anatoxin-a
Chamaesiphon subglobosus PCC-7430	-
unclassified Cyanobacteriia	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
unclassified Cyanobacteriia	Microcystins, Cylindrospermopsin, Anatoxin-a, Guanitoxin (Anatoxina-a(S)), Nosularin, Lyngbyatoxin, saxitoxins, Beta-Methylamino-L-alanine
unclassified Nostoc PCC-73102	Microcystin (MCs), nodularins (NOD), nodularins-R (NOD-R), anatoxins (ATX), saxitoxins (SXT), β-Methylamino-l-alanine (BMAA), Aeruginosin-865 (Aer-865), anabaenopeptins (Aps), banyasides, cyanopeptolins (CPs), Cyanovirin-N (CV-N), microviridins (MVs), nostocyclopeptides (Ncps), nostopeptolids (Nos), Nostosins (Ns), nostocyclamide, nostodione A (Nd A), nostophycin, nostoweipeptins (W1-W7), nostoginins, nostopeptins, insulapeptolides, nostocyclins, microginins, muscaride A, Psp A-F; Geo Microcistina, saxitoxina
Tychonema tenue CCAP 1459-11B	Anatoxina-a (ATX)

Figura 34

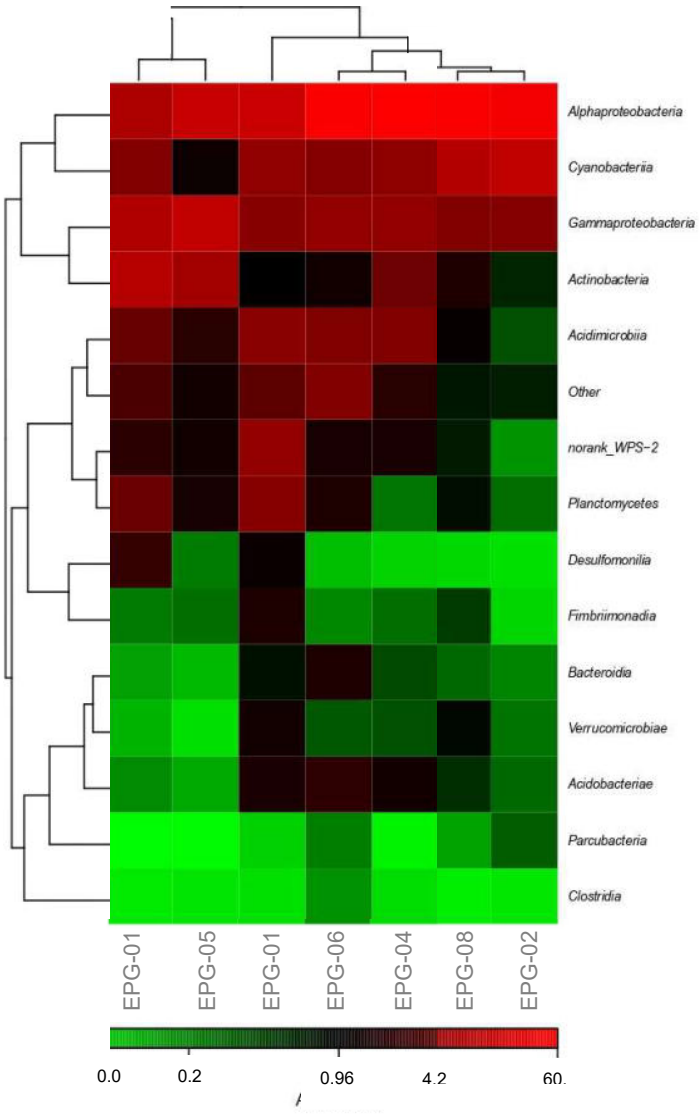
Abundancia relativa (%) de taxones por Clase en el embalse Pasto Grande en época de estiaje



Nota: El eje horizontal representa el número de identificación de cada muestra, y el eje vertical representa la proporción de abundancia relativa de las especies. Los colores corresponden a los nombres de las especies en este nivel taxonómico, y el ancho de los distintos bloques de color indica la proporción de abundancia relativa de las diferentes especies. (Se toma como ejemplo el nivel de filo phylum).

Figura 35

Perfil del mapa de calor de las clases representativas encontradas en el embalse Pasto Grande



Nota: Mapa de calor de la estructura de la comunidad basado en la región hipervariable V3-V4 del gen ARNr 16S. Las muestras en las que se secuenciaron genes amplificados con cebadores HEP (mcyE / ndaF) están marcadas en rojo. La intensidad del color azul representa la contribución de las variantes de secuencia de amplicones en las muestras, y el azul oscuro muestra la contribución más alta.

Anexo 9 Metodología aplicada para el análisis de metales pesados Metalyzer

Trace2o®

HM3000

APPLICATION NOTE

T2O-AN-303

ARSENIC (III + V) METHOD

The following application note explains the procedure for the detection of Arsenic (III) and Total Arsenic using the HM3000 Metalyser®. Total Arsenic can be measured by the addition of hydrochloric acid which is not supplied as standard.

PLEASE READ THIS APPLICATION NOTE CAREFULLY. TRACE2O® HAS ALTERED THE NAMES OF SOME REAGENTS FOR SIMPLICITY AND SO THE PROCEDURE MAY BE DIFFERENT FROM THAT FOLLOWED PREVIOUSLY.

Equipment:

- **HM3000 Kit**
- **HM3 Buffer** (Previously M3 Buffer sachets)
- **AS50 As standard** (Previously M3 Standard (5ppm))
- **AU500 Au Plating Solution** (Previously M2&3 Conditioning Solution)
- **AS1 buffer** (Only required for total As – Supplied separately)
- **AS2 preparation solution** (Only required for total As – Supplied separately)

Electrode conditioning:

- Polish WE2 Electrode to a mirror finish and check using a magnifier that no scratches or scuffs are present.
- Half-fill the sample analysis beaker (SAB) with **AU500 Au Plating Solution** and fit to the Sonde.
- Select 'M2&3 Conditioning' from the 'Measurements available menu' then click 'Condition Electrode' on the Analysis panel.
- The M2&3 conditioning step will take approximately 5 minutes.
- Once completed, return the **AU500 Au Plating Solution** to the **AU500 Au Plating Solution** bottle and rinse the Sonde and SAB with the Electrode Rinse Solution and/or deionised water.

Analysis procedure for Arsenic (III)

Sample preparation:

- Add **one sachet of HM3 Buffer** to the SAB.
- Add 70ml of sample water to the SAB, either by adding a measured volume or by fitting the SAB to the Sonde and submerging in the water source until the bubbles stop.

There are three methods for carrying out the analysis. The single-point standard addition is the fastest option, using two data points to calculate concentration. This is also less accurate. The multi-point standard addition uses four data points to calculate concentration, and allows repeat scans for stabilisation purposes. This method takes longer and uses more chemicals. The calibration option is

designed for rapid analysis of several samples with a similar matrix (i.e. several samples from different points along the same river bank).

Analysis (single-point standard addition method)

- Fit the SAB to the Sonde (If not using submersion method).
- Select 'As(III)' from the 'Measurements Available' drop down menu, then click 'Condition Electrode' from the analysis panel and wait approximately two minutes for it to complete.
- Click 'Standard Addition' in the analysis panel. Wait approximately two minutes until prompted to add 20ppb of the standard. When prompted use the pipette to add 280µL of the **AS50 As standard** into the SAB and click 'OK'. The analysis will continue to run for approximately two further minutes after which the results will be displayed.

Result (single-point standard addition method)

- The result(s) are shown in the Analysis window until 'Ok' is clicked. Following this the results are displayed as a graph on the graph tab and the ppb results will be automatically entered into the results log. There will two graphs displayed, the first is the scan of the original sample concentration and the second is after the standard addition. If As (III) has been detected the peak will be identified as As (III) and will be marked up as such. The original sample concentration will be reported in ppb.

Analysis (multi-point standard addition method)

- Fit the SAB to the Sonde (If not using submersion method).
- Select 'As (III)' from the 'Measurements Available' drop down menu, then click 'Condition Electrode' from the analysis panel and wait approximately two minutes for it to complete.
- On the Control panel, ensure that Deposition Time is set to 60 seconds. Ensure that 'Background subtraction' is checked.
- Run the stirrer as required to dissolve the buffer into the sample water.
- Click 'Start Analysis' and wait for approximately 2 minutes for the graph to be displayed. Repeat until stable. Note that the reading displayed in ppb should be ignored for this method.
- Using the micropipettes, perform a standard addition from the **AS50 As standard** bottle. Use an appropriate addition volume for the sample volume and desired concentration. For better accuracy, a standard addition should be as close as possible to the expected sample concentration. For example, if 10ppb As is expected in the sample, the standard addition should add a further 10ppb.
- Reminder – to calculate addition volume, use the following formula:

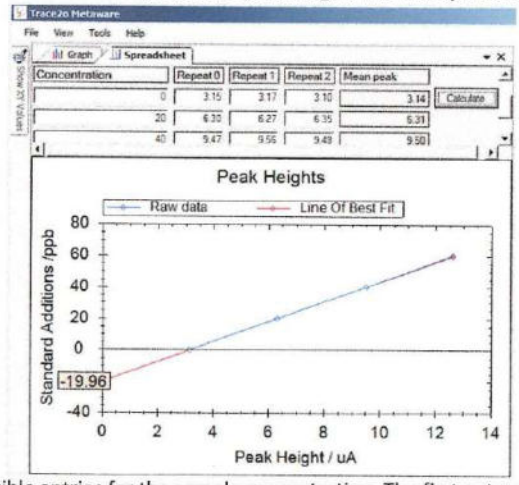
  $$\text{Standard addition vol. (mL)} = \frac{\text{Sample vol. (mL)}}{\text{Standard conc. (ppb)}} \times \text{Addition conc. (ppb)}$$

  For example, with a sample volume of 70mL, standard concentration of 5ppm (or 5000ppb) and a desired addition concentration of 10ppb, the standard addition volume would be:

  $\frac{70}{5000} \times 10 = 0.14\text{mL} = 140\mu\text{L}$
- Click 'Start Analysis' and wait for approximately 2 minutes for the graph to be displayed. Repeat if required.
- Repeat the standard addition/Start Analysis procedure a further two times.

Result (multi-point standard addition method)

- To calculate the peak height, first position the stylus over the data-point you wish to use as the right hand side of the peak, then tap-and-hold the stylus and click 'calculate peak'. If a valid point is not found this function will be greyed out.
- Move the stylus to the left hand side of the peak and tap once. The baseline will be drawn in and the peak height shown, reported as a current (µA).
- To calculate the concentration, input the peak heights into the spreadsheet tab.



The table has four possible entries for the sample concentration. The first entry would normally be zero, as this is the unknown concentration of the sample that is trying to be established. The second, third, and fourth entries would be the sample concentration after each standard addition. In the above example three standard additions are performed each of 20ppb. The peak heights are calculated for each of the additions and entered in the table. To achieve greater accuracy, repeat analysis can be run after each addition to give an average over three readings although it is not necessary to fill the table. When all the data is entered, click **Calculate**. The mean peak heights will be calculated and a graph of concentration vs peak height plotted. A line of best fit will be drawn through the data and the y-intercept shown, which corresponds to the unknown sample concentration for the metal of interest. The value is shown as a negative because this indicates the amount which needs to be added to each of the data points to make the line of best fit go through the origin which in this case is 19.96ppb.

Analysis (Calibration Method)

- Fit the SAB to the Sonde.
- Select 'As (III)' from the 'Measurements Available' drop down menu, then click 'Condition Electrode' from the analysis panel and wait approximately two minutes for it to complete.
- Click 'Calibration' in the analysis panel. Wait approximately two minutes until prompted to add 20ppb of the standard. When prompted use the pipette to add 280µL of the standard into the SAB and click 'OK'. The analysis will continue to run for approximately two further

minutes until prompted to add another 20ppb of standard. Repeat the addition process and click 'ok'. The analysis will run for another two minutes before completing the calibration.

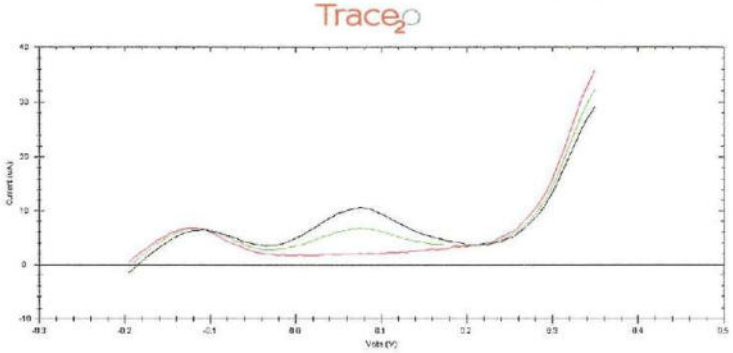
- Once the calibration has been completed several consecutive analyses can be carried out.
- Click 'Analyse Sample' on the analysis panel and wait approximately two minutes for the analysis to complete.

Result (calibration method)

- The result(s) are shown in the Analysis window until 'Ok' is clicked. Following this the result(s) are displayed as a graph on the graph tab. If As (III) is present a peak will be seen in the graph which will be marked up as As and the calculated sample concentration displayed.

Graph

- Arsenic appears as a broad peak centred around 0.05 and 0.1V. Peak will appear to the left and right of the arsenic, as shown – this is as a consequence of unavoidable contaminants in the buffer. These contaminants do not affect the result in any way.



LOD

- The Lower LOD is 10ppb, upper LOD is 500ppb.
- To increase the range the sample can be diluted using Ultra-pure de-ionised water. Other water types could introduce contamination.

Analysis method for Total Arsenic

Sample preparation:

- Add 70ml of sample water to the SAB. Either by adding a measured volume or by fitting the SAB to the Sonde and submersing in the water source until the bubbles stop.
- Add 2.15g of AS1 buffer and 280uL of AS2 preparation solution to the SAB. The AS1 functions as the buffer, and AS2 as an oxidising agent in coordination with the Metalyser®. There is no need for an HM3 Buffer sachet.

Analysis Method:

- Follow the procedure for Arsenic (III), but select As (III+V) from the 'measurements' drop down menu in place of Arsenic(III).

Results :

Trace2o

HM3000

APPLICATION NOTE T2O-AN-308

NICKEL (M8) METHOD

The following application note explains the procedure for the detection of Nickel (M8) using the HM3000 Metalyser.

Equipment:

- HM3000 Kit
- WE3 Electrode
- Ni Sample Beaker
- HM7 Buffer Solution
- HM8 Buffer Solution
- NI45 Standard (4.5ppm)

Getting started:

- Ensure that the latest Metalyser Firmware and method files are installed on the instrument, and that the latest Metaware software is installed on the tablet PC. Detailed instructions for establishing a connection, loading drivers and installing software are provided in the Trace2o HM3000 Field Pro Instruction Manual.

Electrode preparation:

- Using the polishing equipment, polish the WE3 electrode to a mirror finish and perform a visual check to ensure that no scratches or scuffs are present.
- Connect the electrode to the 'WE3' port on the sonde. Remove the WE1 and WE2 electrodes.

Sample preparation:

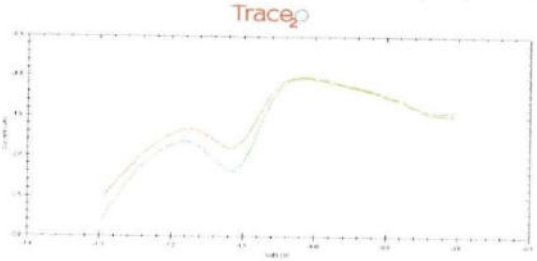
- Using the supplied syringe, add 7mL of HM7 Buffer solution to the Ni Sample Beaker.
- Add 63mL of sample water, either by using a measured volume or by filling the sample beaker to the bottom of the void on the side of the sample beaker.
- Using the pipette, add 280uL of HM8 Buffer solution to the beaker.
- Attach the sample beaker to the sonde.

Analysis:

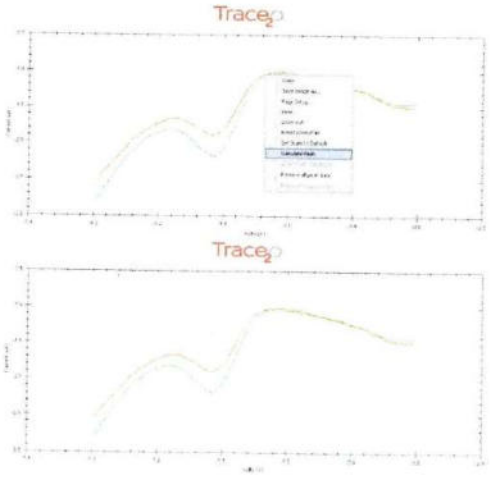
- On the Metaware software, select 'Ni' from the 'Measurements available' menu.
- Ensure that 'Background subtraction' is unchecked on the 'Control' panel.
- Select 'Standard Addition'. Wait approximately two minutes until prompted to add 20ppb of the standard. When prompted use the pipette to add 280uL of the NI45 standard into the SAB and click 'OK'. The analysis will continue to run for approximately two further minutes, after which two graphs will be displayed in the Metaware window.

Results:

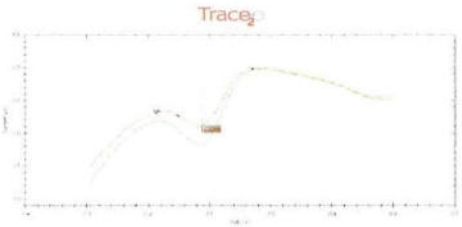
- The graphical data will be displayed. Ni appears as a distinct trough in the centre of the graph. The second graph will show a noticeably deeper trough. These are called the 'peaks'.



- To determine the original sample concentration, the peak heights must be determined.
- Examine the first graph and identify the 'baseline'. This is an imaginary line drawn from the highest point on one side of the trough, to the highest point on the other side of the trough.
- Right-click on one of the points where the imaginary 'baseline' intersects with the graph. Select 'Calculate Peak', and drag the mouse to the other point where the baseline intersects with the graph, and left-click once.



- The baseline should now be drawn on the graph, and the peak height should be displayed.



- Repeat the peak height determination process with the second graph.
- Using the Spreadsheet tab as described in the HM3000 Instruction Manual, enter the peak heights (without +/- sign) where directed.
- Enter the addition concentration in ppb (the first line should read 0, as this was the original sample).
- The Spreadsheet tab will now display the original sample concentration in ppb.

- N.B. This instruction provides for a simplified analysis. For further instructions on how to perform a multi-point standard addition, please refer to the HM3000 Instruction Manual.

- The 'Open Files' panel in Metaware will display the date, time and sample water temperature. There is the option to input sample information. Right-click on the individual lines in the 'Open Files' panel and select 'Update Comments' to add information to the file.
- To save the data, select the individual line in the 'Open Files' panel, then click on the 'File' menu and select 'Save Data File'. Navigate to the chosen location and click 'save'.
- The data file will be saved in CSV (comma separated value) format and can be loaded back into Metaware by selecting 'File', then 'Open Data File'.

LOD:

- The Lower LOD is 20ppb; upper LOD is 500ppb.
- To increase the range beyond the upper limit, the sample can be diluted using Ultra-pure de-ionised water. Other water types could introduce contamination.

Notes:

- It is vital to ensure that the correct version of the instrument Firmware is installed. The latest version of the firmware, and the firmware updater software, can be acquired from Trace2o. Follow the on-screen instructions to upgrade the firmware.
- It is vital to ensure that the correct version of the Metaware is installed on the tablet PC. The latest version of the Metaware can be acquired from Trace2o.

Traducido del inglés al español - www.onlinedoctranslator.com

Trace2O

HM3000

NOTA DE APLICACIÓN

T2O-AN-305

MÉTODO ZINC

La siguiente nota de aplicación explica el procedimiento para la detección de Zinc usando el HM3000 Metalyser®.

POR FAVOR LEA ESTA NOTA DE APLICACIÓN CUIDADOSAMENTE. TRACE2O® HA ALTERADO LOS NOMBRES DE ALGUNOS REACTIVOS POR SIMPLICIDAD, POR LO QUE EL PROCEDIMIENTO PUEDE SER DIFERENTE AL SEGUIDO ANTERIORMENTE.

Equipo:

- **Equipo HM3000**
- **Tampón HM1**(Anteriormente M1 y 4 (a + b) sobres de tampón)
- **ZN50 Zn estándar**(Anteriormente estándar M5 (5 ppm))
- **Solución de recubrimiento HG500 Hg**(Anteriormente solución acondicionadora M1,4,5)

Acondicionamiento de electrodos:

- Pula el electrodo WE1 hasta obtener un acabado de espejo y verifique con una lupa que no presente rayones ni rozaduras.
- Llene hasta la mitad el vaso de análisis de muestras (SAB) con**Solución de recubrimiento HG500 Hg**y ajuste a la sonda.
- Seleccione 'Acondicionamiento M1,4,5' en el 'Menú de mediciones disponibles' y luego haga clic en 'Electrodo de condición' en el panel Análisis.
- El paso de acondicionamiento M1,4,5 tomará aproximadamente 5 minutos.
- Una vez completado, devuelva el**Solución de recubrimiento HG500 Hg**hacia**Solución de recubrimiento HG500 Hg** y enjuague la sonda y el SAB con la solución de enjuague de electrodos y/o agua desionizada.

Preparación de la muestra:

- Agregar**dos sobres de HM1 Buffer**a la SAB.
- Agregue 70 ml de agua de muestra al SAB, ya sea agregando un volumen medido o ajustando el SAB a la sonda y sumergiéndolo en la fuente de agua hasta que dejen de burbujear.

Existen tres métodos para llevar a cabo el análisis. La adición estándar de un solo punto es la opción más rápida, ya que utiliza dos puntos de datos para calcular la concentración. Esto también es menos preciso. La adición estándar multipunto utiliza cuatro puntos de datos para calcular la concentración y permite repetir los escaneos con fines de estabilización. Este método lleva más tiempo y utiliza más productos químicos. La opción de calibración está diseñada para el análisis rápido de varias muestras con una matriz similar (es decir, varias muestras de diferentes puntos a lo largo de la misma orilla del río).

Análisis (método de adición estándar de punto único)

- Ajuste el SAB a la sonda (si no usa el método de inmersión).
- Seleccione 'Zn' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición de electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos hasta que se complete. Haga clic en
- 'Adición estándar' en el panel de análisis. Espere aproximadamente dos minutos hasta que se le solicite agregar 20 ppb del estándar. Cuando se le indique, use la pipeta para agregar 280 µL del**ZN50 Zn estándar** en el SAB y haga clic en 'Aceptar'. El análisis continuará ejecutándose durante aproximadamente dos minutos más, después de lo cual se mostrarán los resultados.

Resultado (método de adición estándar de punto único)

- Los resultados se muestran en la ventana de análisis hasta que se hace clic en 'Aceptar'. Después de esto, los resultados se muestran como un gráfico en la pestaña de gráficos y los resultados de ppb se ingresarán automáticamente en el registro de resultados. Se mostrarán dos gráficos, el primero es el escaneo de la concentración de la muestra original y el segundo es después de la adición del estándar. Si se ha detectado Zn, el pico se identificará como Zn y se marcará como tal. La concentración de la muestra original se informará en ppb.

Análisis (método de adición estándar multipunto)

- Ajuste el SAB a la sonda (si no usa el método de inmersión).
- Seleccione 'Zn' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición de electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos hasta que se complete. En el panel de control,
- asegúrese de que el tiempo de depósito esté configurado en 90 segundos. Asegúrese de que la opción 'Sustracción de fondo' esté marcada.
- Haga clic en 'Iniciar análisis' y espere aproximadamente 2 minutos para que se muestre el gráfico. Repita hasta que se estabilice. Tenga en cuenta que la lectura que se muestra en ppb debe ignorarse para este método.

- Usando las micropipetas, realice una adición estándar de la**ZN50 Zn estándar**botella. Use un volumen de adición apropiado para el volumen de muestra y la concentración deseada. Para una mayor precisión, la adición de un estándar debe estar lo más cerca posible de la concentración esperada de la muestra. Por ejemplo, si se esperan 10 ppb de Zn en la muestra, la adición estándar debe agregar 10 ppb más.
- Recordatorio: para calcular el volumen de adición, utilice la siguiente fórmula: Volumen de adición estándar. (mL) = Vol. de muestra. (mL) x Adición conc. (ppb) / concentración estándar (ppb)

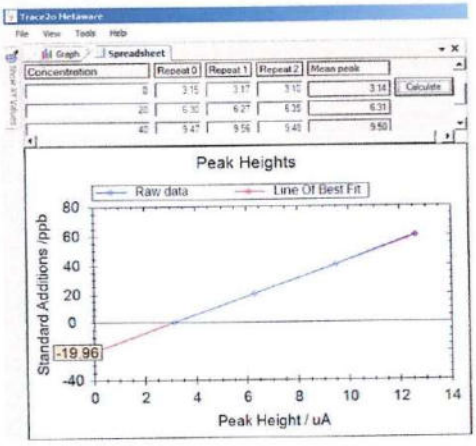
  Por ejemplo, con un volumen de muestra de 70 ml, una concentración estándar de 5 ppm (o 5000 ppb) y una concentración de adición deseada de 10 ppb, el volumen de adición estándar sería:

  $\frac{70}{5000} \times 10 = 0{,}14 \text{ ml} = 140 \text{ µl}$
- Haga clic en 'Iniciar análisis' y espere aproximadamente 2 minutos para que se muestre el gráfico. Repita si es necesario.

Repita el procedimiento de adición estándar/Análisis de inicio dos veces más.

Resultado (método de adición estándar multipunto)

- Para calcular la altura del pico, primero coloque el lápiz óptico sobre el punto de datos que desea usar como el lado derecho del pico, luego toque y mantenga presionado el lápiz óptico y haga clic en 'calcular pico'. Si no se encuentra un punto válido, esta función aparecerá atenuada.
- Mueva el lápiz óptico hacia el lado izquierdo del pico y toque una vez. Se dibujará la línea de base y se mostrará la altura del pico, informada como corriente (µA).
- Para calcular la concentración, ingrese las alturas de los picos en la pestaña de la hoja de cálculo.



La tabla tiene cuatro entradas posibles para la concentración de la muestra. La primera entrada normalmente sería cero, ya que esta es la concentración desconocida de la muestra que se intenta establecer. Las entradas segunda, tercera y cuarta serían la concentración de la muestra después de cada adición estándar. En el ejemplo anterior, se realizan tres adiciones estándar de 20 ppb cada una. Las alturas de los picos se calculan para cada una de las adiciones y se introducen en la tabla. Para lograr una mayor precisión, se puede repetir el análisis después de cada adición para obtener un promedio de tres lecturas, aunque no es necesario llenar la tabla. Cuando haya ingresado todos los datos, haga clic en**Calcular**. Se calcularán las alturas medias de los picos y se trazará un gráfico de concentración frente a la altura de los picos. Se dibujará una línea de mejor ajuste a través de los datos y se mostrará la intersección y, que corresponde a la concentración de muestra desconocida para el metal de interés. El valor se muestra como negativo porque indica la cantidad que debe agregarse a cada uno de los puntos de datos para que la línea de mejor ajuste pase por el origen, que en este caso es 19,96 ppb.

Análisis (método de calibración)

- Ajuste el SAB a la sonda.
- Seleccione 'Zn' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición de electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos hasta que se complete. Haga clic en
- 'Calibración' en el panel de análisis. Espere aproximadamente dos minutos hasta que se le solicite agregar 20 ppb del estándar. Cuando se le solicite, use la pipeta para agregar 280 µL del estándar en el SAB y haga clic en 'Aceptar'. El análisis seguirá ejecutándose durante aproximadamente dos días más.

minutos hasta que se le solicite agregar otros 20 ppb de estándar. Repita el proceso de adición y haga clic en 'ok'. El análisis se ejecutará durante otros dos minutos antes de completar la calibración. Una

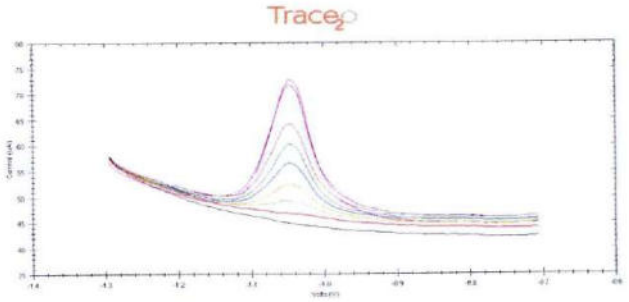
- vez finalizada la calibración se pueden realizar varios análisis consecutivos. Haga clic en "Analizar
- muestra" en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos para que se complete el análisis.

Resultado (método de calibración)

- Los resultados se muestran en la ventana de análisis hasta que se hace clic en 'Aceptar'. Después de esto, los resultados se muestran como un gráfico en la pestaña de gráficos. Si hay Zn presente, se verá un pico en el gráfico que se marcará como Zn y se mostrará la concentración de muestra calculada.

Grafico

-El zinc aparece como un pico ancho alrededor de -1.05V.



LOD

- El LOD inferior es de 1 ppb, el LOD superior es de 500 ppb.
- Para aumentar el rango, la muestra se puede diluir con agua desionizada ultrapura. Otros tipos de agua podrían introducir contaminación.

Interferencias

- Los altos niveles de cobre en la muestra de agua pueden afectar la calidad del análisis. Hay soluciones
- disponibles para combatir las interferencias en la muestra. Estos pueden ser específicos para tipos o condiciones de agua particulares. Para obtener más información, comuníquese con el departamento de soporte técnico de Trace2o®:técnico@trace2o.com

Traducido del inglés al español - www.onlinedoctranslator.com

Trace2o®

HM3000

NOTA DE APLICACIÓN T2O-AN-306

MÉTODO DEL MANGANESO

La siguiente nota de aplicación explica el procedimiento para la detección de manganeso utilizando el HM3000 Metalyser®.

POR FAVOR LEA ESTA NOTA DE APLICACIÓN CUIDADOSAMENTE. TRACE2O® HA ALTERADO LOS NOMBRES DE ALGUNOS REACTIVOS POR SIMPLICIDAD, POR LO QUE EL PROCEDIMIENTO PUEDE SER DIFERENTE AL SEGUIDO ANTERIORMENTE.

Equipo:

- **Equipo HM3000**
- **Tampón HM4**(Anteriormente M6 Buffer A solution) **Tampón**
- **HM5**(Anteriormente M6 Buffer B solution) **MN40 Mn estándar(**
- Anteriormente estándar M6 (4 ppm))
- **Solución de recubrimiento de Hg grueso HG100**(Anteriormente solución acondicionadora M6)

Acondicionamiento de electrodos:

- Pula el electrodo WE1 hasta obtener un acabado de espejo y verifique con una lupa que no presente rayones ni rozaduras.
- Llene hasta la mitad el vaso de análisis de muestras (SAB) con**Solución de recubrimiento de Hg grueso HG100**y ajuste a la sonda.
- Seleccione 'Acondicionamiento M6' en el 'Menú de mediciones disponibles' y luego haga clic en 'Electrodo de condición' en el panel Análisis.
- El paso de acondicionamiento M6 tomará aproximadamente 10 minutos.
- Una vez completado, devuelva el**Solución de recubrimiento de Hg grueso HG100**hacia**Solución de recubrimiento de Hg grueso HG100**y enjuague la sonda y el SAB con la solución de enjuague de electrodos y/o agua desionizada.

Preparación de la muestra:

- Usando una jeringa de plástico, agregue**14 ml de tampón HM4**a la SAB.
- Agregue 56 ml de agua de muestra al SAB
- Usando la pipeta, agregue**280 µl de tampón HM5**a la SAB.

Existen tres métodos para llevar a cabo el análisis. La adición estándar de un solo punto es la opción más rápida, ya que utiliza dos puntos de datos para calcular la concentración. Esto también es menos preciso. La adición estándar multipunto utiliza cuatro puntos de datos para calcular la concentración y permite repetir los escaneos con fines de estabilización. Este método lleva más tiempo y utiliza más productos químicos. La opción de calibración está diseñada para el análisis rápido de varias muestras con una matriz similar (es decir, varias muestras de diferentes puntos a lo largo de la misma orilla del río).

Análisis (método de adición estándar de punto único)

- Ajuste el SAB a la sonda.
- Seleccione 'Mn' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición de electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos para que se complete. Haga clic en 'Adición
- estándar' en el panel de análisis. Espere aproximadamente dos minutos hasta que se le solicite agregar 20 ppb del estándar. Cuando se le indique, use la pipeta para agregar 280 µL del**MN40 Mn estándar**en el SAB y haga clic en 'Aceptar'. El análisis continuará ejecutándose durante aproximadamente dos minutos más, luego se mostrarán los resultados.

Resultado (método de adición estándar de punto único)

- Los resultados se muestran en la ventana de análisis hasta que se hace clic en 'Aceptar'. Después de esto, los resultados se muestran como un gráfico en la pestaña de gráficos y los resultados de ppb se ingresarán automáticamente en el registro de resultados. Se mostrarán dos gráficos, el primero es el escaneo de la concentración de la muestra original y el segundo es después de la adición del estándar. Si se ha detectado Mn, el pico identificado como Mn se marcará como tal y la concentración de la muestra original se informará en ppb.

Análisis (método de adición estándar multipunto)

- Ajuste el SAB a la sonda (si no usa el método de inmersión).
- Seleccione 'Mn' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición de electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos para que se complete. En el panel de control, asegúrese
- de que el tiempo de depósito esté configurado en 60 segundos. Asegúrese de que la opción 'Sustracción de fondo' esté marcada.
- Haga funcionar el agitador según sea necesario para disolver el tampón en la muestra de agua.
- Haga clic en 'Iniciar análisis' y espere aproximadamente 1 minuto para que se muestre el gráfico. Repita hasta que se estabilice. Tenga en cuenta que la lectura que se muestra en ppb debe ignorarse para este método.

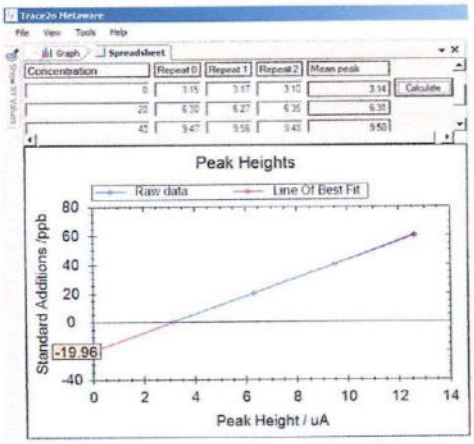
- Usando las micropipetas, realice una adición estándar de la**MN40 Mn estándar**botella. Use un volumen de adición apropiado para el volumen de muestra y la concentración deseada. Para una mayor precisión, la adición de un estándar debe estar lo más cerca posible de la concentración esperada de la muestra. Por ejemplo, si se esperan 10 ppb de Mn en la muestra, la adición estándar debería agregar 10 ppb adicionales.
- Recordatorio: para calcular el volumen de adición, utilice la siguiente fórmula: Volumen de adición estándar. (mL) = Vol. de muestra. (mL) x Adición conc. (ppb) / concentración estándar (ppb)

  Por ejemplo, con un volumen de muestra de 56 ml, una concentración estándar de 4 ppm (o 4000 ppb) y una concentración de adición deseada de 10 ppb, el volumen de adición estándar sería:

  $\frac{56}{4000} \times 10 = 0{,}14 \text{ ml} = 140 \text{ µl}$
- Haga clic en 'Iniciar análisis' y espere aproximadamente 2 minutos para que se muestre el gráfico. Repita si es necesario.
- Repita el procedimiento de adición estándar/Análisis de inicio dos veces más.

Resultado (método de adición estándar multipunto)

- Para calcular la altura del pico, primero coloque el lápiz óptico sobre el punto de datos que desea usar como el lado derecho del pico, luego toque y mantenga presionado el lápiz óptico y haga clic en 'calcular pico'. Si no se encuentra un punto válido, esta función aparecerá atenuada.
- Mueva el lápiz óptico hacia el lado izquierdo del pico y toque una vez. Se dibujará la línea de base y se mostrará la altura del pico, informada como corriente (µA).
- Para calcular la concentración, ingrese las alturas de los picos en la pestaña de la hoja de cálculo.



La tabla tiene cuatro entradas posibles para la concentración de la muestra. La primera entrada normalmente sería cero, ya que esta es la concentración desconocida de la muestra que se intenta establecer. Las entradas segunda, tercera y cuarta serían la concentración de la muestra después de cada adición estándar. En el ejemplo anterior, se realizan tres adiciones estándar de 20 ppb cada una. Las alturas de los picos se calculan para cada una de las adiciones y se introducen en la tabla. Para lograr una mayor precisión, se puede repetir el análisis después de cada adición para obtener un promedio de tres lecturas, aunque no es necesario llenar la tabla. Cuando haya ingresado todos los datos, haga clic en**Calcular**. Se calcularán las alturas medias de los picos y se trazará un gráfico de concentración frente a la altura de los picos. Se dibujará una línea de mejor ajuste a través de los datos y se mostrará la intersección y, que corresponde a la concentración de muestra desconocida para el metal de interés. El valor se muestra como negativo porque indica la cantidad que debe agregarse a cada uno de los puntos de datos para que la línea de mejor ajuste pase por el origen, que en este caso es 19,96 ppb.

Análisis (método de calibración)

- Ajuste el SAB a la sonda.
- Seleccione 'Mn' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición de electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos para que se complete. Haga clic en
- 'Calibración' en el panel de análisis. Espere aproximadamente dos minutos hasta que se le solicite agregar 20 ppb del estándar. Cuando se le solicite, use la pipeta para agregar 280 µL del estándar en el SAB y haga clic en 'Aceptar'. El análisis seguirá ejecutándose durante aproximadamente dos días más.

minutos hasta que se le solicite agregar otros 20 ppb de estándar. Repita el proceso de adición y haga clic en 'ok'. El análisis se ejecutará durante otros dos minutos antes de completar la calibración. Una

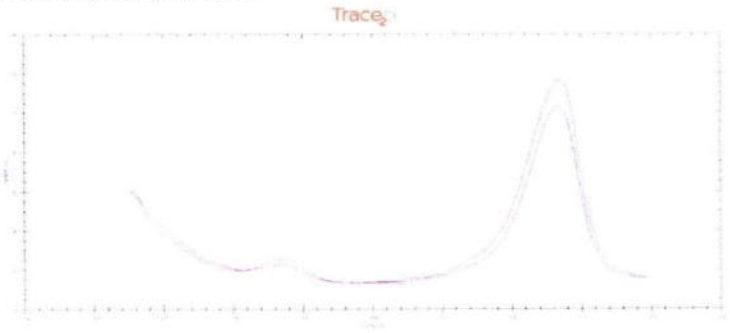
- vez finalizada la calibración se pueden realizar varios análisis consecutivos. Haga clic en "Analizar
- muestra" en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos para que se complete el análisis.

Resultado (método de calibración)

- Los resultados se muestran en la ventana de análisis hasta que se hace clic en 'Aceptar'. Después de esto, los resultados se muestran como un gráfico en la pestaña de gráficos. Si Mn está presente, se verá un pico en el gráfico que se marcará como Mn y se mostrará la concentración de muestra calculada.

Resultado

- El manganeso aparece como un pico ancho alrededor de -1.55V. El zinc aparecerá a la derecha, alrededor de -1.15V. Ignore el pico de zinc, ya que solo se requiere para la codeposición y no afecta el resultado del resultado.



LOD

- El LOD inferior es de 5 ppb, el LOD superior es de 200 ppb.
- Para aumentar el rango, la muestra se puede diluir con agua desionizada ultrapura. Otros tipos de agua podrían introducir contaminación.

Interferencias

- El agua de muestra extremadamente ácida puede afectar la calidad del análisis.
- Hay soluciones disponibles para combatir las interferencias en la muestra. Estos pueden ser específicos para tipos o condiciones de agua particulares. Para obtener más información, comuníquese con el departamento de soporte técnico de Trace2o®:técnico@trace2o.com

Trace2o

HM3000

APPLICATION NOTE T2O-AN-312

SELENIUM (M12) METHOD

The following application note explains the procedure for the detection of Selenium (M12) using the HM3000 Metalyser.

Equipment:

- HM3000 Kit
- WE1 Electrode
- Se Sample Beaker
- HG1000 Conditioning Solution
- M11 Buffer Solution
- SE45 Standard (4.5ppm)

Getting started:

- Ensure that the latest Metalyser Firmware and method files are installed on the instrument, and that the latest Metaware software is installed on the tablet PC. Detailed instructions for establishing a connection, loading drivers and installing software are provided in the Trace2o HM3000 Field Pro Instruction Manual.

Electrode conditioning:

- Using the polishing equipment, polish the WE1 electrode to a mirror finish and perform a visual check to ensure that no scratches or scuffs are present.
- Connect the electrode to the 'WE1' port on the sonde. Remove the WE2 and WE3 electrodes, if present.
- Half-fill the sample analysis beaker (SAB) with HG1000 conditioning solution and fit to the Sonde.
- Select 'M12 Conditioning' from the 'Measurements available menu' then click 'Condition Electrode' on the Analysis panel.
- The M12 conditioning step will take approximately 10 minutes.
- Once completed, return the conditioning solution to the HG1000 conditioning solution bottle and rinse the Sonde and SAB with the Electrode Rinse Solution and/or deionised water.

Sample preparation:

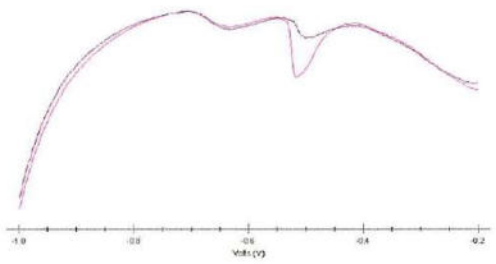
- Using the supplied syringe, add 7mL of M11 Buffer solution to the Se Sample Beaker.
- Add 63mL of sample water, either by using a measured volume or by filling the sample beaker to the bottom of the void on the side of the sample beaker.
- Attach the sample beaker to the sonde.

Analysis:

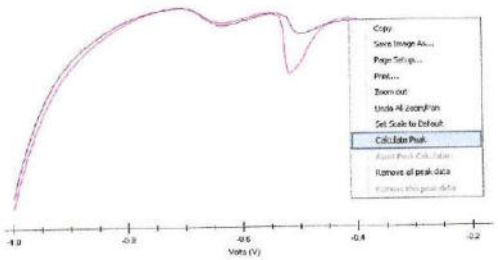
- On the Metaware software, select 'Se' from the 'Measurements available' menu.
- Ensure that 'Background subtraction' is unchecked on the 'Control' panel.
- Select 'Standard Addition'. Wait approximately two minutes until prompted to add 20ppb of the standard. When prompted use the pipette to add 280uL of the SE45 standard into the SAB and click 'OK'. The analysis will continue to run for approximately two further minutes, after which two graphs will be displayed in the Metaware window.

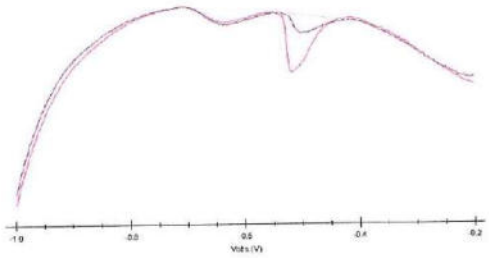
Results:

- The graphical data will be displayed. Se appears as a distinct trough, slightly to the right of the centre of the graph. The second graph will show a noticeably deeper trough. These are called the 'peaks'.

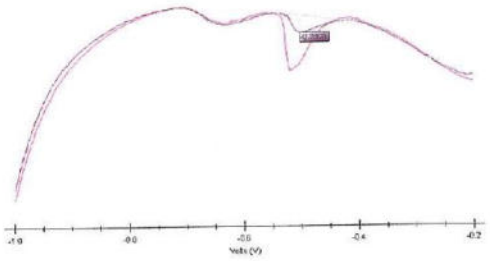


- To determine the original sample concentration, the peak heights must be determined.
- Examine the first graph and identify the 'baseline'. This is an imaginary line drawn from the lowest point on one side of the peak, to the lowest point on the other side of the peak.
- Tap-and-hold on one of the points where the imaginary 'baseline' intersects with the graph. Select 'Calculate Peak', move the stylus to the other point where the baseline intersects with the graph, and tap once.





- The baseline should now be drawn on the graph, and the peak height should be displayed.



- Repeat the peak height determination process with the second graph.
- Using the Spreadsheet tab as described in the HM3000 Instruction Manual, enter the peak heights (without +/- sign) where directed.
- Enter the addition concentration in ppb (the first line should read 0, as this was the original sample).
- The Spreadsheet tab will now display the original sample concentration in ppb.

- N.B. This instruction provides for a simplified analysis. For further instructions on how to perform a multi-point standard addition, please refer to the HM3000 Instruction Manual.

- The 'Open Files' panel in Metaware will display the date, time and sample water temperature. There is the option to input sample information. Right-click on the individual lines in the 'Open Files' panel and select 'Update Comments' to add information to the file.

- To save the data, select the individual line in the 'Open Files' panel, then click on the 'File' menu and select 'Save Data File'. Navigate to the chosen location and click 'save'.
- The data file will be saved in CSV (comma separated value) format and can be loaded back into Metaware by selecting 'File', then 'Open Data File'.

LOD:

- The Lower LOD is 5ppb; upper LOD is 60ppb.
- To increase the range beyond the upper limit, the sample can be diluted using Ultra-pure de-ionised water. Other water types could introduce contamination.

Notes:

- It is vital to ensure that the correct version of the instrument Firmware is installed. The latest version of the firmware, and the firmware updater software, can be acquired from Trace2o. Follow the on-screen instructions to upgrade the firmware.
- It is vital to ensure that the correct version of the Metaware is installed on the tablet PC. The latest version of the Metaware can be acquired from Trace2o.

Traducido del inglés al español - www.onlinedoctranslator.com

Trace2o

HM3000

NOTA DE APLICACIÓN T2O-AN-302

MÉTODO MERCURIO

La siguiente nota de aplicación explica el procedimiento para la detección de Mercurio usando el HM3000 Metalyser®.

POR FAVOR LEA ESTA NOTA DE APLICACIÓN CUIDADOSAMENTE. TRACE2O® HA ALTERADO LOS NOMBRES DE ALGUNOS REACTIVOS POR SIMPLICIDAD, POR LO QUE EL PROCEDIMIENTO PUEDE SER DIFERENTE AL SEGUIDO ANTERIORMENTE.

Equipo:

- **Equipo HM3000**
- **Tampón HM2**(Anteriormente sobres de tampón M2) **HG50 Hg**
- **estándar**(Anteriormente estándar M2 (5 ppm))
- **Solución de recubrimiento de oro AU500**(Anteriormente solución de acondicionamiento M2 y 3)

Acondicionamiento de electrodos:

- Pula el electrodo WE2 hasta obtener un acabado de espejo y verifique con la lupa que no presente rayones ni rozaduras.
- Llene hasta la mitad el vaso de análisis de muestras (SAB) con**Solución de recubrimiento de oro AU500**y ajuste a la sonda.
- Seleccione 'Acondicionamiento M2 y 3' en el 'Menú de mediciones disponibles' y luego haga clic en 'Electrodo de condición' en el panel Análisis.
- El paso de acondicionamiento M2&3 tomará aproximadamente 5 minutos.
- Una vez completado, devuelva el**Solución de recubrimiento de oro AU500**hacia**Solución de recubrimiento de oro AU500** y enjuague la sonda y el SAB con la solución de enjuague de electrodos y/o agua desionizada.

Preparación de la muestra:

- Agregar**un sobre de tampón HM2**a la SAB.
- Agregue 70 ml de agua de muestra al SAB, ya sea agregando un volumen medido o ajustando el SAB a la sonda y sumergiéndolo en la fuente de agua hasta que dejen de burbujear.

Existen tres métodos para llevar a cabo el análisis. La adición estándar de un solo punto es la opción más rápida, ya que utiliza dos puntos de datos para calcular la concentración. Esto también es menos preciso. La adición estándar multipunto utiliza cuatro puntos de datos para calcular la concentración y permite repetir los escaneos con fines de estabilización. Este método lleva más tiempo y utiliza más productos químicos. La opción de calibración está diseñada para el análisis rápido de varias muestras con una matriz similar (es decir, varias muestras de diferentes puntos a lo largo de la misma orilla del río).

Análisis (método de adición estándar de punto único)

- Ajuste el SAB a la sonda (si no usa el método de inmersión).
- Seleccione 'Hg' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición de electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos hasta que se complete. Haga clic en
- 'Adición estándar' en el panel de análisis. Espere aproximadamente dos minutos hasta que se le solicite agregar 20 ppb del estándar. Cuando se le solicite, use la pipeta para agregar 280 µL de **HG50 Hg estándar** en el SAB y haga clic en 'Aceptar'. El análisis continuará ejecutándose durante aproximadamente dos minutos más, después de lo cual se mostrarán los resultados.

Resultado (método de adición estándar de punto único)

- Los resultados se muestran en la ventana de análisis hasta que se hace clic en 'Aceptar'. Después de esto, los resultados se muestran como un gráfico en la pestaña de gráficos y los resultados de ppb se ingresarán automáticamente en el registro de resultados. Se mostrarán dos gráficos, el primero es el escaneo de la concentración de la muestra original y el segundo es después de la adición del estándar. Si se ha detectado Hg, el pico se identificará como Hg y se marcará como tal. La concentración de la muestra original se informará en ppb.

Análisis (método de adición estándar multipunto)

- Ajuste el SAB a la sonda (si no usa el método de inmersión).
- Seleccione 'Hg' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición de electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos hasta que se complete. En el panel de control,
- asegúrese de que el tiempo de depósito esté configurado en 60 segundos. Asegúrese de que la opción 'Sustracción de fondo' esté marcada.
- Haga funcionar el agitador según sea necesario para disolver el tampón en la muestra de agua.
- Haga clic en 'Iniciar análisis' y espere aproximadamente 2 minutos para que se muestre el gráfico. Repita hasta que se estabilice. Tenga en cuenta que la lectura que se muestra en ppb debe ignorarse para este método.

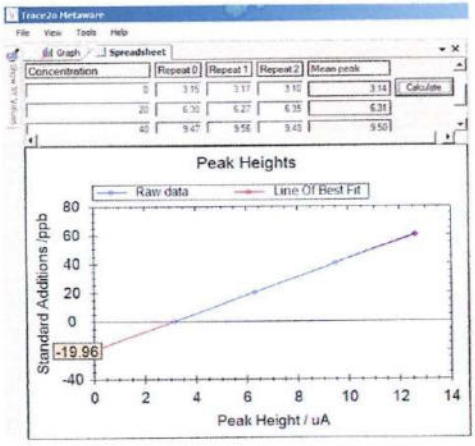
- Usando las micropipetas, realice una adición estándar de la**HG50 Hg estándar**botella. Use un volumen de adición apropiado para el volumen de muestra y la concentración deseada. Para una mayor precisión, la adición de un estándar debe estar lo más cerca posible de la concentración esperada de la muestra. Por ejemplo, si se esperan 10 ppb de Hg en la muestra, la adición estándar debe agregar 10 ppb más.
- Recordatorio: para calcular el volumen de adición, utilice la siguiente fórmula: Volumen de adición estándar. (mL) = $\frac{\text{Vol. de muestra. (mL) x Adición conc. (ppb)}}{\text{concentración estándar (ppb)}}$

  Por ejemplo, con un volumen de muestra de 70 ml, una concentración estándar de 5 ppm (o 5000 ppb) y una concentración de adición deseada de 10 ppb, el volumen de adición estándar sería:

  $\frac{70}{5000} \times 10 = 0{,}14 \text{ ml} = 140 \text{ µl}$
- Haga clic en 'Iniciar análisis' y espere aproximadamente 2 minutos para que se muestre el gráfico. Repita si es necesario.
- Repita el procedimiento de adición estándar/Análisis de inicio dos veces más.

Resultado (método de adición estándar multipunto)

- Para calcular la altura del pico, primero coloque el lápiz óptico sobre el punto de datos que desea usar como el lado derecho del pico, luego toque y mantenga presionado el lápiz óptico y haga clic en 'calcular pico'. Si no se encuentra un punto válido, esta función aparecerá atenuada.
- Mueva el lápiz óptico hacia el lado izquierdo del pico y toque una vez. Se dibujará la línea de base y se mostrará la altura del pico, informada como corriente (µA).
- Para calcular la concentración, ingrese las alturas de los picos en la pestaña de la hoja de cálculo.



La tabla tiene cuatro entradas posibles para la concentración de la muestra. La primera entrada normalmente sería cero, ya que esta es la concentración desconocida de la muestra que se intenta establecer. Las entradas segunda, tercera y cuarta serían la concentración de la muestra después de cada adición estándar. En el ejemplo anterior, se realizan tres adiciones estándar de 20 ppb cada una. Las alturas de los picos se calculan para cada una de las adiciones y se introducen en la tabla. Para lograr una mayor precisión, se puede repetir el análisis después de cada adición para obtener un promedio de tres lecturas, aunque no es necesario llenar la tabla. Cuando haya ingresado todos los datos, haga clic en**Calcular**. Se calcularán las alturas medias de los picos y se trazará un gráfico de concentración frente a la altura de los picos. Se dibujará una línea de mejor ajuste a través de los datos y se mostrará la intersección y, que corresponde a la concentración de muestra desconocida para el metal de interés. El valor se muestra como negativo porque indica la cantidad que debe agregarse a cada uno de los puntos de datos para que la línea de mejor ajuste pase por el origen, que en este caso es 19,96 ppb.

Análisis (método de calibración)

- Ajuste el SAB a la sonda.
- Seleccione 'Hg' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición de electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos hasta que se complete. Haga clic en
- 'Calibración' en el panel de análisis. Espere aproximadamente dos minutos hasta que se le solicite agregar 20 ppb del estándar. Cuando se le solicite, use la pipeta para agregar 280 µL del estándar en el SAB y haga clic en 'Aceptar'. El análisis seguirá ejecutándose durante aproximadamente dos días más.

minutos hasta que se le solicite agregar otros 20 ppb de estándar. Repita el proceso de adición y haga clic en 'ok'. El análisis se ejecutará durante otros dos minutos antes de completar la calibración. Una

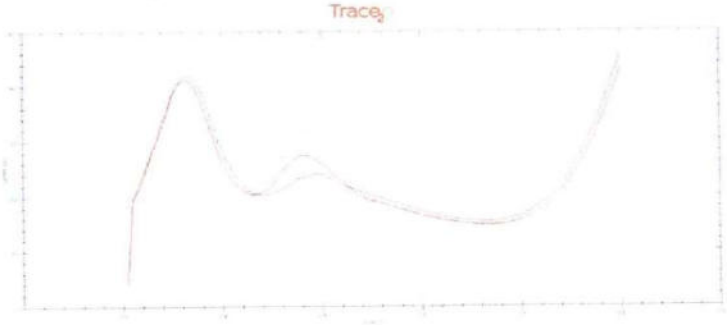
- vez finalizada la calibración se pueden realizar varios análisis consecutivos. Haga clic en "Analizar
- muestra" en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos para que se complete el análisis.

Resultado (método de calibración)

- Los resultados se muestran en la ventana de análisis hasta que se hace clic en 'Aceptar'. Después de esto, los resultados se muestran como un gráfico en la pestaña de gráficos. Si hay Hg presente, se verá un pico en el gráfico que se marcará como Hg y se mostrará la concentración de muestra calculada.

Grafico

- Mercurio aparece como un pico agudo alrededor de 0.45V. El cobre aparece como un pico más grande a la izquierda. El pico de cobre se puede utilizar para mejorar la selección de la línea de base como se describe a continuación y no interfiere con el análisis.



LOD

- El LOD inferior es de 1 ppb, el LOD superior es de 500 ppb.
- Para aumentar el rango, la muestra se puede diluir con agua desionizada ultrapura. Otros tipos de agua podrían introducir contaminación.

Interferencias

- Si realiza un análisis de mercurio después de usar una solución de recubrimiento de Hg, asegúrese de que la sonda se limpie a fondo con agua desionizada. El mercurio residual de la solución de recubrimiento de Hg puede afectar la calidad del resultado.
- En algunos casos, agregar 280 uL de estándar de cobre CU50 a la muestra de agua antes de comenzar el análisis puede mejorar la precisión del resultado.
- Hay soluciones disponibles para combatir las interferencias en la muestra. Estos pueden ser específicos para tipos o condiciones particulares de agua. Para obtener más información, comuníquese con el departamento de soporte técnico de Trace2o®:técnico@trace2o.com

Traducido del inglés al español - www.onlinedoctranslator.com

Trace2o

HM3000

T2O-AN-301

NOTA DE APLICACIÓN

CADMIO, MÉTODO DE PLOMO

La siguiente nota de aplicación explica el procedimiento para la detección de Cadmio y Plomo utilizando el HM3000 Metalyser®.

POR FAVOR LEA ESTA NOTA DE APLICACIÓN CUIDADOSAMENTE. TRACE2O® HA ALTERADO LOS NOMBRES DE ALGUNOS REACTIVOS POR SIMPLICIDAD, POR LO QUE EL PROCEDIMIENTO PUEDE SER DIFERENTE AL SEGUIDO ANTERIORMENTE.

Equipo:

- **Equipo HM3000**
- **Tampón HM1**(Anteriormente M1 y 4 (a + b) sobres de tampón)
- **CP50 Cd, Pb estándar**(Anteriormente estándar M1 (5 ppm))
- **Solución de recubrimiento HG500 Hg**(Anteriormente solución acondicionadora M1,4,5)

Acondicionamiento de electrodos:

- Pula el electrodo WE1 hasta obtener un acabado de espejo y verifique con la lupa que no presente rayones ni rozaduras.
- Llene hasta la mitad el vaso de análisis de muestras (SAB) con**Solución de recubrimiento HG500 Hg**y ajuste a la sonda.
- Seleccione 'Acondicionamiento M1,4,5' en el 'Menú de mediciones disponibles' y luego haga clic en 'Electrodo de condición' en el panel Análisis.
- El paso de acondicionamiento M1,4,5 tomará aproximadamente 5 minutos.
- Una vez completado, devuelva el**Solución de recubrimiento HG500 Hg**hacia**Solución de recubrimiento HG500 Hg** y enjuague la sonda y el SAB con la solución de enjuague de electrodos y/o agua desionizada.

Preparación de la muestra:

- Agregar**dos sobres de HM1 Buffer**a la SAB.
- Agregue 70 ml de agua de muestra al SAB, ya sea agregando un volumen medido o ajustando el SAB a la sonda y sumergiéndolo en la fuente de agua hasta que dejen de burbujear.

Existen tres métodos para llevar a cabo el análisis. La adición estándar de un solo punto es la opción más rápida, ya que utiliza dos puntos de datos para calcular la concentración. Esto también es menos preciso. La adición estándar multipunto utiliza cuatro puntos de datos para calcular la concentración y permite repetir los escaneos con fines de estabilización. Este método lleva más tiempo y utiliza más productos químicos. La opción de calibración está diseñada para el análisis rápido de varias muestras con una matriz similar (es decir, varias muestras de diferentes puntos a lo largo de la misma orilla del río).

Análisis (método de adición estándar de punto único)

- Ajuste el SAB a la sonda (si no usa el método de inmersión).
- Seleccione 'Cd, Pb' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición del electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos hasta que se complete. Haga clic
- en 'Adición estándar' en el panel de análisis. Espere aproximadamente dos minutos hasta que se le solicite agregar 20 ppb del estándar. Cuando se le indique, use la pipeta para agregar 280 µL del**CP50 Cd, Pb estándar**en el SAB y haga clic en 'Aceptar'. El análisis continuará ejecutándose durante aproximadamente dos minutos más, después de lo cual se mostrarán los resultados.

Resultado (método de adición estándar de punto único)

- Los resultados se muestran en la ventana de análisis hasta que se hace clic en 'Aceptar'. Después de esto, los resultados se muestran como un gráfico en la pestaña de gráficos y los resultados de ppb se ingresarán automáticamente en el registro de resultados. Se mostrarán dos gráficos, el primero es el escaneo de la concentración de la muestra original y el segundo es después de la adición del estándar. Si se ha detectado Cd o Pb, los picos se identificarán como Cd y Pb y se marcarán como tales. La concentración de la muestra original se informará en ppb.

Análisis (método de adición estándar multipunto)

- Ajuste el SAB a la sonda (si no usa el método de inmersión).
- Seleccione 'Cd, Pb' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición del electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos hasta que se complete. En el panel de control,
- asegúrese de que el tiempo de depósito esté configurado en 60 segundos. Asegúrese de que la opción 'Sustracción de fondo' esté marcada.
- Haga funcionar el agitador según sea necesario para disolver el tampón en la muestra de agua.
- Haga clic en 'Iniciar análisis' y espere aproximadamente 2 minutos para que se muestre el gráfico. Repita hasta que se estabilice. Tenga en cuenta que la lectura que se muestra en ppb debe ignorarse para este método.

- Usando las micropipetas, realice una adición estándar de la**CP50 Cd, Pb estándar**. Use un volumen de adición apropiado para el volumen de muestra y la concentración deseada. Para una mayor precisión, la adición de un estándar debe estar lo más cerca posible de la concentración esperada de la muestra. Por ejemplo, si se esperan 10 ppb de Cd en la muestra, la adición estándar debería agregar 10 ppb más.
- Recordatorio: para calcular el volumen de adición, utilice la siguiente fórmula:

$$\text{Volumen de adición estándar. (mL)} = \frac{\text{Vol. de muestra. (mL)} \times \text{Adición conc. (ppb)}}{\text{concentración estándar (ppb)}}$$

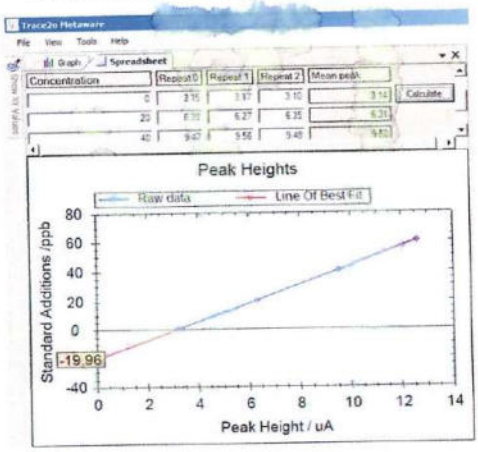
Por ejemplo, con un volumen de muestra de 70 ml, una concentración estándar de 5 ppm (o 5000 ppb) y una concentración de adición deseada de 10 ppb, el volumen de adición estándar sería:

$$\frac{70}{5000} \times 10 = 0{,}14 \text{ ml} = 140 \text{ µl}$$

- Haga clic en 'Iniciar análisis' y espere aproximadamente 2 minutos para que se muestre el gráfico. Repita si es necesario.
- Repita el procedimiento de adición estándar/Análisis de inicio dos veces más.

Resultado (método de adición estándar multipunto)

- Para calcular la altura del pico, primero coloque el lápiz óptico sobre el punto de datos que desea usar como el lado derecho del pico, luego toque y mantenga presionado el lápiz óptico y haga clic en 'calcular pico'. Si no se encuentra un punto válido, esta función aparecerá atenuada.
- Mueva el lápiz óptico hacia el lado izquierdo del pico y toque una vez. Se dibujará la línea de base y se mostrará la altura del pico, informada como corriente (µA).
- Para calcular la concentración, ingrese las alturas de los picos en la pestaña de la hoja de cálculo.



La tabla tiene cuatro entradas posibles para la concentración de la muestra. La primera entrada normalmente sería cero, ya que esta es la concentración desconocida de la muestra que se intenta establecer. Las entradas segunda, tercera y cuarta serían la concentración de la muestra después de cada adición estándar. En el ejemplo anterior, se realizan tres adiciones estándar de 20 ppb cada una. Las alturas de los picos se calculan para cada una de las adiciones y se introducen en la tabla. Para lograr una mayor precisión, se puede repetir el análisis después de cada adición para obtener un promedio de tres lecturas, aunque no es necesario llenar la tabla. Cuando haya ingresado todos los datos, haga clic en**Calcular**. Se calcularán las alturas medias de los picos y se trazará un gráfico de concentración frente a la altura de los picos. Se dibujará una línea de mejor ajuste a través de los datos y se mostrará la intersección y, que corresponde a la concentración de muestra desconocida para el metal de interés. El valor se muestra como negativo porque indica la cantidad que debe agregarse a cada uno de los puntos de datos para que la línea de mejor ajuste pase por el origen, que en este caso es 19,96 ppb.

Análisis (método de calibración)

- Ajuste el SAB a la sonda.
- Seleccione 'Cd, Pb' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición del electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos hasta que se complete. Haga clic
- en 'Calibración' en el panel de análisis. Espere aproximadamente dos minutos hasta que se le solicite agregar 20 ppb del estándar. Cuando se le solicite, use la pipeta para agregar 280 µL del estándar en el SAB y haga clic en 'Aceptar'. El análisis seguirá ejecutándose durante aproximadamente dos días más.

minutos hasta que se le solicite agregar otros 20 ppb de estándar. Repita el proceso de adición y haga clic en 'ok'. El análisis se ejecutará durante otros dos minutos antes de completar la calibración. Una

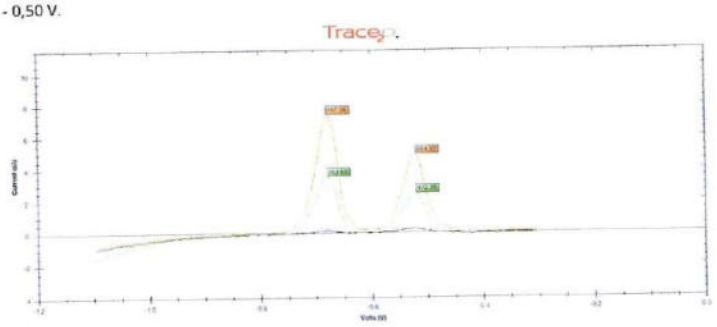
- vez finalizada la calibración se pueden realizar varios análisis consecutivos. Haga clic en "Analizar
- muestra" en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos para que se complete el análisis.

Resultado (método de calibración)

- Los resultados se muestran en la ventana de análisis hasta que se hace clic en 'Aceptar'. Después de esto, los resultados se muestran como un gráfico en la pestaña de gráficos. Si Cd y/o Pb están presentes, se verán picos en el gráfico que se marcarán como Cd y/o Pb y se mostrará la concentración de muestra calculada.

Grafico

- El cadmio aparece como un pico agudo alrededor de -0.67V. El plomo aparece como un pico agudo alrededor - 0,50 V.



LOD

- El LOD inferior es de 1 ppb, el LOD superior es de 500 ppb.
- Para aumentar el rango, la muestra se puede diluir con agua desionizada ultrapura. Otros tipos de agua podrían introducir contaminación.

Interferencias

- Los altos niveles de talio en la muestra de agua pueden afectar la calidad del análisis. Hay soluciones
- disponibles para combatir las interferencias en la muestra. Estos pueden ser específicos para tipos o condiciones de agua particulares. Para obtener más información, comuníquese con el departamento de soporte técnico de Trace2o®:técnico@trace2o.com

Traducido del inglés al español - www.onlinedoctranslator.com

Trace2O

HM3000

T2O-AN-304

NOTA DE APLICACIÓN

MÉTODO DEL COBRE

La siguiente nota de aplicación explica el procedimiento para la detección de Cobre usando el HM3000 Metalyser®.

POR FAVOR LEA ESTA NOTA DE APLICACIÓN CUIDADOSAMENTE. TRACE2O® HA ALTERADO LOS NOMBRES DE ALGUNOS REACTIVOS POR SIMPLICIDAD, POR LO QUE EL PROCEDIMIENTO PUEDE SER DIFERENTE AL SEGUIDO ANTERIORMENTE.

Equipo:

- **Equipo HM3000**
- **Tampón HM1**(Anteriormente M1 y 4 (a + b) sobres de tampón)
- **CU50 Cu estándar**(Anteriormente estándar M4 (5 ppm))
- **Estabilizador de Cobre CUSTAB**(Anteriormente estabilizador M4)
- **Solución de recubrimiento HG500 Hg**(Anteriormente solución acondicionadora M1,4,5)

Acondicionamiento de electrodos:

- Pula el electrodo WE1 hasta obtener un acabado de espejo y verifique con una lupa que no presente rayones ni rozaduras.
- Llene hasta la mitad el vaso de análisis de muestras (SAB) con**Solución de recubrimiento HG500 Hg**y ajuste a la sonda.
- Seleccione 'Acondicionamiento M1,4,5' en el 'Menú de mediciones disponibles' y luego haga clic en 'Electrodo de condición' en el panel Análisis.
- El paso de acondicionamiento M1,4,5 tomará aproximadamente 5 minutos.
- Una vez completado, devuelva el**Solución de recubrimiento HG500 Hg**hacia**Solución de recubrimiento HG500 Hg** y enjuague la sonda y el SAB con la solución de enjuague de electrodos y/o agua desionizada.

Preparación de la muestra:

- Agregar**dos sobres de HM1 Buffer**a la SAB.
- Agregue 70 ml de agua de muestra al SAB, ya sea agregando un volumen medido o ajustando el SAB a la sonda y sumergiéndolo en la fuente de agua hasta que dejen de burbujear.
- Agregar 280 µL de**Estabilizador de Cobre CUSTAB**al SAB usando la pipeta.

Existen tres métodos para llevar a cabo el análisis. La adición estándar de un solo punto es la opción más rápida, ya que utiliza dos puntos de datos para calcular la concentración. Esto también es menos preciso. La adición estándar multipunto utiliza cuatro puntos de datos para calcular la concentración y permite repetir los escaneos con fines de estabilización. Este método lleva más tiempo y utiliza más productos químicos. La opción de calibración está diseñada para el análisis rápido de varias muestras con una matriz similar (es decir, varias muestras de diferentes puntos a lo largo de la misma orilla del río).

Análisis (método de adición estándar de punto único)

- Ajuste el SAB a la sonda (si no usa el método de inmersión).
- Seleccione 'Cu' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición de electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos para que se complete. Haga clic en 'Adición
- estándar' en el panel de análisis. Espere aproximadamente dos minutos hasta que se le solicite agregar 20 ppb del estándar. Cuando se le indique, use la pipeta para agregar 280 µL del**CU50 Cu estándar**en el SAB y haga clic en 'Aceptar'. El análisis continuará ejecutándose durante aproximadamente dos minutos más, después de lo cual se mostrarán los resultados.

Resultado (método de adición estándar de punto único)

- Los resultados se muestran en la ventana de análisis hasta que se hace clic en 'Aceptar'. Después de esto, los resultados se muestran como un gráfico en la pestaña de gráficos y los resultados de ppb se ingresarán automáticamente en el registro de resultados. Se mostrarán dos gráficos, el primero es el escaneo de la concentración de la muestra original y el segundo es después de la adición del estándar. Si se ha detectado Cu, el pico se identificará como Cu y se marcará como tal. La concentración de la muestra original se informará en ppb.

Análisis (método de adición estándar multipunto)

- Ajuste el SAB a la sonda (si no usa el método de inmersión).
- Seleccione 'Cu' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición de electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos para que se complete. En el panel de control, asegúrese
- de que el tiempo de depósito esté configurado en 60 segundos. Asegúrese de que la opción 'Sustracción de fondo' esté marcada.
- Haga funcionar el agitador según sea necesario para disolver el tampón en la muestra de agua.
- Haga clic en 'Iniciar análisis' y espere aproximadamente 2 minutos para que se muestre el gráfico. Repita hasta que se estabilice. Tenga en cuenta que la lectura que se muestra en ppb debe ignorarse para este método.

- Usando las micropipetas, realice una adición estándar de la**CU50 Cu estándar**botella. Use un volumen de adición apropiado para el volumen de muestra y la concentración deseada. Para una mayor precisión, la adición de un estándar debe estar lo más cerca posible de la concentración esperada de la muestra. Por ejemplo, si se esperan 10 ppb de Cu en la muestra, la adición estándar debería agregar 10 ppb más.
- Recordatorio: para calcular el volumen de adición, utilice la siguiente fórmula:

$$\text{Volumen de adición estándar. (mL)} = \frac{\text{Vol. de muestra. (mL)} \times \text{Adición conc. (ppb)}}{\text{concentración estándar (ppb)}}$$

Por ejemplo, con un volumen de muestra de 70 ml, una concentración estándar de 5 ppm (o 5000 ppb) y una concentración de adición deseada de 10 ppb, el volumen de adición estándar sería:

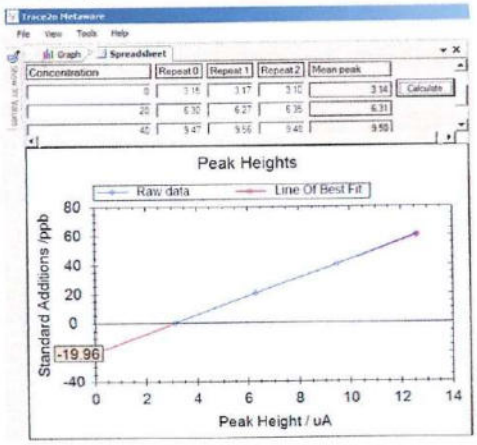
$$\frac{70}{5000} \times 10 = 0{,}14 \text{ ml} = 140 \text{ µl}$$

- Haga clic en 'Iniciar análisis' y espere aproximadamente 2 minutos para que se muestre el gráfico. Repita si es necesario.

Repita el procedimiento de adición estándar/Análisis de inicio dos veces más.

Resultado (método de adición estándar multipunto)

- Para calcular la altura del pico, primero coloque el lápiz óptico sobre el punto de datos que desea usar como el lado derecho del pico, luego toque y mantenga presionado el lápiz óptico y haga clic en 'calcular pico'. Si no se encuentra un punto válido, esta función aparecerá atenuada.
- Mueva el lápiz óptico hacia el lado izquierdo del pico y toque una vez. Se dibujará la línea de base y se mostrará la altura del pico, informada como corriente (µA).
- Para calcular la concentración, ingrese las alturas de los picos en la pestaña de la hoja de cálculo.



La tabla tiene cuatro entradas posibles para la concentración de la muestra. La primera entrada normalmente sería cero, ya que esta es la concentración desconocida de la muestra que se intenta establecer. Las entradas segunda, tercera y cuarta serían la concentración de la muestra después de cada adición estándar. En el ejemplo anterior, se realizan tres adiciones estándar de 20 ppb cada una. Las alturas de los picos se calculan para cada una de las adiciones y se introducen en la tabla. Para lograr una mayor precisión, se puede repetir el análisis después de cada adición para obtener un promedio de tres lecturas, aunque no es necesario llenar la tabla. Cuando haya ingresado todos los datos, haga clic en**Calcular**. Se calcularán las alturas medias de los picos y se trazará un gráfico de concentración frente a la altura de los picos. Se dibujará una línea de mejor ajuste a través de los datos y se mostrará la intersección y, que corresponde a la concentración de muestra desconocida para el metal de interés. El valor se muestra como negativo porque indica la cantidad que debe agregarse a cada uno de los puntos de datos para que la línea de mejor ajuste pase por el origen, que en este caso es 19,96 ppb.

Análisis (método de calibración)

- Ajuste el SAB a la sonda.
- Seleccione 'Cu' en el menú desplegable 'Medidas disponibles', luego haga clic en 'Condición de electrodo' en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos para que se complete. Haga clic en 'Calibración'
- en el panel de análisis. Espere aproximadamente dos minutos hasta que se le solicite agregar 20 ppb del estándar. Cuando se le solicite, use la pipeta para agregar 280 µL del estándar en el SAB y haga clic en 'Aceptar'. El análisis seguirá ejecutándose durante aproximadamente dos días más.

minutos hasta que se le solicite agregar otros 20 ppb de estándar. Repita el proceso de adición y haga clic en 'ok'. El análisis se ejecutará durante otros dos minutos antes de completar la calibración. Una

- vez finalizada la calibración se pueden realizar varios análisis consecutivos. Haga clic en "Analizar
- muestra" en el panel de análisis y espere aproximadamente dos minutos para que se complete el análisis.

Resultado (método de calibración)

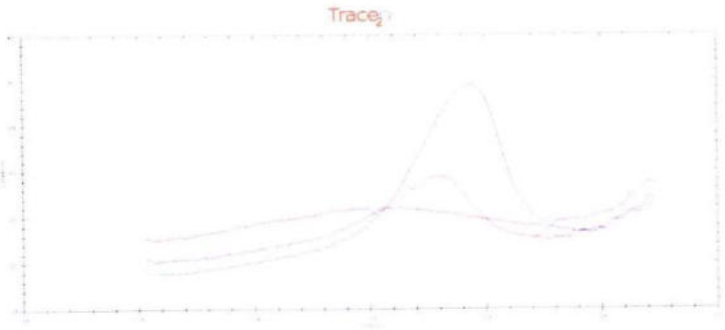
- Los resultados se muestran en la ventana de análisis hasta que se hace clic en 'Aceptar'. Después de esto, los resultados se muestran como un gráfico en la pestaña de gráficos. Si Cu está presente, se verá un pico en el gráfico que se marcará como Cu y se mostrará la concentración de muestra calculada.

Estabilizador

- El**Estabilizador de Cobre CUSTAB**se proporciona para mejorar la estabilidad de la prueba de cobre en algunas muestras de agua.

Grafico

-El cobre aparece como un pico ancho alrededor de -0.25V.



LOD

- El LOD inferior es de 1 ppb, el LOD superior es de 500 ppb.
- Para aumentar el rango, la muestra se puede diluir con agua desionizada ultrapura. Otros tipos de agua podrían introducir contaminación.

Interferencias

- Los altos niveles de zinc en la muestra de agua pueden afectar la calidad del análisis.
- Hay soluciones disponibles para combatir las interferencias en la muestra. Estos pueden ser específicos para tipos o condiciones de agua particulares. Para obtener más información, comuníquese con el departamento de soporte técnico de Trace2o®:técnico@trace2o.com

Trace2o

HM3000

APPLICATION NOTE T2O-AN-307

CHROMIUM (VI) (M7) METHOD

The following application note explains the procedure for the detection of Hexavalent Chromium (M7) using the HM3000 Metalyser.

Equipment:

- HM3000 Kit
- Chromium Electrode
- Chromium Electrode Cutter
- Cr Sample Beaker
- AU10000 Conditioning Solution
- EP1 Electrode Preparation Solution
- HM6 Buffer Solution
- CR45 Standard (4.5ppm)

Getting started:

- Ensure that the latest Metalyser Firmware and method files are installed on the instrument, and that the latest Metaware software is installed on the tablet PC. Detailed instructions for establishing a connection, loading drivers and installing software are provided in the Trace2o HM3000 Field Pro Instruction Manual.

Electrode conditioning:

- Insert the chromium electrode into the electrode cutter as shown and squeeze the handle to cut a small disc from the end of the electrode.





- Connect the chromium electrode to the 'WE3' port on the sonde. Remove the WE1 and WE2 electrodes.
- Empty the contents of the AU10000 Conditioning Solution bottle into the Cr Sample Beaker and attach to the sonde.
- On the Metaware software, select 'M7 Conditioning' from the 'Measurements available' menu, then select 'Condition Electrode'.
- The M7 conditioning step will take approximately 2 minutes.
- Once complete, the Metaware will display 'All done'. Select 'OK'.
- Once completed, return the conditioning solution to the AU10000 conditioning solution bottle and rinse the Sonde and SAB with the Electrode Rinse Solution and/or deionised water.

Electrode preparation:

- Empty the contents of the EP1 Electrode Preparation Solution bottle into the Cr Sample Beaker and attach to the sonde.
- On the Metaware software, select 'M7 Preparation' from the 'Measurements available' menu, then select 'Condition Electrode'.
- The M7 electrode preparation step will take approximately 2 minutes.
- Once complete, the Metaware will display 'All done'. Select 'OK'.
- Once completed, return the electrode preparation solution to the EP1 electrode preparation solution bottle and rinse the Sonde and SAB with the Electrode Rinse Solution and/or deionised water.

Sample preparation:

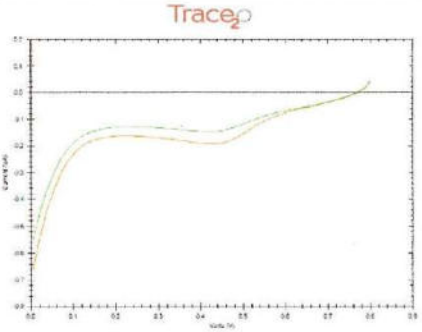
- Using the supplied syringe, add 7mL of HM6 Buffer solution to the Cr Sample Beaker.
- Add 63mL of sample water, either by using a measured volume or by filling the sample beaker to the bottom of the void on the side of the sample beaker.
- Attach the sample beaker to the sonde.

Analysis:

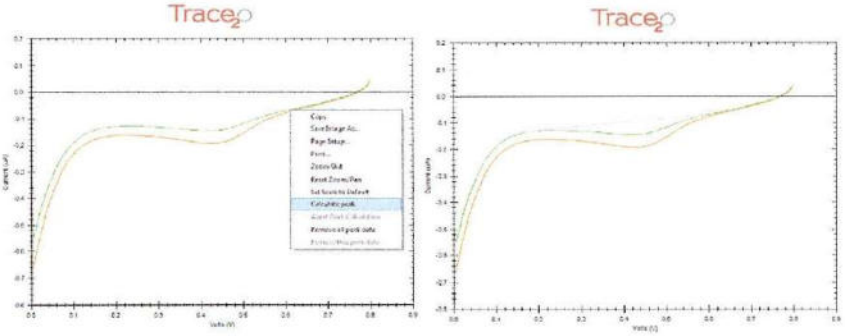
- On the Metaware software, select 'Cr (VI)' from the 'Measurements available' menu.
- Ensure that 'Background subtraction' is unchecked on the 'Control' panel.
- Select 'Standard Addition'. Wait approximately two minutes until prompted to add 20ppb of the standard. When prompted use the pipette to add 280uL of the CR45 standard into the SAB and click 'OK'. The analysis will continue to run for approximately two further minutes, after which two graphs will be displayed in the Metaware window.

Results:

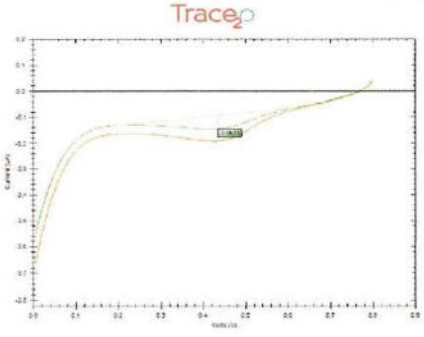
- The graphical data will be displayed. Cr (VI) appears as a distinct trough in the centre of the graph. The second graph will show a noticeably deeper trough. These are called the 'peaks'.



- To determine the original sample concentration, the peak heights must be determined.
- Examine the first graph and identify the 'baseline'. This is an imaginary line drawn from the highest point on one side of the trough, to the highest point on the other side of the trough.
- Right-click on one of the points where the imaginary 'baseline' intersects with the graph. Select 'Calculate Peak', and drag the mouse to the other point where the baseline intersects with the graph, and left-click once.



- The baseline should now be drawn on the graph, and the peak height should be displayed.



- Repeat the peak height determination process with the second graph.
- Using the Spreadsheet tab as described in the HM3000 Instruction Manual, enter the peak heights (without +/- sign) where directed.
- Enter the addition concentration in ppb (the first line should read 0, as this was the original sample).
- The Spreadsheet tab will now display the original sample concentration in ppb.

- N.B. This instruction provides for a simplified analysis. For further instructions on how to perform a multi-point standard addition, please refer to the HM3000 Instruction Manual.

- The 'Open Files' panel in Metaware will display the date, time and sample water temperature. There is the option to input sample information. Right-click on the individual lines in the 'Open Files' panel and select 'Update Comments' to add information to the file.
- To save the data, select the individual line in the 'Open Files' panel, then click on the 'File' menu and select 'Save Data File'. Navigate to the chosen location and click 'save'.
- The data file will be saved in CSV (comma separated value) format and can be loaded back into Metaware by selecting 'File', then 'Open Data File'.

LOD:

- The Lower LOD is 50ppb; upper LOD is 500ppb.
- To increase the range beyond the upper limit, the sample can be diluted using Ultra-pure de-ionised water. Other water types could introduce contamination.

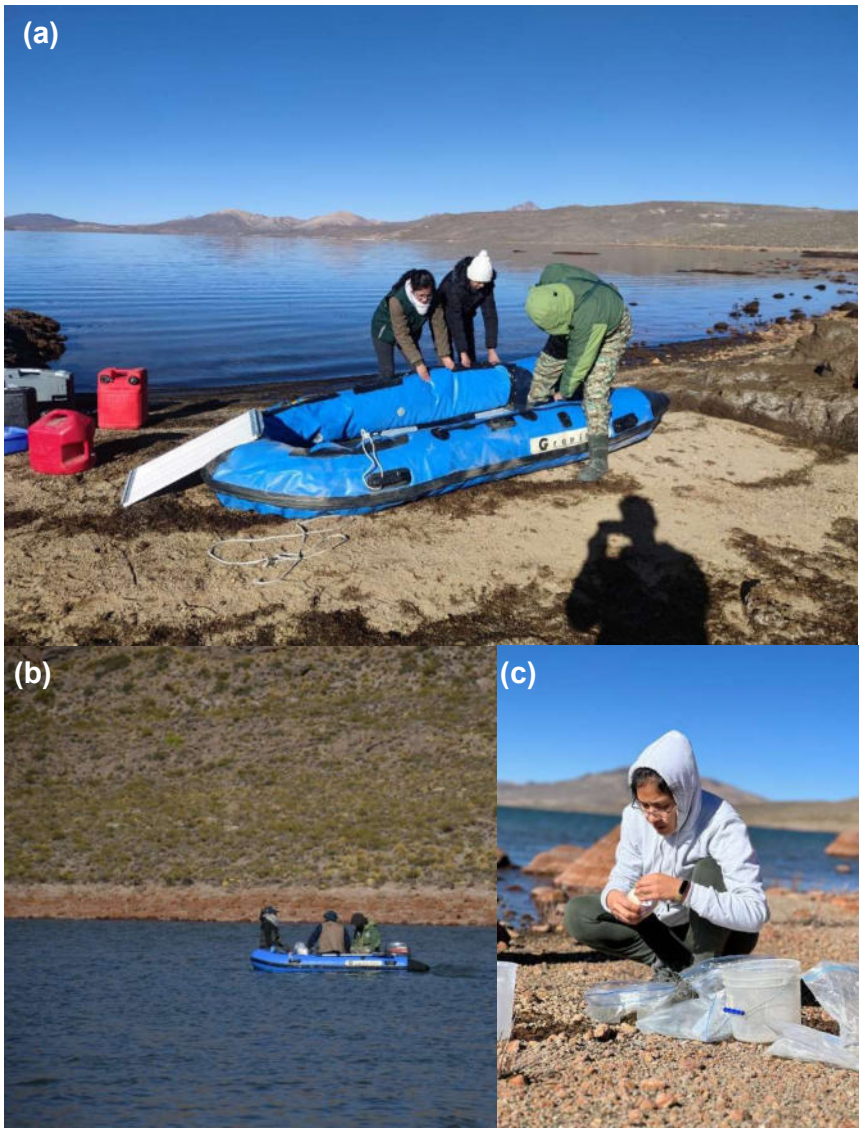
Notes:

- It is vital to ensure that the correct version of the instrument Firmware is installed. The latest version of the firmware, and the firmware updater software, can be acquired from Trace2o. Follow the on-screen instructions to upgrade the firmware.
- It is vital to ensure that the correct version of the Metaware is installed on the tablet PC. The latest version of the Metaware can be acquired from Trace2o.

Anexo 10 Panel fotográfico

Figura 36

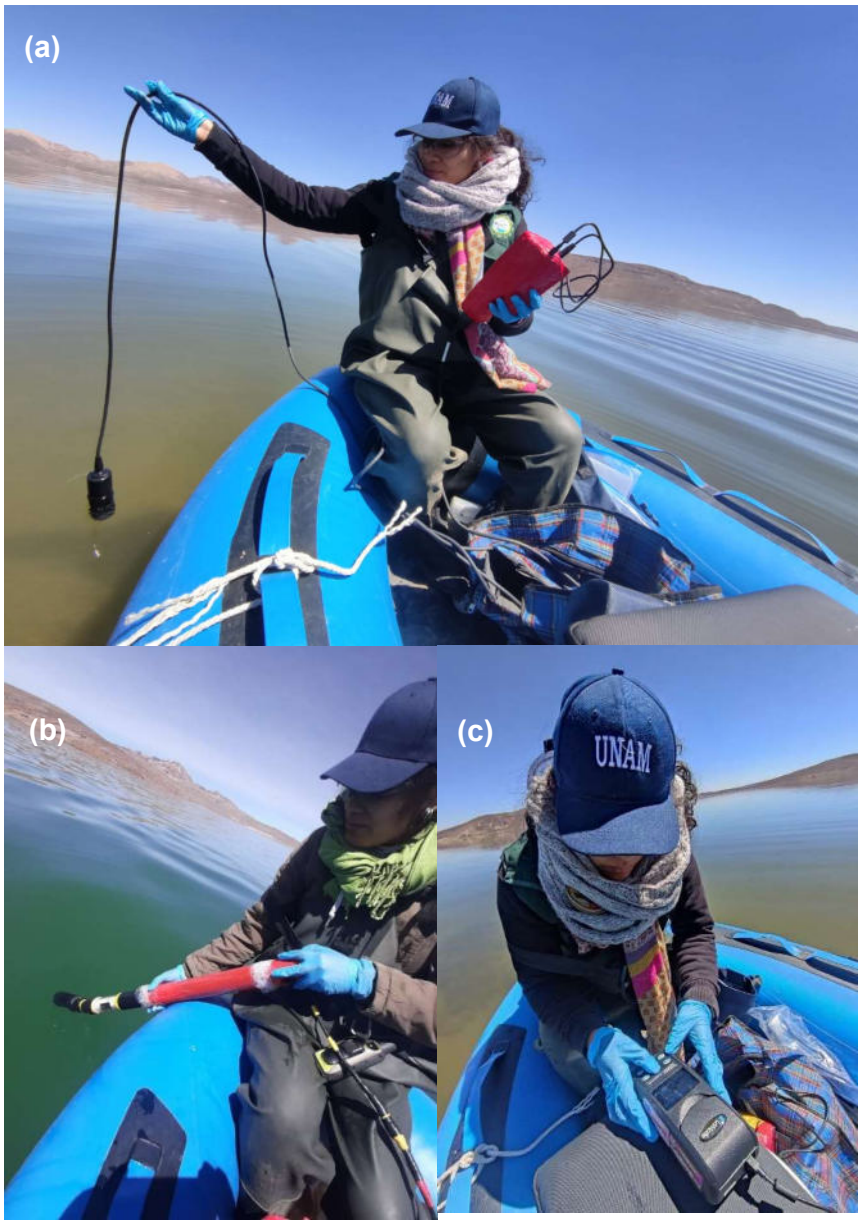
Preparación de zodiac para realizar la toma de muestras



Nota: (a) Armado de zodiac
(b) Navegando en el embalse Pasto Grande para la toma de muestras
(c) Preparando material para el almacenamiento de las muestras

Figura 37

Toma de parámetros físico químicos in situ



Nota: (a) Medición insitu de parámetros físico químicos con el multiparámetro
(b) Medición de Clorofila-A con el fluorómetro
(c) Medición de turbidez

"UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL UNAM

Formulario de autorización para la publicación electrónica en la página web del Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Moquegua, de conformidad con la Ley N° 30035 Ley que regula el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto y Resolución de Comisión Organizadora N° 041-2022-UNAM que aprueba el Reglamento que regula el Repositorio Institucional Digital de la UNAM.

1. DATOS DEL AUTOR

Nombres y Apellidos : FIORELLA CAROLINE VALDEZ ESPINOZA
DNI/Carnet de Extranjería/Pasaporte N° : 72361931
Correo electrónico : caroline.va.es09@gmail.com
Teléfono/Celular : 983189366

2. GRADO, TITULO O ESPECIALIZACIÓN (Marque con una X)

Bachiller	Título Profesional	Magister	Doctor	Segunda Especialidad
	X			

3. TIPO DE PUBLICACIÓN (Marque con una X)

a) Articulo ( )
b) Tesis de pregrado (X)
c) Tesis de Maestría ( )
d) Tesis de Doctorado ( )
e) Monografía ( )
f) Reporte de caso científico o hallazgos ( )
g) Libro ( )
h) Parte de un libro ( )
i) Revisión ( )
j) Conferencia ( )
k) Presentación ( )
l) Artículo preliminar ( )
m) Articulo antes de ser publicado ( )
n) Artículo de prensa ( )
o) Documentos internos ( )
p) Imagen ( )
q) Documentos técnicos ( )
r) Ponencias presentadas en eventos científicos (Jornada, Congreso, Simposio Conferencias, etc.) ( )
s) Informes de suficiencia profesional ( )
t) Patentes producidas por académicos/as ( )

4. TIPO DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN (Marque con una X)

a) Tesis (X)
b) Trabajo de Investigación ( )
c) Trabajo de suficiencia profesional ( )
d) Trabajo académico ( )

5. DATOS DE LA PUBLICACION

a) Título : ESTUDIO DE COMUNIDADES MICROBIANAS DE CIANOBACTERIAS DE AGUAS DEL EMBALSE PASTO GRANDE MEDIANTE ANÁLISIS DE ADN METAGENÓMICO (ADNmg) EN ÉPOCA DE ESTIAJE
b) Campo del conocimiento OCDE (Indicar el código de clasificación OCDE de la obra : https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html) : 2.07.00
c) Fecha de publicación : 16-12-2024

6. DATOS DEL ASESOR:

a) Nombres y Apellidos : HEBERT HERNAN SOTO GONZALES
b) DNI/Pasaporte/Cédula : 01317360
c) ORCID : 0000-0002-9936-1943

FIRMA :

DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 72361931
NOMBRES Y APELLIDOS : FIORELLA CAROLINE VALDEZ ESPINOZA

LICENCIAS

Licencia Estándar

Bajo los siguientes términos, autorizo el depósito de mi trabajo de investigación en el Repositorio Institucional Digital de la UNAM.

Con la autorización de depósito da mi trabajo de investigación, otorgo a la Universidad Nacional de Moquegua, una Licencia No Exclusiva para reproducir. distribuir, comunicar al público, transformar (únicamente mediante su traducción a otros idiomas) y poner a disposición del público mi trabajo de investigación (incluido el resumen), en formato físico o digital, en cualquier medio, conocido o por conocerse, a través de los diversos servicios provistos por la Universidad, creados o por crearse, tales como el Repositorio Institucional Digital de la UNAM, Colección de Tesis, entre otros, en el Perú y en el extranjero, por el tiempo y veces que considere necesarias, y libre de remuneraciones.

En virtud de dicha Licencia, la UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA, podrá reproducir mi trabajo de investigación en cualquier tipo de soporte y en más de un ejemplar, sin modificar su contenido, solo con los propósitos de seguridad, respaldo y preservación.

Declaro que el trabajo de investigación es una creación de mi autoría y exclusiva titularidad, o coautoría con titularidad compartida, y me encuentro facultado a conceder la presente licencia y, asimismo, garantizo que dicho trabajo de investigación no infringe derechos de autor de terceras personas.

La UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA consignara el nombre del/los autor/es del trabajo de investigación, y no le hará ninguna modificación más de la permitida en la presente licencia.

Autorizo el depósito (marque con una X).

(X) **SI autorizo que se deposite inmediatamente.**

FIRMA : .....

DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 72361931

NOMBRES Y APELLIDOS : FIORELLA CAROLINE VALDEZ ESPINOZA

FECHA : 07 DE FEBRERO DEL 2025



DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN / TESIS / TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL

Yo, FIORELLA CAROLINE VALDEZ ESPINOZA,
bachiller de la Escuela Profesional de: INGENIERIA AMBIENTAL,
de la Universidad Nacional de Moquegua, identificado(a) con DNI N°. 72361931., autor(a) del Trabajo de Investigación / Tesis / Trabajo de suficiencia profesional, denominado:
ESTUDIO DE COMUNIDADES MICROBIANAS DE CIANOBACTERIAS DE AGUAS DEL EMBALSE PASTO GRANDE MEDIANTE ANÁLISIS DE ADN METAGENÓMICO (ADNmg) EN ÉPOCA DE ESTIAJE.

Declaro bajo juramento que:

1. El trabajo de investigación es auténtico, siendo resultado de mi trabajo personal, que no se ha copiado, que no se ha utilizado ideas, formulaciones, citas integrales e ilustraciones diversas, sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc., (en versión digital o impresa), sin mencionar de forma clara y exacta su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor. Por tanto, el trabajo de investigación no ha sido plagiado total ni parcialmente.
2. El trabajo de investigación no ha sido autoplagiada, es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
3. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presentan en el trabajo de investigación constituirán aporte a la realidad investigada.

Soy consciente de que, el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, es objeto de sanciones universitarias y/o legales, por lo que asumo cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de irregularidades en el trabajo de investigación, así como de los derechos sobre la obra presentada.

Moquegua, 07 DE FEBRERO DEL 2025



Huella digital

Nombres y Apellidos: FIORELLA CAROLINE VALDEZ ESPINOZA
DNI: 72361931

Firmado digitalmente por SOTO GONZALES Hebert Hernan FAU 20449347448 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 17.12.2024 18:57:39 -05:00

Fiorella Caroline VALDEZ ESPINOZA

INFORME DE TESIS FINAL FIORELLA CAROLINE VALDEZ ESPINOZA

REVISION DE TESIS FIORELLA

TESIS FIORELLA

Universidad Nacional de Moquegua

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid:::1:3118027843

Fecha de entrega
17 dic 2024, 5:05 p.m. GMT-5

Fecha de descarga
17 dic 2024, 6:51 p.m. GMT-5

Nombre de archivo
INFORME_DE_TESIS_FINAL_FIORELLA_CAROLINE_VALDEZ_ESPINOZA.pdf

Tamaño de archivo
10.3 MB

148 Páginas

27,104 Palabras

153,564 Caracteres

11% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Firmado digitalmente por SOTO GONZALES Hebert Hernan FAU 20449347448 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 17.12.2024 18:57:53 -05:00

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 8 palabras)

Exclusiones

- N.º de fuentes excluidas
- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

9% Fuentes de Internet
6% Publicaciones
5% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

Caracteres reemplazados
112 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Texto oculto
3790 caracteres sospechosos en N.º de páginas
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DECENIO DE LA IGUALDAD DE OPORTUNIDADES PARA MUJERES Y HOMBRES
"AÑO DE LA RECUPERACIÓN Y CONSOLIDACIÓN DE LA ECONOMÍA PERUANA"

RESOLUCIÓN DE CONSEJO UNIVERSITARIO N° 107-2025-CU-UNAM

Moquegua, 10 de marzo de 2025

VISTOS:

El Acuerdo de Sesión Extraordinaria de Consejo Universitario de fecha 10 de marzo de 2025; Proveído N° 723-2025 de fecha 04 de marzo de 2025 emitido por el Rectorado; Informe N° 094-2025-UNAM-R/SG de fecha 04 de marzo de 2025 emitido por la Secretaria General; Carta N° 043-2025-UNAM/SEGE/GYT/SVR de fecha 03 de marzo de 2025 emitido por el Área de Grados y Títulos; Sobre el otorgamiento del Título Profesional de Ingeniero Ambiental, y;

CONSIDERANDO:

Que, la Constitución Política del Perú en su artículo 18º prevé que cada Universidad es autónoma en su régimen normativo, de gobierno, académico, administrativo y económico, y el artículo 8º de la Ley Nº 30220, Ley Universitaria, establece que la referida autonomía inherente a las Universidades, se ejerce de conformidad con la Constitución y las Leyes de la República e implica las organizaciones de su sistema académico, económico y administrativo, así como la administración de sus bienes y rentas, elaborar su presupuesto y aplicar sus fondos con la responsabilidad que impone la Ley;

Que, el artículo 58° de la Ley Universitaria, Ley Nº 30220, concordado con el artículo 14º del Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua, aprobado con Resolución de Comisión Organizadora Nº 578-2021-UNAM, establecen que el **Consejo Universitario es el máximo órgano de gestión, dirección y ejecución académica y administrativa de la universidad;**

Que, el artículo 44° de la Ley Nº 30220, Ley Universitaria, señala que las universidades otorgan los grados académicos de Bachiller, Maestro, Doctor y los Títulos Profesionales que correspondan, a nombre de la Nación (...);

Que, el numeral 45.2 del artículo 45° de la Ley Nº 30220, Ley Universitaria, precisa **los requisitos mínimos para la obtención del título profesional, como son: el grado de Bachiller y la aprobación de una tesis o trabajo de suficiencia profesional**. Asimismo, establece que el título profesional solo se puede obtener en la universidad en la cual se haya obtenido el grado de bachiller;

Que, con Resolución de Comisión Organizadora N° 1153-2021-UNAM, se aprobó el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, el mismo que fue modificado a través de las Resoluciones de Comisión Organizadora N° 410, 453 y 890-2022; N° 880-2023 y N° 081, 484-2024-UNAM/CO, el cual establece los requisitos y norma los procedimientos para la obtención de los grados académicos y títulos profesionales conferidos por esta Casa Superior de Estudios;

Que, mediante Carta N°43-2025-UNAM/SEGE/GYT/SVR, la Especialista del Área de Grados y Títulos, remite a Secretaria General, el expediente de un (1) bachiller de la Escuela Profesional de Ingeniería de Ambiental, quien se encuentra apta para la expedición del Título Profesional de Ingeniero de Ambiental por la modalidad de sustentación de Tesis, al haber cumplido satisfactoriamente con los requisitos legales y reglamentarios[1], exigidos en el Reglamento de

[1] Articulo 122°. - Requisitos para la obtención del Título Profesional
Para obtener el Título Profesional el interesado deberá presentar ante su Escuela Profesional un expediente con la siguiente documentación:
a. Solicitud dirigida al Director de la Escuela Profesional o quien haga sus veces, indicando la fecha y numero de comprobante de pago.
b. Dos (2) fotografías de frente, tamaño pasaporte a color con fondo blanco (con traje formal); para garantizar la seguridad ciudadana.
c. Dos ejemplares de la Tesis, del Trabajo de Suficiencia Profesional o Informe del Examen Profesional en físico, uno para la Biblioteca y otro para la Escuela Profesional, y un CD con la versión digital.
d. Formulario de autorización del graduado para la publicación de la Tesis, Trabajo de Suficiencia Profesional o Informe de Examen Profesional en el repositorio.
e. Declaración Jurada de originalidad de la Tesis, Trabajo de Suficiencia Profesional o Informe de Examen Profesional.

Domicilio Fiscal: Prolongación Av., Ancash S/N - Moquegua
RUC: 20449347448 - Teléfono: (053) 670168
Página Web: www.unam.edu.pe

Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, conforme lo señala la Dirección de la Escuela Profesional de Ingeniería de Ambiental, razón por la cual la Secretaría General incluye el expediente como punto de agenda para ser tratado en Sesión de Consejo Universitario de fecha 10 de marzo de 2025;

Que, se ha establecido como atribución del Consejo Universitario de la UNAM, la facultad de conferir los grados académicos y los títulos profesionales (...), por lo que en mérito al pedido del Secretario General y debatido el caso en Sesión Extraordinaria de fecha 10 de marzo de 2025, se acordó por unanimidad **conferir a nombre de la Nación el Título Profesional de Ingeniero de Ambiental a un (1) bachiller de la Escuela Profesional de Ingeniería de Ambiental de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Nacional de Moquegua**;

De conformidad con el artículo 59° de la Ley Universitaria, Ley N° 30220, concordado con el artículo 16° del Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua, y estando a lo acordado en la Sesión Extraordinaria de fecha 10 de marzo de 2025 de Consejo Universitario;

SE RESUELVE:

ARTÍCULO PRIMERO: CONFERIR, a nombre de la Nación el **TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AMBIENTAL** por la modalidad de Sustentación de Tesis, a la Bachiller de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Nacional de Moquegua, de acuerdo al siguiente detalle:

1. **FIORELLA CAROLINE VALDEZ ESPINOZA**

   TESIS : "ESTUDIO DE COMUNIDADES MICROBIANAS DE CIANOBACTERIAS DE AGUAS DE EMBALSE PASTO GRANDE MEDIANTE ANÁLISIS DE ADN METAGENÓMICO (ADNMG) EN ÉPOCA DE ESTIAJE", cuyo Asesor fue el Dr. Herber Hernán Soto Gonzalez.

ARTÍCULO SEGUNDO: AUTORIZAR, a la Secretaría General de la Universidad Nacional de Moquegua, expedir y registrar el Diploma correspondiente para su otorgamiento.

ARTÍCULO TERCERO: ENCARGAR al Área de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, para que realice las acciones pertinentes conducentes, relacionadas con la inscripción de los grados y títulos en el Registro de Grados y Títulos de la Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria - SUNEDU.

ARTÍCULO CUARTO: NOTIFICAR, la presente Resolución a las instancias y dependencias administrativas y académicas de la Universidad Nacional de Moquegua, para su conocimiento, cumplimiento y demás fines pertinentes.

ARTÍCULO QUINTO: ENCARGAR, a la Oficina de Tecnología de la Información, la publicación de la presente Resolución en el portal de transparencia de la Universidad Nacional de Moquegua.

La Escuela Profesional es responsable de completar el expediente del bachiller en un plazo máximo de 3 días hábiles y derivar a la Oficina de Secretaría General, adjuntando los siguientes documentos:

a. Copia del acta de sustentación indicando la modalidad de obtención del título profesional.
b. Constancia de "no adeudo" de Bienes a la Universidad, bienes a los Laboratorios Básicos y de Especialidad, material bibliográfico; dichos documentos deberán ser refrendados por los responsables a cargo.

///... **Resolución de Consejo Universitario N° 107-2025-CU-UNAM**

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE, CÚMPLASE Y ARCHÍVESE

DR. HUGO RUBEN MARCA MAQUERA
Rector
Universidad Nacional de Moquegua

ABG. GUILLERMO S. KUONG CORNEJO
Secretario General
Universidad Nacional de Moquegua

Domicilio Fiscal: Prolongación Av., Ancash S/N - Moquegua
RUC: 20449347448 - Teléfono: (053) 670168
Página Web: www.unam.edu.pe