UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

METAGENÓMICA MICROALGAL DEL EMBALSE PASTO GRANDE Y SUS RÍOS TRIBUTARIOS EN RELACIÓN A LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS DURANTE ÉPOCAS DE ESTIAJE Y AVENIDA, MOQUEGUA – 2023

TESIS

PRESENTADO POR:

BACH. BRAYAN ALEXANDER CHIPANA CONDORI

BACH. MARIANS ROMINA LUQUE CHECALLA

ASESOR

DR. HEBERT HERNAN SOTO GONZALES

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AMBIENTAL

ILO – PERÚ

2025

Folio Nº 068

ACTA DE SUSTENTACIÓN

I. Modalidad:

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

II. Documento de aprobación para la sustentación:
RESOLUCIÓN N° 040-2025-CF-FACIA-UNAM

Fecha: 10/07/2025

III. El jurado ha dictaminado la (el) TESIS, TITULADO:
Metagenómica microbial del embalse Paso Grande y sus ríos Tributarios en relación a la concentración de metales pesados durante época de estiaje y avenida, Moquegua-2023

Bachiller: Brayan Alexander chipana condori y Marians R. Luque checalla
Asesor Principal: Hebert Herman Soto Gonzales
Co-Asesor: .....

IV. Se dictamina:

Como: Aprobados por Unanimidad la sustentación de manera:

Presencial [X] Virtual [ ]

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

Opta el Título Profesional de INGENIERO AMBIENTAL.

Siendo las 14:30 horas, del 16 de Julio del año 2025 se procede con la firma en conformidad de lo dictaminado por el Jurado.

Edgar V. Bedoya Justo
Presidente

Paulino Flavio Ríos Zapana
Primer Miembro

Sheyla Rosalios Fernández
Segundo Miembro

Brayan Alexander Chipana Condori
76597485
Bachiller

Marians Luque Checalla
71004531

DEDICATORIA

A Dios, por darme la fortaleza y sabiduría para seguir adelante en cada desafío.

I.

A mi mamá y mi hermana, por su amor incondicional, su apoyo en cada paso de este camino y por ser mi fuente de inspiración y motivación constante.

Al grupo de investigación del laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología junto con el Dr. Hebert Soto Gonzales, por compartir su conocimiento, guiarme con paciencia y enseñarme el valor de la disciplina y la perseverancia.

Y a todas aquellas personas que, de una u otra manera, han sido parte de este logro, recordándome que los sueños se alcanzan con esfuerzo, dedicación y pasión.

Marians Romina Luque Checalla

II.

A mis padres, por su amor incondicional, su apoyo constante y por ser mi mayor inspiración en cada paso de este camino.

A mi asesor, por su guía, paciencia y enseñanzas que enriquecieron este trabajo.

Al laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología, por brindarme las herramientas y el espacio para desarrollar esta investigación.

A mi alma mater, la Universidad Nacional de Moquegua, por ser el pilar de mi formación profesional y académica.

Con gratitud y dedicación, este logro es también suyo.

Brayan Alexander Chipana Condori

AGRADECIMIENTO

Expresamos en primer lugar nuestro agradecimiento a Dios y a nuestras familias, por el incondicional apoyo emocional brindado a lo largo de esta etapa, el cual fue fundamental para la culminación de la presente investigación.

Agradecemos a la Universidad Nacional de Moquegua, nuestra alma mater, por la formación académica recibida durante nuestra trayectoria en la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, la cual ha sido base esencial para nuestro desarrollo profesional.

Extendemos nuestro sincero reconocimiento al Dr. Hebert Hernan Soto Gonzales, asesor de esta tesis, por compartir generosamente sus conocimientos, experiencia y guía constante en el desarrollo de este proyecto.

Al Blgo. Diego James Arpasi, por su valioso apoyo en la recolección de muestras durante las salidas de campo, contribuyendo significativamente a la calidad de los datos obtenidos.

Finalmente, expresamos nuestra gratitud al Grupo de Investigación en Bioprospección de Microorganismos de Interés Biotecnológico (BIOMIB), dirigido por el Dr. Hébert Hernán Soto Gonzales, así como al Proyecto de Investigación Especial “Limnología física del embalse Pasto Grande” (Resolución de Comisión Organizadora N° 0406-2020-UNAM), por financiar esta tesis y facilitar el uso de equipos e insumos necesarios para el desarrollo de la presente investigación. Asimismo, agradecemos a nuestros compañeros del grupo BIOMIB por su apoyo, colaboración y constante motivación.

RESUMEN

El presente estudio evaluó la composición metagenómica de microalgas en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios, en relación con la concentración de metales pesados durante las épocas de estiaje y avenida en Moquegua, en donde la contaminación por metales, resultado de actividades mineras y fuentes naturales, se ve agravada por el cambio climático, afectando la biodiversidad acuática y alterando la fisiología de las microalgas, principales productores primarios del ecosistema. En este contexto, la tecnología de secuenciación de nueva generación (NGS) permite caracterizar la comunidad microalgal sin necesidad de cultivo, identificando taxones con potencial uso en biorremediación. Se recolectaron muestras de agua en dos épocas siguiendo el Protocolo Nacional de Monitoreo de Calidad de Recursos Hídricos Superficiales. Se midieron parámetros fisicoquímicos con equipos multiparamétricos y metales pesados mediante voltamperometría y espectrometría de masas. El estudio metagenómico incluyó la extracción de ADN ambiental, su cuantificación, amplificación por PCR y posterior secuenciación. Los resultados revelaron alta variabilidad filogenética de microalgas entre épocas: durante la avenida predominaron las clases Chlorophyceae y Dinophyceae, mientras que en estiaje destacaron las clases Bacillariophyceae y Trebouxiophyceae. La presencia de diatomeas sugiere su rol en la biosorción de metales, y se observó un aumento de taxones de cianobacterias en avenida. El pH mostró variaciones marcadas entre puntos y estaciones: en avenida osciló entre 3.36 (EPgra01) y 7.73 (RTocc), y en estiaje entre 3.10 (RPata) y 7.51 (Naciente), con una tendencia general a valores más ácidos en estiaje, lo cual favorece la solubilidad y toxicidad de metales. Metales como cadmio, mercurio, plomo y zinc superaron los límites de los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) en puntos como RPata, RAnta y RMillo, especialmente donde el pH fue más ácido. Se evidenció además una correlación entre la concentración de metales pesados y la clorofila-*A*, lo que indica un impacto directo en la productividad primaria. Este estudio aporta una línea base para futuras investigaciones en biorremediación y gestión de cuerpos de agua afectados por metales pesados.

Palabras clave: Metagenómica, microalgas, metales pesados, ADN ambiental, secuenciación NGS.

ABSTRACT

This study evaluates the metagenomic composition of microalgae in the Pasto Grande reservoir and its tributary rivers in relation to heavy metal concentrations during the low and high water seasons in Moquegua, where metal contamination resulting from mining activities and natural sources is aggravated by climate change, affecting aquatic biodiversity and altering the physiology of microalgae, the ecosystem's main primary producers. In this context, next-generation sequencing (NGS) technology allows characterizing the microalgal community without the need for cultivation, identifying taxa with potential use in bioremediation. Water samples were collected in two seasons following the National Protocol for Monitoring the Quality of Surface Water Resources. Physicochemical parameters were measured with multiparameter equipment, and heavy metals were measured using voltammetry and mass spectrometry. The metagenomic study included the extraction of environmental DNA, its quantification, PCR amplification, and subsequent sequencing. The results revealed high phylogenetic variability of microalgae between seasons: during the flood, the classes Chlorophyceae and Dinophyceae predominated, while during the dry season, the classes Bacillariophyceae and Trebouxiophyceae stood out. The presence of diatoms suggests their role in metal biosorption, and an increase in cyanobacterial taxa was observed in the flood. The pH showed marked variations between points and seasons: during the flood, it ranged from 3.36 (EPgra01) to 7.73 (RTocc), and during the dry season, between 3.10 (RPata) and 7.51 (Naciente), with a general tendency toward more acidic values in the dry season, which favors the solubility and toxicity of metals. Metals such as cadmium, mercury, lead, and zinc exceeded the limits of the Environmental Quality Standards (ECA) at sites such as RPata, RAnta, and RMillo, especially where the pH was more acidic. A correlation was also found between heavy metal concentrations and chlorophyll A, indicating a direct impact on primary productivity. This study provides a baseline for future research into bioremediation and management of water bodies affected by heavy metals.

Keywords: Metagenomics, microalgae, heavy metals, environmental DNA, NGS sequencing.

ÍNDICE

Pág.

RESUMEN **4**

ABSTRACT **5**

INTRODUCCIÓN **20**

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA **21**

1.1 Descripción y formulación del problema 21

1.2 Objetivos 24

1.2.1 Objetivo general *24*

1.2.2 Objetivos específicos *24*

1.3 Justificación e importancia 24

1.4 Hipótesis 26

1.5 Variables 27

II. MARCO TEÓRICO **29**

2.1 Antecedentes 29

2.1.1 Internacionales *29*

2.1.2 Nacionales *32*

2.2 Bases teóricas 33

2.2.1 Limnología física *33*

2.2.2 Metagenómica microalgal *33*

2.2.3 Contaminación ambiental *33*

2.2.4 Metales pesados *33*

2.2.5 Cambio climático *34*

2.2.6 Microalgas *34*

2.2.7 Floraciones algales *34*

2.2.8 Estratificación térmica *35*

2.2.9 Secuenciación de ADN *35*

2.2.10 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) *35*

2.3 Definición de términos 36

2.3.1. Época de estiaje *36*

2.3.2. Época de avenida *36*

2.3.3. Metagenómica *36*

2.3.4. Cianobacterias *37*

2.3.5. Cianotoxinas *37*

2.3.6. Eutrofización *37*

2.3.7. Acidificación *38*

2.3.8. Gen 16S *38*

2.3.9. Electroforesis *38*

III. METODOLOGÍA 39

3.1 Tipo y nivel de investigación 40

3.2 Ámbito temporal y espacial 41

3.2.1 Ámbito temporal *41*

3.2.2 Ámbito espacial *41*

3.3 Población y muestra 43

I.3.1. Población *43*

I.3.2. Muestra *43*

3.4 Instrumentos 43

3.5 Procedimientos 47

3.5.1 Recolección de muestras *50*

3.5.2 Parámetros fisicoquímicos *54*

3.5.3 Parámetros biológicos: Clorofila-A y concentración de cianobacterias *55*

3.5.4 Parámetros inorgánicos: determinación de la concentración de metales pesados con Metalyser HM3000 ..... *61*

3.5.5 Análisis metagenómico microalgal *64*

3.6 Análisis de datos 80

3.6.1 Validación y confiabilidad de los instrumentos *80*

3.6.2 Métodos y técnicas para la presentación y análisis de datos *81*

3.6.3 Contrastación de hipótesis *82*

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 84

4.1 Resultados 84

4.2 Discusión 153

V. CONCLUSIONES 160

VI. RECOMENDACIONES 161

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 163

VIII. ANEXOS 178

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Operacionalización de variable independiente 27
Tabla 2 Operacionalización de variable dependiente 28
Tabla 3. Instrumentos usados para el desarrollo de la investigación 43
Tabla 4. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo 50
Tabla 5. Parámetros de método personalizado 61
Tabla 6. Límites de detección inferior de sonda para cada metal pesado 61
Tabla 7. Coloración de membrana de nitrocelulosa de 0,45µm en época de estiaje y avenida 66
Tabla 8. Secuencia con Primers 78
Tabla 9. Programación PCR para la amplificación de muestras ambientales. 78
Tabla 10. Softwares para el análisis bioinformático 79
Tabla 11. Abundancia de taxones de microalgas por clase en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida 84
Tabla 12. Abundancia de cianobacterias por familia en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida 86
Tabla 13. Presencia de posibles taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje. 88
Tabla 14. Posibles taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje. 89
Tabla 15. *Posible presencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida.* 91
Tabla 16. Posible presencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida. 92
Tabla 17. Abundancia relativa* de microalgas frente a presencia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje ... 95
Tabla 18. Abundancia relativa* de microalgas frente a presencia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida . 97
Tabla 19. Diversidad filogenética de microalgas y posible presencia* de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje 100

Tabla 20. Diversidad filogenética de microalgas y posible presencia* de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida 102
Tabla 21. Análisis descriptivo de abundancia de taxones de microalgas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida 104
Tabla 22. Análisis descriptivo de abundancia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida. 105
Tabla 23. Concentración de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje 107
Tabla 24. Concentración de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida 108
Tabla 25. Análisis descriptivo de la concentración de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida 114
Tabla 26. Parámetros fisicoquímicos del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida 123
Tabla 27. Correlación de Pearson de la concentración de metales pesados y parámetros fisicoquímicos en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje 128
Tabla 28. Correlación de Pearson de concentración de metales pesados y parámetros fisicoquímicos en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en la época de avenida 130
Tabla 29. Análisis descriptivo de los parámetros fisicoquímicos en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida 132
Tabla 30. Concentración de clorofila-A del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida mediante el principio de fluorometría utilizando el NanoDrop One[c] 137
Tabla 31. Análisis descriptivo clorofila-A en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida. 139
Tabla 32. Asociación entre la concentración de clorofila-A y concentración de metales pesados en las épocas de estiaje y avenida mediante la correlación de Pearson 140

Tabla 33. Abundancia de taxones de microalgas en relación a los parámetros fisicoquímicos mediante la correlación de Pearson en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida..... 142
Tabla 34. Abundancia de taxones de microalgas en relación a la concentración de metales pesados mediante la correlación de Pearson en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida..... 143
Tabla 35. Matriz de consistencia del proyecto de investigación 179

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Plano de ubicación – embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios 42
Figura 2. *Diagrama de flujo de la investigación para la etapa de campo.* 47
Figura 3. Diagrama de flujo de la investigación para la etapa de laboratorio. 48
Figura 4. Diagrama de flujo de la investigación para la etapa de gabinete. 49
Figura 5. Toma de muestras de agua superficial en puntos del embalse. 51
Figura 6. Diseño del tratamiento de muestras 40-50 cm 53
Figura 7. *Medición de parámetros fisicoquímicos en ríos tributarios* 55
Figura 8. Manipulación del Algaetorch 56
Figura 9. *Medición constante de parámetros biológicos con el AlgaeTorch en el embalse Pasto Grande* 57
Figura 10. *Medición de Clorofila-A a nivel superficial en el embalse* 57
Figura 11. *Calibración de método para cuantificación clorofila-A en el espectrofotómetro* 58
Figura 12. *Membranas de nitrocelulosa de 5 µm con carga retenida de las muestras ambientales luego de la filtración* 59
Figura 13. *Membranas de nitrocelulosa sometidas con acetona al 80%* 59
Figura 14. *Interfaz de la pantalla del NanoDrop One^C para la configuración personalizada: Cuantificación de Clorofila-A* 60
Figura 15. *Lectura de curvas resultantes del método personalizado en la aplicación UV-Vis* 60
Figura 16. Equipo Metalyser HM3000 63
Figura 17. *Cálculos de concentración de metales pesados en el software Trace2O* 64
Figura 18. Flujo de trabajo de análisis metagenómico 64
Figura 19. *Sistema armado para filtración* 65
Figura 20. Filtración con bomba de vacío 69
Figura 21. Procedimiento de extracción de ADN ambiental con el PowerWater DNeasy (Qiagen) 70
Figura 22. *Cuantificación de ADN a partir de 2µl de muestra* 72
Figura 23. Limpieza de pedestal del NanoDrop One^C con papel tisú 72
Figura 24. *Vista de la técnica de pipeteo de muestra en pedestal del NanoDrop One^C* 73

Figura 25. *Rotulación de tubos para lectura en el fluorómetro Qubit4* 74
Figura 26. *Configuración de fluorómetro Qubit4 para lectura de ADN a partir de un volumen específico*..... 74
Figura 27. Diagrama de trabajo en el manejo de reactivos del Qubit 4..... 75
Figura 28. *Posicionamiento de peine para enfriamiento de gel*..... 76
Figura 29. Cubeta de electroforesis y su respectivo gel de agarosa con tampón TAE (Tris-acetato-EDTA)1X..... 76
Figura 30. *Fuente de poder BIO RAD PowerPac Universal* 77
Figura 31. Fragmentos de ADN en el gel de agarosa 78
Figura 32. *Termociclos para la amplificación muestras metagenómicas con el gen 16s* 79
Figura 33. Abundancia de taxones de microalgas por clase en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida..... 85
Figura 34. Abundancia de cianobacterias por familia en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida 87
Figura 35. Presencia de posibles taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje. 90
Figura 36. Posible presencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida..... 93
Figura 37. Abundancia relativa* de microalgas frente a presencia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje ... 95
Figura 38. Abundancia relativa* de microalgas frente a presencia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida . 98
Figura 39. Diversidad filogenética de microalgas y posible presencia* de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje 100
Figura 40. Diversidad filogenética de microalgas y posible presencia* de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida..... 103
Figura 41. Abundancia de taxones de microalgas* del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida..... 105
Figura 42. Abundancia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida. 106

Figura 43. Concentración de arsénico total en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA utilizando el Metalyser HM3000 109
Figura 44. Concentración de cadmio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA 109
Figura 45. Concentración de cobre en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA 110
Figura 46. Concentración de mercurio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA 111
Figura 47. Concentración de plomo en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA 111
Figura 48. Concentración de selenio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA 112
Figura 49. Concentración de talio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA 113
Figura 50. Concentración de zinc en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA 113
Figura 51. Concentración promedio de arsénico total en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida utilizando el Metalyser HM3000 116
Figura 52. *Concentración promedio de mercurio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida* 116
Figura 53. *Concentración promedio de cadmio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida* 117
Figura 54. *Concentración de plomo en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida* 117
Figura 55. *Concentración de cobre en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida* 118
Figura 56. *Concentración de zinc en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*..... 118
Figura 57. *Concentración de oro en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*..... 119
Figura 58. *Concentración de manganeso en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida* 119

Figura 59. *Concentración de cobalto en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas estiaje y avenida* 120
Figura 60. *Concentración de selenio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas estiaje y avenida* 120
Figura 61. *Concentración de talio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas estiaje y avenida* 121
Figura 62. *Concentración de bismuto en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida* 121
Figura 63. *Concentración de estaño en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida* 122
Figura 64. pH del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida. 124
Figura 65. Salinidad del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida 124
Figura 66. Conductividad eléctrica del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida 125
Figura 67. Oxígeno disuelto del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida 126
Figura 68. Sólidos totales disueltos del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida 126
Figura 69. Temperatura del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida 127
Figura 70. Media de Oxígeno disuelto en estiaje y avenida 133
Figura 71. Parámetro fisicoquímico de Sólidos totales disueltos en estiaje y avenida 134
Figura 72. Media de la temperatura en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida 134
Figura 73. *Media de pH en* el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de *estiaje y avenida* 135
Figura 74. *Media de salinidad en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida* 135
Figura 75. *Media de conductividad eléctrica en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida* 136

Figura 76. Concentración de clorofila-A del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida mediante el principio de fluorometría utilizando el NanoDrop One^{c} 138
Figura 77. Media de clorofila-A en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida 139
Figura 78. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) entre las microalgas del taxón clase con los metales pesados en época de estiaje 146
Figura 79. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) entre las microalgas del taxón clase con los metales pesados en época de avenida 148
Figura 80. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) entre las cianobacterias del taxón familia con los metales pesados en época de estiaje 150
Figura 81. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) entre las cianobacterias del taxón familia con los metales pesados en época de avenida 152

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Diagrama de flujo del proyecto de investigación 178
Anexo 2. Matriz de consistencia del proyecto de investigación 179
Anexo 3. Infografía de la descripción problemática..... 180
Anexo 4. Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en río Millojahuira .. 181
Anexo 5. Árbol filogenético de taxones de microalgas en río Tocco..... 182
Anexo 6. Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en río Antajarane 182
Anexo 7. Árbol filogenético de taxones de microalgas en río Antajarane 183
Anexo 8. Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en EPgra01 184
Anexo 9. Árbol filogenético de taxones de microalgas en EPgra01 184
Anexo 10. Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en EPgra02 185
Anexo 11. Árbol filogenético de taxones de microalgas en EPgra02 185
Anexo 12. Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en EPgra03 186
Anexo 13. Árbol filogenético de taxones de microalgas en EPgra03 186
Anexo 14. Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en EPgra04 187
Anexo 15. Árbol filogenético de taxones de microalgas en EPgra04 187
Anexo 16. Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en EPgra05 188
Anexo 17. Árbol filogenético de taxones de microalgas en EPgra05 188
Anexo 18. Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en Bocatoma..... 188
Anexo 19. Árbol filogenético de taxones de microalgas en Bocatoma..... 189
Anexo 20. Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en Naciente..... 189
Anexo 21. Árbol filogenético de taxones de microalgas en Naciente..... 190
Anexo 22. Árbol filogenético de taxones de cianobacterias de todas las muestras 190
Anexo 23. Árbol filogenético de taxones de microalgas de todas las muestras . 191
Anexo 24. Cuantificación de ADN ambiental con el espectrofotómetro NanoDrop 192
Anexo 25. Capturas de imagen de gel de agarosa del ADN metagenómico según los puntos de muestreo 193
Anexo 26. Cuantificación de ADN metagenómico mediante el fluorómetro Qubit 196
Anexo 27. Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Cadmio, puntos del embalse y punto blanco 198

Anexo 28. Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Cobre, puntos del embalse y punto blanco 198
Anexo 29. Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Plomo, puntos del embalse y punto blanco 199
Anexo 30. Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Talio, puntos del embalse y punto blanco 199
Anexo 31. Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Zinc, puntos del embalse y punto blanco 200
Anexo 32. Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Cadmio, en los ríos tributarios 200
Anexo 33. Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Cobre, en los ríos tributarios 201
Anexo 34. Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Plomo, en los ríos tributarios 201
Anexo 35. Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Talio, en los ríos tributarios 202
Anexo 36. Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Zinc, en los ríos tributarios 202
Anexo 37. Concentración de metales pesados en el embalse Pasto Grande con el método de Voltamperometría de redisolución anódica y catódica – equipo Metalyser HM3000 203
Anexo 38. Concentración de metales pesados en el embalse Pasto Grande con el método de Espectrofotometría de Masa con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) – equipo Espectrofotómetro de masas..... 203
Anexo 39. Concentración de metales pesados en los ríos tributarios del embalse Pasto Grande con el método de Voltamperometría de redisolución anódica y catódica – equipo Metalyser HM3000 204
Anexo 40. Concentración de metales pesados en los ríos tributarios del embalse Pasto Grande con el método de Espectrofotometría de Masa con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) – equipo Espectrofotómetro de masas 204
Anexo 41. Protocolo del kit DNeasy PowerWater 205
Anexo 42. Protocolo para ensayo de alta sensibilidad 1X para la cuantificación de ADN ambiental con el Qubit 4 207

Anexo 43. Visita preliminar para el reconocimiento del lugar de estudio: embalse Pasto Grande 208
Anexo 44. Mediciones preliminares de los parámetros fisicoquímicos, pruebas en campo de equipo multiparamétrico 208
Anexo 45. Prueba del software bbe++ in situ para monitoreos posteriores 209
Anexo 46. Puesta a prueba de fluorómetro bbe Moldaenke y monitoreo preliminar de la concentración de cianobaterias y clorofila-A 209
Anexo 47. Manipulación preliminar de bomba de vacío 210
Anexo 48. Filtración de muestras de agua 210
Anexo 49. Acondicionamiento para conservación de membranas 211
Anexo 50. Manipulación preliminar de Kit DNeasy PowerWater Qiagen 211
Anexo 51. Realización preliminar de electroforesis 212
Anexo 52. Manipulación preliminar del Fotodocumentador 212
Anexo 53. Manipulación preliminar del equipo NanoDrop One C 213
Anexo 54. Capacitación para el equipo Metalyser HM3000 213
Anexo 55. Certificado de capacitación para uso y manipulación de Metalyser HM3000 Field Pro de ambos tesistas 214
Anexo 56. ECA-Agua. Categoría 1: Población y recreacional, subcategoría A: Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable 215
Anexo 57. ECA-Agua. Categoría 3. Riego y bebida de animales 217
Anexo 58. ECA-Agua. Categoría 4: Conservación del Medio acuático 219
Anexo 59. Modelo de etiquetado de muestras 220
Anexo 60. Mapa de abundancia de taxones de microalgas y cianobacterias frente a la variación de pH y clorofila-A en la época de avenida 221
Anexo 61. Mapa de abundancia de taxones de microalgas y cianobacterias frente a la variación de pH y clorofila-A en la época de estiaje 222
Anexo 62. Mapa de variación de pH frente a la concentración de metales pesados en época de avenida 223
Anexo 63. Mapa de variación de pH frente a la concentración de metales pesados en época de estiaje 224
Anexo 64. Mapa de abundancia de taxones de microalgas y cianobacterias frente a la concentración de metales pesados en época de avenida 225
Anexo 65. Mapa de abundancia de taxones de microalgas y cianobacterias frente a la concentración de metales pesados en época de estiaje 226

INTRODUCCIÓN

La contaminación por metales pesados representa uno de los desafíos ambientales más complejos que enfrentan los ecosistemas acuáticos, debido a su toxicidad, persistencia y capacidad de bioacumulación en las cadenas tróficas (Maji et al., 2020). En regiones con intensa actividad minera, como la región Moquegua en el sur del Perú, estos contaminantes afectan directamente la calidad del agua y la biodiversidad, en particular a las microalgas, organismos esenciales para la producción primaria y el equilibrio ecológico de los ecosistemas acuáticos (Singh et al., 2021), donde las microalgas desempeñan un papel crítico como bioindicadores, reguladores del ciclo de nutrientes y productores de oxígeno, siendo sensibles a variaciones fisicoquímicas provocadas por contaminantes como el cadmio, el plomo o el mercurio, cuya presencia ha sido documentada en cuerpos de agua cercanos a fuentes mineras activas y abandonadas (Krishna Samal et al., 2020). A nivel regional, estudios realizados en el embalse Pasto Grande han evidenciado alteraciones limnológicas asociadas a la escorrentía de metales pesados y a la acidificación del agua, especialmente durante las épocas de estiaje y avenida, periodos en los que varían los parámetros como el pH, la temperatura o el oxígeno disuelto (Gobierno Regional de Moquegua & CONSORCIO V-5, 2012). Frente a esta problemática, la metagenómica microalgal se ha consolidado como una herramienta innovadora para la evaluación de la diversidad microalgal en ambientes acuáticos, permitiendo identificar taxones microalgales sin necesidad de cultivo, mediante el análisis directo del ADN ambiental y el uso de tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) (Iqhrammullah et al., 2024). Esta técnica no solo ofrece un panorama integral de la comunidad microalgal, sino que también permite establecer correlaciones entre su composición y la presencia de metales pesados, generando información valiosa para procesos de biorremediación (Ahmad et al., 2021; Akaçin et al., 2022). En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar la composición metagenómica microalgal en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios (Millojahuira, Antajarane, Patara y Tocco) durante las épocas de estiaje y avenida, con el propósito de identificar patrones de diversidad relacionados con los niveles de contaminación por metales pesados y generar una base científica para futuras estrategias de restauración ecológica y manejo sostenible de los recursos hídricos en la región.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción y formulación del problema

La importancia del cambio climático en la industria minera y su impacto ambiental es objeto de debate. Antes se consideraba principalmente un desafío político solo para los organismos gubernamentales (Dolšak & Prakash, 2018). Sin embargo, debido al incremento de los riesgos climáticos, el sector privado ha adquirido un papel fundamental en la transición hacia un futuro resiliente al clima (Folke et al., 2019), ya que la variabilidad climática ejerce una influencia significativa en la industria minera (Klein et al., 2022), generando impactos directos en las comunidades y el entorno circundante (Odell et al., 2018), estos efectos se traducen en alteraciones limnológicas en cuerpos de agua, como el aumento de las temperaturas, la estratificación térmica, y cambios en el pH, este último causado por la escorrentía de metales pesados producto de la inadeacuada disposición de residuos mineros (X. Liu & Millero, 2002; Sivarajah et al., 2021; Su et al., 2022). En este contexto, la biodiversidad microbiana en ambientes acuáticos, en particular las microalgas, fundamentales para el ciclo de nutrientes y base de muchas cadenas tróficas, se ve afectada por la contaminación de metales pesados liberados al medio ambiente por actividades industriales, incluidas las mineras (Heidari et al., 2018; Singh et al., 2021). Estos contaminantes, a través de los pasivos ambientales, alteran la microflora y la distribución de genes de resistencia en ecosistemas fluviales (Gupta et al., 2022; L. Liu et al., 2021; Perlatti et al., 2021).

Aunque la minería impulsa el desarrollo económico mediante el suministro de recursos (S. Li et al., 2021) y la generación de empleo en zonas rurales (Hirons, 2020), también conlleva consecuencias ambientales y sociales, como la pérdida de biodiversidad y servicios ecosistémicos (UN Environment Programme, 2020). Uno de los principales problemas está asociado a la mala gestión de los relaves mineros, subproducto del procesamiento de minerales, que al acumularse contaminan cuerpos de agua cercanos, provocando un desequilibrio en la vida acuática y en la microflora (Esdaile & Chalker, 2018; Faria et al., 2020; N. Kumar et al., 2020). Cuando no se implementan controles adecuados, los metales pueden infiltrase en los sistemas fluviales (Hinojosa-Reyes & Hern, 2020). Estos aportes fluviales se convierten en la vía de transporte para las aguas contaminadas descargadas por

minas abandonadas lo que conduce a un fenómeno conocido como drenaje ácido (She et al., 2023). Este drenaje tiene un efecto devastador sobre la flora y fauna, alterando hábitats y afectando indirectamente la red alimentaria (Fuentes-López et al., 2022; Krishna Samal et al., 2020). La comprensión de cómo se genera este problema es fundamental para desarrollar estrategias de manejo, investigación y mitigación que guíen a una visión sostenible para la biodiversidad y la salud de los ecosistemas acuáticos.

La actividad minera libera partículas de polvo, lodos, efluentes tóxicos y metales pesados como Ni, Zn, Pb, Cd, Hg, As, entre otros, al suelo, aire y cuerpos de agua circundantes (Kim et al., 2020; Krishna Samal et al., 2020), siendo esta última esfera la que enfrenta uno de los problemas ambientales atenuantes por la presencia de metales pesados, debido a su toxicidad, no degradabilidad, bioacumulación y perturbaciones en la cadena alimentaria en ecosistemas acuáticos, sobrepasando las concentraciones estipuladas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Glodowska et al., 2020; M. Kumar et al., 2020; Maji et al., 2020; Yan et al., 2022; Zhou et al., 2020). Estos metales dañan a las microalgas, alterando sus procesos fisiológicos y bioquímicos, como inhibir el crecimiento, restringir la fotosíntesis, cambiar la ultraestructura celular (X. Xiao et al., 2023), además de alterar el pH del ambiente acuático inmerso (Saalidong et al., 2022). Esta contaminación también puede estimular el desarrollo de floraciones algales nocivas, con severas repercusiones ambientales, socioeconómicas y ecológicas (Godlewska et al., 2023; O'Neil et al., 2012; Sanseverino et al., 2022), generando toxinas que afectan a peces, ganado y humanos, dañando órganos como: el hígado, los riñones y el sistema nervioso central (Briland et al., 2020; Del Giudice et al., 2021; Godlewska et al., 2023). En ese sentido, el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios, ubicados en la región Moquegua, enfrentan problemas de contaminación tanto por una inadecuada gestión de desechos mineros como por fuentes naturales, donde diversos estudios regionales respaldan la existencia de ambos tipos de contaminación (natural y antropogénica), los cuales están asociados a la presencia de metales pesados y alteraciones fisicoquímicas, provocado por actividades antrópicas y fenómenos naturales que afectan negativamente a las microalgas, base fundamental de las tramas tróficas en estos ecosistemas acuáticos (Gobierno Regional de Moquegua & CONSORCIO V-5, 2012).

Dado que la disminución de la calidad de los ríos y la pérdida de biodiversidad representan amenazas significativas (Gonçalves et al., 2021), lo que ha motivado varias investigaciones a nivel mundial sobre el impacto de la minería cuerpos de agua superficiales (Gallo Corredor et al., 2021; Maliqi et al., 2020), en donde estudios recientes han demostrado que los ambientes contaminados por metales pesados albergan una amplia diversidad de microorganismos con capacidad de adaptación (B. Liu et al., 2022). Por tal motivo, la secuenciación de nueva generación (NGS), es una herramienta clave para el análisis metagenómico, permitiendo estudiar comunidades de microorganismos, incluidas las microalgas, sin necesidad de cultivo, y proporcionando información valiosa sobre mecanismos útiles para la biorremediación (Akaçin et al., 2022; Sharma et al., 2021). Por consiguiente, ante al escaso conocimiento sobre la composición y adaptación de la microflora en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios, el presente proyecto evaluó la composición metagenómica microalgal del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios: Millojahuira, Antajarane, Patara y Tocco, en relación a la concentración de metales pesados durante las épocas de estiaje y avenida, mediante técnicas moleculares y metagenómicas, constituyendo así un estudio de base para futuras investigaciones en procesos de biorremediación.

1.1.1 Interrogante general

- ¿De qué manera influyen los metales pesados en la composición metagenómica microalgal del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios, durante las épocas de estiaje y avenida, Moquegua – 2023?

1.1.2 Interrogantes específicas

- ¿Cuál es la asociación entre la diversidad filogenética de microalgas y presencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida?
- ¿Cómo se contrastan las concentraciones de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios con los Estándares de Calidad Ambiental durante las épocas de estiaje y avenida?
- ¿Cuál es la asociación entre las concentraciones de clorofila *A* y metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida?

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

- Evaluar la composición metagenómica de microalgas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios con relación a la concentración de metales pesados durante las épocas de estiaje y avenida, Moquegua – 2023.

1.2.2 Objetivos específicos

- Analizar la asociación entre la diversidad filogenética de microalgas y presencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida.
- Comparar las concentraciones de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios con los Estándares de Calidad Ambiental durante las épocas de estiaje y avenida.
- Determinar la asociación entre las concentraciones de clorofila *A* y metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida.

1.3 Justificación e importancia

1.3.1 Justificación

La problemática de contaminación por metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios tiene un impacto significativo tanto en el equilibrio ecológico como en la calidad del agua, lo que afecta negativamente a los seres vivos y al bienestar humano en la región. Sin embargo, abordando y enfrentando este grave problema ambiental, se puede impulsar el desarrollo sostenible en la zona de manera integral al establecer un enfoque colaborativo entre los sectores público y privado. En primer lugar, al proteger adecuadamente el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios de la contaminación por metales pesados, se asegura la disponibilidad de agua de calidad para diversos usos socioeconómicos. Esto es esencial para el avance de las comunidades locales, ya que el agua es un recurso vital para la producción de alimentos y el desarrollo de diversas actividades económicas.

Es por ello que haber evaluado la influencia de metales pesados en la metagenómica ambiental de microorganismos del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios: Millojahuira, Antajarane, Patara y Tocco en época de avenida y estiaje es un paso fundamental para abordar el problema de contaminación y avanzar hacia un desarrollo sostenible en la región. Los resultados de esta investigación proporcionan una base sólida para futuros esfuerzos de biorremediación y gestión ambiental, y permitirán tomar medidas concretas para proteger los recursos naturales y garantizar un futuro próspero y equitativo para todos.

1.3.2 Importancia

Para una mejor comprensión de la estructura y función de la microbiota, se tiene como técnica a la metagenómica, esta proporciona una perspectiva total de los microorganismos presentes en un cuerpo de agua, monitoreando en conjunto la composición natural de las microalgas mediante el uso de la separación directa del ADN en una muestra natural (Ahmad et al., 2019; Ngara & Zhang, 2018). La importancia de este estudio radica en la generación de datos relevantes que representan cómo surgen las variaciones de las comunidades microalgales frente a las características del agua y sus niveles de contaminación por metales pesados (Ahmad et al., 2021; Betiku et al., 2021; Fournier et al., 2021; R. Zhang et al., 2021). El análisis metagenómico de secuenciación de nueva generación (NGS), aplicado a muestras de agua ambiental, permitió identificar y caracterizar de manera más precisa la diversidad de taxones de microalgas, incluso aquellas que no pueden ser cultivadas en laboratorio (Amrane & Lagier, 2018). Este tipo de microflora se relaciona con muchas características del agua, como la temperatura, el pH, así como con acciones antropogénicas por lo que es esencial comprender y abordar los impactos de la actividad humana para proteger la biodiversidad y el equilibrio de los ecosistemas acuáticos, reconociendo en primera instancia el papel crítico y vital que desempeñan las microalgas por varias razones como ser el primer eslabón de muchas cadenas alimentarias acuáticas, producción de oxígeno, regulación del ciclo de nutrientes, indicadores de calidad ambiental, etc (Maguvu et al., 2020). Además, la preservación de ambientes saludables y el equilibrio ecológico son pilares fundamentales del desarrollo sostenible (Naciones Unidas, 2020). La eliminación o reducción de la contaminación por metales pesados permite que los organismos y

microorganismos beneficiosos de los ríos se recuperen y prosperen. Esto, a su vez, contribuye a la mejora de la biodiversidad y el funcionamiento saludable de los ecosistemas acuáticos (Bhattacharjee et al., 2023). Un agua superficial más limpia y libre de contaminación también tiene un impacto positivo en la salud humana. La población local puede disfrutar de agua potable más segura y disminuye el riesgo de enfermedades relacionadas con la exposición a metales pesados. También, reduce la carga en el sistema de salud y mejora la calidad de vida de las personas. Asimismo, la recuperación y protección del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios tendrán beneficios económicos a largo plazo. La pérdida de la biodiversidad en estos ambientes acuáticos y los problemas ambientales asociados con la contaminación por metales pesados se reducirán significativamente, lo que permitirá un desarrollo más sostenible de las actividades agrícolas y ganaderas en la región (Osei-Owusu et al., 2023).

1.4 Hipótesis

1.4.1 Hipótesis general

- Es posible evaluar la composición metagenómica de microalgas presentes en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios con relación a la concentración de metales pesados durante las épocas de estiaje y avenida, Moquegua – 2023.

1.4.2 Hipótesis específicas

- Es posible analizar la asociación entre la diversidad filogenética de microalgas y presencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida.
- Es posible comparar las concentraciones de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios con los Estándares de Calidad Ambiental durante las épocas de estiaje y avenida.
- Es posible determinar la asociación entre las concentraciones de clorofila *A* y metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida.

1.5 Variables

1.5.1. Variable independiente: Características limnológicas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios.

Tabla 1 *Operacionalización de variable independiente*

Variable	Dimensiones	Indicadores	Instrumentos	Unidad De Medida
Características limnológicas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios	Parámetros fisicoquímicos	pH	Multiparámetro	Unidad de pH
		Conductividad (CE)		uS/cm
		Salinidad (S)		g/l
		Oxígeno Disuelto (OD)		mg/l
		Sólidos Totales Disueltos (TDS)		mg/l
		Temperatura (WT)		°C
	Parámetro biológico	Clorofila-*A*	Algaetorch y NanoDrop One^{C}	µg/l ng/µl
	Parámetros inorgánicos	15 parámetros detectados con el equipo analizador portátil de metales pesados	Metalyser HM3000	ppb ppm

1.5.2. Variable dependiente: Metagenómica microalgal.

Tabla 2 *Operacionalización de variable dependiente*

Variable	Dimensiones	Indicadores	Instrumentos	Unidad De Medida
Metagenómica microalgal	Presencia de microalgas	Concentración de microalgas por medición de fluorescencia.	Fluorómetro portátil	µg chl–a/l
	Espectrofotometría UV-VIS Fluorometría	Cuantificación de ADN ambiental	Qubit 4 y NanoDrop One^{C}	ng/µl
	Caracterización de ADN mediante electroforesis en gel de agarosa	Concentración y tamaño de ADN ambiental	Sistema de electroforesis en gel de agarosa y fotodocumentador	kb (kilobases)
	Amplificación de fragmentos de ADN	Reacción en cadena de polimerasa (PCR)	Termociclador	Copias de fragmentos de ADN
	Análisis Metagenómico	Diversidad de microalgas	Tecnología de secuenciación Illumina	Secuencia de nucleótidos (As, Ts, Cs y Gs)
		Posibles taxones productores de cianotoxinas	Banco genético BLAST NCBI	Tipo de microalgas en base al gen detectado

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 Internacionales

Acharya et al., (2020), quien junto a otros investigó ***"Monitoreo metagenómico de la calidad del agua con un laboratorio portátil"***, siendo su objetivo ensamblar todo el equipo necesario para el análisis metagenómico de muestras de agua, desde el muestreo hasta la preparación de bibliotecas de secuenciación y la generación y análisis de datos, en una caja de herramientas portátil que cabe en una o dos maletas. **Metodología:** consistió en la viabilidad técnica del análisis metagenómico de la calidad del agua utilizando solo equipos portátiles, como mini bombas de vacío y unidades de filtración, mini centrífugas, mini máquinas PCR y el MinION del tamaño de una tarjeta de memoria de Oxford Nanopore Technologies, para la preparación de bibliotecas y secuenciación de amplicones del gen 16S rRNA. **Resultados:** se obtuvo con éxito la caracterización del microbioma de las muestras de agua recolectadas de una planta de tratamiento de aguas residuales en Birtley, Reino Unido, y sus alrededores. El flujo de trabajo de secuenciación del gen 16S rRNA, incluida la extracción de ADN, la amplificación por PCR, la preparación de la biblioteca de secuenciación y la secuenciación se realizó en un día hábil. **Conclusión:** el análisis metagenómico distinguió claramente el microbioma de las muestras prístinas de las muestras de agua influenciadas por aguas residuales. El análisis metagenómico identificó el papel potencial de dos géneros bacterianos no monitoreados convencionalmente, *Arcobactery* y *Aeromonas*, como indicadores predominantes de contaminación fecal transmitidos por el agua.

Alotaibi et al., (2022), quien en su trabajo investigó ***"Análisis metagenómico de las comunidades bacterianas del lago Wadi Namar, Riyadh, Arabia Saudita"***. El objetivo fue evaluar posibles cambios en las comunidades bacterianas del agua en el lago Wadi Namar. **Metodología:** se recolectaron muestras de agua de tres lugares diferentes a lo largo del lago. El ADN total de las muestras se extrajo y se sometió a secuenciación 16S rDNA y análisis metagenómico. **Resultados:** el análisis metagenómico mostró variaciones en la

abundancia relativa de 17 filos, 31 familias, 43 géneros y 19 especies de bacterias entre las localidades. Proteobacteria fue el filo más abundante en todos los lugares, seguidamente del filo Planctomycete, Acidobacteria, Candidatus Saccharibacteria, Nitrospirae y Chloroflexi estos últimos se asociaron con niveles altos de TDS, CE, K^{+1} y Cl^{-1}. **Conclusiones: s**e utilizó la metagenómica del rDNA 16S para identificar la estructura bacteriana con el fin de establecer una conexión entre la microbiota y características fisicoquímicas del sistema de agua que podría haber sido afectado por las actividades humanas cerca del lago. Los resultados indicaron que las diferencias en la estructura de la comunidad microbiana en los lugares estudiados son influenciadas por las características fisicoquímicas del agua.

P. Wang et al., (2023), quien en su trabajo investigó ***"Perspectiva metagenómica de la distribución de genes de resistencia a metales en aguas de embalses en cascad: Impactos sinérgicos de la variación geográfica y la contaminación antropogénica"***, siendo su objetivo investigar los impactos sinérgicos de la variación geográfica y la contaminación antropogénica en la abundancia, composición y microorganismos de los genes de resistencia a los metales (MRG) en cuatro embalses a lo largo del río Jinsha, mediante metagenómica de alto rendimiento. **Metodología:** las concentraciones de arsénico (As) se midieron mediante un espectrómetro de fluorescencia atómica (AFS), mientras que las concentraciones de cadmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), níquel (Ni) y plomo (Pb) se determinaron mediante un espectrómetro de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Para asegurar la calidad analítica del metal, se analizaron los materiales de referencia estándar certificados. **Resultados:** se visualizó un enriquecimiento significativo de cromo, cadmio y plomo en los embalses de Ludila y Xiluodu con riesgos ecológicos moderados con base en los criterios de calidad del agua potable y protección de la vida acuática. Sin embargo, a escala de cuenca hidrográfica, estos metales desempeñaron un papel pequeño en la regulación positiva de la abundancia de MRG debido al estrés tóxico limitado en los microorganismos. **Conclusión:** el nivel de contaminación por metales es un requisito previo para regular los MRG; mientras que en condiciones de baja contaminación, la variación geográfica tuvo un impacto más fuerte en los MRG que la contaminación por metales a través del ensamblaje alterado de comunidades microbianas.

Rojas et al., (2022), quien en su trabajo investigó ***"Secuenciación de alto rendimiento de próxima generación para evaluar las comunidades bacterianas en el ecosistema de agua dulce de los embalses hidroeléctricos"***, siendo su objetivo caracterizar la microbiota bacteriana de muestras de agua recolectadas junto al río Madeira y sus pequeños afluentes en áreas rurales cercanas al embalse de la central hidroeléctrica Santo Antonio Energía en el municipio de Porto Velho, estado de Rondonia, oeste de Brasil. **Metodología:** emplearon un enfoque metagenómico de ARNr Illumina 16s y evaluaron las características fisicoquímicas de la muestra de agua (Supusieron que tanto la metagenómica del agua como los parámetros fisicoquímicos variarían entre los sitios de muestreo). **Resultados:** Los géneros más abundantes que encontraron en el estudio fueron *Acinetobacter*, *Deinococcus* y *Pseudomonas*. Además, sus hallazgos respaldan el uso de la metagenómica para evaluar los estándares de calidad del agua para la protección de la salud humana y animal. **Conclusiones:** Los análisis estadísticos revelaron que algunos puntos de recolección muestreados presentaban un microbioma significativamente diferente en comparación con cualquier otro punto, siendo significativamente más abundantes la familia *Chlamidomonadaceae* y el género *Enhydrobacter*. Nuestros hallazgos respaldan el uso de la metagenómica para evaluar los estándares de calidad del agua para la protección de la salud humana y animal en esta región microgeográfica.

Sanseverino et al., (2022b), quien en su trabajo investigó ***"Análisis metagenómico para investigar las comunidades microbianas y su perfil funcional durante las floraciones de cianobacterias en el lago Varese"***, desarrollado en Italia. El objetivo de este estudio fue investigar la composición de la comunidad microbiana en el lago Varese y los cambios temporales y espaciales durante los eventos de floración, capturados en las campañas de muestreo realizadas en 2016 y 2017. **Metodología:** recolectaron muestras de agua y las usaron para obtener un perfil taxonómico basado en 16S y realizar un análisis de secuenciación de escopeta. **Resultados:** los phyla encontrados que exhibieron la mayor abundancia relativa en el lago incluyeron Proteobacteria, Cyanobacteria, Actinobacteriota y Bacteroidota. En el epilimnion y a 2,5 × profundidad de Secchi, se encontró que las cianobacterias eran más abundantes en comparación con los bajos niveles detectados a mayores profundidades. **Conclusión:** Las floraciones parecen estar

dominadas principalmente por la especie Lyngbya robusta, y se identificó un perfil funcional específico, lo que sugiere que distintos procesos metabólicos caracterizaron a la población bacteriana a lo largo de la columna de agua.

2.1.2 Nacionales

Custodio et al., (2021), quien en su trabajo investigó ***"Composición bacteriana en suelos de cultivo de maca (Lepidium meyenii Walp) analizada mediante metagenómica: un estudio en los Andes centrales del Perú"***, siendo su objetivo general analizar la composición bacteriana de suelos de cultivo de maca (*Lepidium meyenii* Walp) en los Andes centrales del Perú. **Metodología:** determinaron los indicadores fisicoquímicos mediante técnicas analíticas y aplicaron secuenciación Illumina a los amplicones del gen de ARNr 16S para analizar la composición bacteriana. **Resultados:** El análisis de componentes principales identificó diversas familias bacterianas, destacando las familias *Acidobacteriaceae*, *Verrucomicrobiaceae*, *Thermoactinomycetaceae* y *Akkermansiaceae* como las de mayor contribución a las diferencias en la composición bacteriana. **Conclusión:** la secuenciación metagenómica permitió identificar familias bacterianas que pueden utilizarse como indicadores de la calidad fisicoquímica del suelo bajo la presión de cultivo de maca. Asimismo, se estableció una relación significativa entre las variables fisicoquímicas y las familias bacterianas presentes en los suelos, lo que proporciona información valiosa para comprender los efectos del cambio e intensificación del uso del suelo en la biodiversidad microbiana.

GORE Moquegua & Consorcio V-5 (2012), quienes realizaron el informe de estudio **"Mejoramiento de la calidad de aguas de embalse Pasto Grande del Distrito de Carumas, Provincia Mariscal Nieto, Región Moquegua"**, siendo el objetivo diagnosticar las causas y efectos del deterioro de la calidad del agua en el Embalse Pasto Grande y proponer soluciones. **Metodología:** Se tomaron muestras en varios puntos del embalse y sus afluentes para caracterizar física y químicamente el agua, y se realizaron ensayos de laboratorio. **Resultados:** El principal problema es la acidez del agua, causada por la oxidación de compuestos sulfurosos en los cerros debido a la deglaciación. Esto ha provocado que el pH del embalse disminuya, afectando la biodiversidad y causando la disolución de metales.

Conclusión: El deterioro de la calidad del agua es un problema grave y permanente. Se propone un tratamiento químico continuo con cal hidratada en los afluentes para neutralizar la acidez, con la opción de usar soda cáustica en emergencias.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Limnología física

La limnología física de un cuerpo de agua se refiere al estudio de las propiedades físicas que determinan la dinámica interna de ecosistemas acuáticos continentales, como lagos, embalses y ríos. Este campo analiza variables como la temperatura, la estratificación térmica, las corrientes, la turbulencia, la penetración de la luz y la morfometría, las cuales influyen en la distribución de nutrientes, el oxígeno disuelto y la productividad biológica. (Andrev, 2023).

2.2.2 Metagenómica microalgal

La metagenómica microalgal se refiere al análisis genómico directo de comunidades microalgales en muestras ambientales (agua, sedimentos, biofilms), sin necesidad de cultivo previo. Mediante secuenciación masiva (shotgun metagenómica), se obtienen datos sobre la composición taxonómica y el potencial funcional de estas comunidades, permitiendo estudiar interacciones (por ejemplo, microalgas–bacterias), diversidad y adaptación a diferentes condiciones ambientales (Iqhrammullah et al., 2024).

2.2.3 Contaminación ambiental

La contaminación ambiental se define como “la contaminación de los componentes físicos y biológicos del sistema tierra/atmósfera hasta tal punto que los procesos ambientales normales se ven afectados negativamente (Iyyanki V. Muralikrishna, 2017).

2.2.4 Metales pesados

Los metales pesados son contaminantes altamente tóxicos, persistentes y de difícil descomposición, que pueden transportarse en el aire, el suelo, el agua y los sedimentos, se concentran en los organismos y llegan a transportarse en las redes

alimentarias, provocando riesgos directos o indirectos para los seres humanos y los ecosistemas (Nakayama et al., 2010; G. Wang et al., 2018).

2.2.5 Cambio climático

El cambio climático es un fenómeno global que se atribuye, directa o indirectamente, a la actividad humana. Esto provoca cambios en la composición de la atmósfera a nivel mundial y se suma a las variaciones naturales del clima que se han observado a lo largo del tiempo (Ministerio del Ambiente (MINAM), 2019, 2021). Los científicos argumentan que uno de los efectos más críticos del cambio climático es la intensificación del ciclo hidrológico (Heydari et al., 2019) y numerosos estudios han informado que el cambio climático ha inducido regímenes de escorrentía y afectado la disponibilidad de agua en diferentes regiones del mundo (Vörösmarty et al., 2012).

2.2.6 Microalgas

Las microalgas consumen metales pesados como boro (B), cobalto (Co), cobre (Cu), hierro (Fe), molibdeno (Mo), manganeso (Mn) y zinc (Zn) como elementos traza para procesos enzimáticos y metabolismo celular (Leong & Chang, 2020), aunque otros metales pesados como As, Cd, Cr, Pb y Hg son tóxicos para las microalgas. Debido al fenómeno de la hormesis, las concentraciones bajas de metales pesados tóxicos pueden estimular el crecimiento y el metabolismo de las microalgas (J. Sun et al., 2015).

2.2.7 Floraciones algales

Una floración algal se define como el crecimiento rápido y acumulativo de algas en un sistema acuático, generalmente provocado por condiciones favorables como el exceso de nutrientes (especialmente nitrógeno y fósforo), temperatura elevada, luz solar y aguas tranquilas. Estas floraciones pueden ser tóxicas o no tóxicas, dependiendo de las especies presentes y de si producen compuestos perjudiciales para la salud humana, animal o los ecosistemas acuáticos. (Heisler et al., 2008; Valdovinos & Fierro, 2021). Las floraciones algales pueden estar compuestas por una variedad de fitoplancton, incluidas cianobacterias (algas verdeazules), algunas de las cuales producen toxinas peligrosas como microcistinas,

saxitoxinas o anatoxinas. Sin embargo, no todas las floraciones son tóxicas: muchas especies proliferan sin generar toxinas, aunque igualmente pueden causar impactos ecológicos significativos, como la disminución del oxígeno disuelto o la alteración de las redes tróficas.(Carril et al., 2008; Safina et al., 2023).

2.2.8 Estratificación térmica

La estratificación del agua es un fenómeno natural común en embalses y lagos con profundidades considerables (>10 m) (Shi et al., 2022). La estratificación a menudo ocurre en cuerpos de agua en latitudes medias a altas, donde el efecto de las diferencias de temperatura es suficiente para superar el proceso de mezcla natural en el verano (Duka et al., 2021). Después de la estratificación del agua, el oxígeno disuelto en el hipolimnio disminuye gradualmente ya que no se puede reponer el oxígeno. Simultáneamente, la respiración de los organismos y la oxidación de varias sustancias reductoras en los sedimentos lleva a un mayor consumo de oxígeno disuelto en el agua del fondo, acelerando así la circulación interna de nutrientes y la disolución y liberación de sustancias metálicas complejas (Valerio et al., 2019).

2.2.9 Secuenciación de ADN

La secuenciación del ADN es una técnica de laboratorio utilizada para determinar la secuencia exacta de las bases (A, C, G y T) en una molécula de ADN. Además, la secuencia de bases de ADN lleva la información que una célula necesita para ensamblar proteínas y moléculas de ARN. Por ende, la información de la secuencia de ADN es importante para los científicos que investigan las funciones de los genes (Bioresearch & GD Technologies, n.d.).

2.2.10 *Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)*

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de laboratorio utilizada para amplificar secuencias de ADN. El método utiliza secuencias cortas de ADN llamados cebadores para seleccionar la parte del genoma a amplificar. La temperatura de la muestra se sube y se baja repetidamente para ayudar a la enzima de replicación del ADN a duplicar la secuencia del ADN que está siendo copiada. Con esta técnica se pueden producir un billón de copias de la secuencia en estudio

en sólo unas pocas horas (Bioresearch & GD Technologies, n.d.; Forero Pineda et al., 2021).

2.3 Definición de términos

2.3.1. Época de estiaje

Se refiere a un período del año caracterizado por una disminución significativa en el caudal de los cuerpos de agua, como ríos, arroyos y lagos, debido a la reducción de las precipitaciones y a condiciones climáticas secas. Durante esta temporada, el nivel de agua disminuye considerablemente, lo que puede tener un impacto negativo en la disponibilidad de agua para el consumo humano, la agricultura, la fauna y otros usos (National Research Council, 2000).

2.3.2. Época de avenida

Se refiere a un período del año caracterizado por un aumento significativo del caudal de los cuerpos de agua, como ríos y arroyos, debido a un aumento en las precipitaciones o al deshielo de las nevadas acumuladas en las montañas. Durante esta temporada, el nivel de agua aumenta considerablemente, lo que puede llevar a inundaciones en áreas cercanas a los cursos de agua y puede tener un impacto importante en los ecosistemas y en las comunidades humanas que dependen de estos recursos hídricos (Chow et al., 1998).

2.3.3. Metagenómica

La metagenómica representa una aproximación totalmente nueva al estudio de las comunidades de microorganismos (bacterias, hongos, microalgas, entre otros), definida como el análisis funcional y de secuencias de los genomas colectivos contenidos en una muestra ambiental, basándose ya sea en expresión o secuenciación (Bomilla Roso et al., 2008). Los métodos metagenómicos permiten la determinación de la comunidad de microorganismos que se encuentra en un entorno y el estudio de la diversidad y función de esta. Estas técnicas aceleraron el estudio del microbioma en distintos componentes ambientales y en diversos ecosistemas (Vieira et al., 2021). Esta técnica tiene varias ventajas sobre el aislamiento de microorganismos como la accesibilidad a microorganismos no

cultivables, representatividad de la comunidad, descubrimiento de nuevos genes y enzimas, ahorro de tiempo y recursos (Niegowska et al., 2021).

2.3.4. Cianobacterias

El phylum cianobacteria se compone de más de 6000 especies (Nabout et al., 2013) que tienen diversos fenotipos y ambientes naturales. Las cianobacterias son bacterias gramnegativas poseedores de clorofila-*A* capaces de realizar la fotosíntesis oxigénica (X. Duan et al., 2022), pero varían ampliamente en otros rasgos: algunas son unicelulares, otras filamentosas; algunos pueden formar biopelículas; algunos fijan nitrógeno; muchos prefieren ambientes acuáticos, pero algunos también se encuentran en ambientes terrestres (Goodchild-Michelman et al., 2023).

2.3.5. Cianotoxinas

Son metabolitos secundarios tóxicos producidos por cianobacterias (Y. Zhang et al., 2023), las floraciones de cianobacterias potencialmente producen una gran cantidad de cianotoxinas con altas concentraciones, como microcistinas (cianotoxinas de agua dulce), cilindrospermopsina, anatoxinas, nodularinas y saxitoxinas (Brooks et al., 2016; Munoz et al., 2019; Pearson et al., 2010). Las cianotoxinas amenazan significativamente los ecosistemas acuáticos, como por ejemplo causan intoxicación y mortalidad de peces, aves acuáticas y mamíferos. Potencialmente contaminan aguas continentales, lo que plantea graves riesgos para la salud pública (Backer & Miller, 2016; Brooks et al., 2017; Grattan et al., 2016). La ingestión de cianotoxinas puede causar efectos de toxicidad aguda y crónica en el hígado, los riñones, los pulmones, los tejidos nerviosos, el tracto gastrointestinal y el sistema inmunitario humano (Kubickova et al., 2019; Vu et al., 2020).

2.3.6. Eutrofización

La eutrofización de los cuerpos de agua es uno de los problemas ecológicos y ambientales más importantes que se enfrentan hoy en la actualidad, y consiste típicamente en brotes de bacterias y algas (Chen et al., 2022; Payne et al., 2013), los lagos profundos suelen experimentar menos eutrofización que los lagos poco profundos es probable que la diferencia se deba a la estratificación térmica más

fuerte de los lagos profundos, que es un regulador clave de los ciclos biogeoquímicos en los lagos, embalses, etc (Y. Duan et al., 2023; Qin et al., 2020).

2.3.7. Acidificación

La acidificación es un factor estresante limnológico común que afecta a muchas masas de agua en todo el mundo (Baud et al., 2023). En las aguas superficiales este factor altera muchos aspectos de los ecosistemas de agua dulce, alterando la composición taxonómica de los invertebrados y reduciendo las poblaciones de peces (Mant et al., 2013). En arroyos y ríos, los episodios de pH bajo a menudo se asocian con concentraciones elevadas de contaminantes como metales porque la acidez aumenta su solubilidad (Alexander et al., 2017).

2.3.8. Gen 16S

El gen 16S rRNA es una herramienta clave para describir y caracterizar comunidades microbianas, ya que las nuevas tecnologías de secuenciación han generado un gran volumen de datos genéticos. Para gestionar y analizar esta información de manera precisa, se han desarrollado bases de datos y algoritmos especializados que comparan secuencias e identifican microorganismos. Por ello, para garantizar una asignación taxonómica exacta y reproducible en estudios de comunidades microbianas, es indispensable el uso de secuencias completas del gen 16S. (Valenzuela González et al., 2015).

2.3.9. Electroforesis

La electroforesis es un término general que describe la migración y separación de partículas cargadas (iones) bajo la influencia de un campo eléctrico. Un sistema electroforético consta de dos electrodos de carga opuesta (ánodo, cátodo), conectados por un medio conductor llamado electrolito. Asimismo, las condiciones electroforéticas se caracterizan por los parámetros eléctricos (corriente, voltaje, potencia) y factores como la fuerza iónica , el valor de pH, la viscosidad, el tamaño de los poros, etc., que describen el medio en el que se mueven las partículas (Fritsch & Krause, 2003).

III. METODOLOGÍA

El enfoque de metagenómica se usa actualmente para descubrir nuevos productos microbianos, así como para muestrear la diversidad microbiana de diferentes nichos ambientales (Sharma et al., 2021). Es por ello que, la metagenómica puede detectar diferentes especies, familias, clases, entre otros, de microorganismos (bacterias, hongos y patógenos) y descubrir información de los mismos como también nuevos genes o nuevas especies (Du et al., 2022). Hoy en día el aislamiento del ADN de las comunidades de distintos entornos ambientales es un proceso difícil, ya que los ecosistemas son extremadamente diversos y contienen compuestos inhibidores (Solomon et al., 2016), lo que convierte a la metagenómica en una técnica eficiente y efectiva para estudiar la diversidad genética de todos los microorganismos presentes en una muestra, mientras que el aislamiento solo permite estudiar una pequeña fracción de la comunidad, lo que puede no ser representativo.

En este contexto, la variable independiente considerada fue: las características limnológicas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios, entendida conceptualmente como la ciencia que se encarga del estudio de los ecosistemas acuáticos, las posibles perturbaciones en los regímenes de estos ambientes, degeneración de la estabilidad ecológica, como también la variación de la diversidad que contiene información sobre la respuesta de los organismos bióticos a escenarios de contaminación natural, antropogénica o industrial, con el fin de evaluar los efectos del estrés ambiental (Y. Li et al., 2022); y operativamente se determinaron mediante la medición de los parámetros fisicoquímicos ya considerados con respaldo de una revisión bibliográfica previamente hecha; de igual manera con los parámetros biológicos de interés: clorofila-*A* donde se utilizó un fluorómetro portátil AlgaeTorch y un fluorómetro de laboratorio Qubit. También se analizó la concentración de metales pesados con el equipo portátil Metalyser. Además, todas las mediciones se realizaron *in situ* en las épocas de estiaje y avenida.

Por otro lado la variable dependiente es la metagenómica microalgal, que conceptualmente se refiere al estudio del material genético contenido en una muestra ambiental, como agua, un suelo, o un microbioma, sin la necesidad de

cultivar estos microorganismos, permitiendo así el análisis de la diversidad y funcionalidad de una comunidad microalgal en su conjunto (Saleem et al., 2019); y operativamente, la concentración de microalgas se midió en campo con un fluorómetro portátil en proporción a la concentración de clorofila-*A*. La extracción de ADN se realizó con el kit PowerWater (DNeasy Qiagen) y Promega, asimismo se realizaron las cuantificaciones de ADN por espectrofotometría y fluorometría, con el NanoDrop y Qubit respectivamente, se ejecutaron corridas por electroforesis en geles de agarosa, y se amplificaron fragmentos de ADN mediante PCR con primers de interés, finalmente las muestras de ADN se sometieron al proceso de secuenciación.

La secuencia lógica de acciones, procesos y decisiones que guiaron la investigación a alcanzar los objetivos propuestos, se presentan en el diagrama de flujo elaborado para el proyecto de investigación en el Anexo 1, y la matriz de consistencia en el Anexo 2.

3.1 Tipo y nivel de investigación

El nivel de investigación es:

- **Exploratorio:** Debido a que se establece prioridades para posteriores investigaciones (Sánchez Carlessi & Reyes Meza, 2015). Cuyo objetivo se orienta a identificar primeros hallazgos o aproximaciones inmediatas que puedan servir de base para investigaciones de mayor envergadura (Schmelkes, Corina; Elizondo Schmelkes, 2012)

- **Explicativo:** Debido a que se comprenden las causas o factores que rigen la existencia y naturaleza del problema de investigación y se busca una explicación objetiva, realista y científica del mismo (Carrasco Díaz, 2006).

El tipo de investigación es:

- **Básica:** Debido a que el objetivo de este proyecto se basa en aumentar el conocimiento científico sobre el tema tratado.

    - El tipo de investigación según el enfoque es:

- **Cuantitativo:** Incluye procedimientos estadísticos para el procesamiento de datos y se utiliza estadística descriptiva y/o inferencial (Schmelkes, Corina; Elizondo Schmelkes, 2012).

    - El diseño de investigación es:

- **No experimental:** En este diseño, no se aplican estímulos o condiciones experimentales a las cuales se sometan las variables que están siendo estudiadas. En su lugar, los participantes del estudio son observados y evaluados en su entorno natural sin modificar ninguna situación. Asimismo, no se realizan cambios intencionados en las variables que están siendo investigadas durante el desarrollo del estudio. (Arias & Covinos, 2021).

3.2 Ámbito temporal y espacial

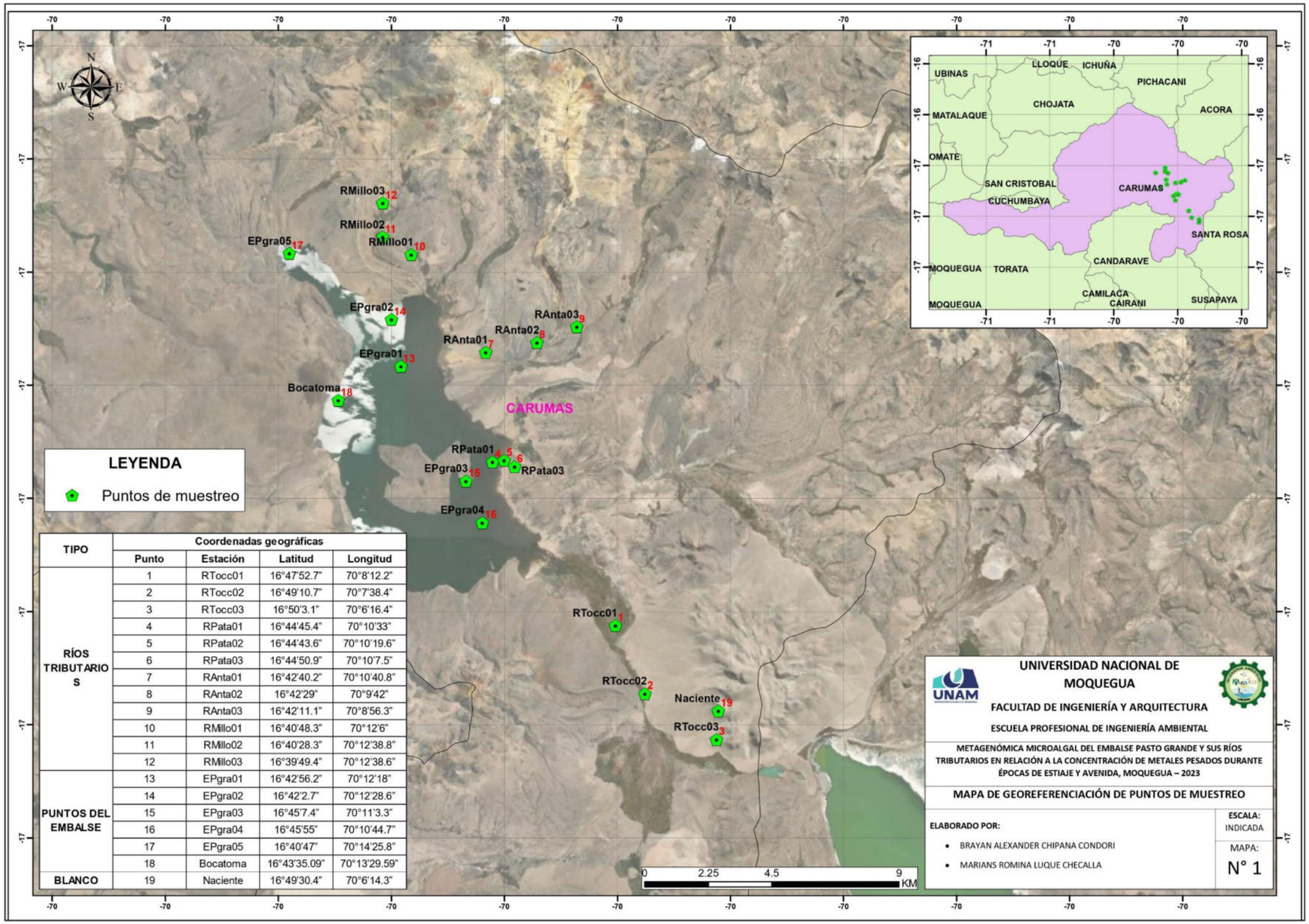
3.2.1 Ámbito temporal

Las temporadas para la recolección de muestras se dieron en dos épocas, de avenida: correspondiente a fechas de muestreo por los meses de julio a agosto del 2023, y estiaje: correspondiente a muestreos en los meses de noviembre 2023 a enero del 2024.

3.2.2 Ámbito espacial

El embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios están ubicados en la jurisdicción del distrito de Carumas, provincia de Mariscal Nieto, en el departamento de Moquegua, a una altitud de 4250 m.s.n.m. al este de la ciudad de Moquegua. Véase la Figura 1.

Figura 1. *Plano de ubicación – embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios*



TIPO	Coordenadas geográficas			
	Punto	Estación	Latitud	Longitud
RÍOS TRIBUTARIOS	1	RTocc01	16°47'52.7"	70°8'12.2"
	2	RTocc02	16°49'10.7"	70°7'38.4"
	3	RTocc03	16°50'3.1"	70°6'16.4"
	4	RPata01	16°44'45.4"	70°10'33"
	5	RPata02	16°44'43.6"	70°10'19.6"
	6	RPata03	16°44'50.9"	70°10'7.5"
	7	RAnta01	16°42'40.2"	70°10'40.8"
	8	RAnta02	16°42'29"	70°9'42"
	9	RAnta03	16°42'11.1"	70°8'56.3"
	10	RMillo01	16°40'48.3"	70°12'6"
	11	RMillo02	16°40'28.3"	70°12'38.8"
	12	RMillo03	16°39'49.4"	70°12'38.6"
PUNTOS DEL EMBALSE	13	EPgra01	16°42'56.2"	70°12'18"
	14	EPgra02	16°42'2.7"	70°12'28.6"
	15	EPgra03	16°45'7.4"	70°11'3.3"
	16	EPgra04	16°45'55"	70°10'44.7"
	17	EPgra05	16°40'47"	70°14'25.8"
	18	Bocatoma	16°43'35.09"	70°13'29.59"
BLANCO	19	Naciente	16°49'30.4"	70°6'14.3"

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

METAGENÓMICA MICROALGAL DEL EMBALSE PASTO GRANDE Y SUS RÍOS TRIBUTARIOS EN RELACIÓN A LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS DURANTE ÉPOCAS DE ESTIAJE Y AVENIDA, MOQUEGUA – 2023

MAPA DE GEOREFERENCIACIÓN DE PUNTOS DE MUESTREO

ELABORADO POR:

- BRAYAN ALEXANDER CHIPANA CONDORI
- MARIANS ROMINA LUQUE CHECALLA

ESCALA: INDICADA

MAPA: N° 1

3.3 Población y muestra

I.3.1. Población

El embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios: Millojahuira, Antajarane, Patara y Tocco.

I.3.2. Muestra

La recolección de muestras de agua se realizó teniendo en cuenta la normativa vigente nacional: "Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos", se tomó 1 muestra de cada uno de los 4 ríos tributarios, el muestreo en estos ríos fue de tipo "integrada" el cual consiste en la homogenización de muestras en diferentes puntos por lo que fueron 3 muestras puntuales por río (Autoridad Nacional del Agua (ANA), 2016); y únicamente 5 muestras dentro del embalse Pasto Grande, finalmente dando un total de 18 muestras. El muestreo fue por triplicado y se realizó durante las épocas de estiaje y avenida en el año 2023.

3.4 Instrumentos

Los experimentos y análisis fueron realizados en el Laboratorio de Investigación de Biología Molecular y Biotecnología de la UNAM, donde se cuenta con equipos propiamente de laboratorio, así como también de campo, todos estos instrumentos con garantía y certificaciones respectivas, de igual forma se participó en las capacitaciones de cada uno de estos y se cuenta con los certificados de entrenamiento correspondientes.

Tabla 3. *Instrumentos usados para el desarrollo de la investigación*

Material de campo	
GPSMAP 66sr	Dispositivo portátil multibanda / GNSS con sensores y mapas que se usó para la georreferenciación en campo.
Multiparámetro portátil	Equipo que tiene la capacidad de medir múltiples parámetros, incluyendo pH, oxígeno disuelto, conductividad, turbidez, temperatura, etc.

Cooler X 50 L	Depósito para aislar muestras del medio ambiente a una temperatura baja.
Radio de comunicación	Dispositivo para comunicación en campo
Embarcación Motor fuera de borda	Transporte usado para el muestreo dentro del embalse.
Balde Beakers de plástico	Materiales para el trasvase y recolección de muestras de agua.
Bolsas Ziploc	Depósito para el almacenamiento de muestras.
Botas Guantes de Neopreno	Equipos de seguridad para la protección a las extremidades inferiores y superiores
Botella Nyskin	Depósito con mecanismo para el atrapamiento de muestras de agua de profundidad.
Wader	Traje de agua para colecta de muestras en ríos.
Cinta adhesiva Rotulador Tijera	Materiales indispensables para el etiquetado de muestras en campo.
Material de escritorio	
Hojas Bond A-04 Libreta de apuntes Lápiz 2B Plumón indeleble Cinta adhesiva Tijera, cúter Impresora	Materiales de gabinete para la planificación de salidas de campo, impresión de etiquetas, correcciones de rotulado, aseguramiento de muestras.
Equipos de laboratorio	
PowerWater Qiagen, Kit de extracción DNA ProMega	Kits usados para la extracción de ADN ambiental para muestras de agua.

NanoDrop One C	Espectrofotómetro usado para la cuantificación y evaluación de pureza del ADN.
Qubit 4	Fluorómetro usado para medir de forma precisa la concentración de ADN.
Centrifugadora 5910Ri Centrifugadora 5425R Mini Spin Plus	Equipos usados para realizar la separación de muestras líquidas a altas velocidades de acuerdo con el volumen de estas.
Vórtex	Equipo usado para la agitación intermitente de viales.
Balanza digital	Equipo para el pesaje de insumos químicos.
Cubeta de electroforesis Fotodocumentador	Equipos que forman el sistema de electroforesis usado para realizar la separación de ADN en función de su tamaño y carga eléctrica.
Bomba de vacío	Equipo usado para la etapa de filtración.
Microondas	Equipo de calentamiento de sustancias.
Baño María	Equipo usado para alterar la temperatura de muestras, sustancias, productos.
Metalyser HM3000	Equipo de campo usado para detección de metales pesados.
Termociclador PCR	Equipo usado para la amplificación de hebras de ADN.
Ultracongeladora	Equipo usado para el almacenado de muestras a temperaturas de -80°C.
Cámara de flujo laminar	Cabina usada para tener un ambiente libre de contaminación.
Reactivos utilizados	
Solución Tampón Tris EDTA (TE)	Usado para disolver y estabilizar ácidos nucleicos (ADN/ARN), protegiendo contra la degradación por nucleasas.
Bromuro de Etidio	Se empleó como agente intercalante para visualizar ácidos nucleicos en geles de agarosa bajo luz ultravioleta.
Agua destilada	Se usó como solvente para preparar soluciones y diluciones en experimentos de biología molecular.

Alcohol 70%	Se utilizó principalmente para precipitar ácidos nucleicos y en la limpieza de material de laboratorio.
Agua para PCR	Se empleó en la preparación de reactivos y soluciones de reacción para PCR, asegurando que estén libres de contaminantes.
Agarosa	Es el gel utilizado en electroforesis para separar ácidos nucleicos según su tamaño.
Kit de PCR en tiempo real	Fueron reactivos necesarios para realizar amplificaciones de ADN con monitoreo en tiempo real, permitiendo cuantificar el ADN amplificado.
Kit para purificación de ADN	Fueron reactivos necesarios para extraer ADN limpio de muestras biológicas, eliminando contaminantes.
Kit PCR para amplificar ADN	Fueron reactivos esenciales para realizar una reacción de PCR, amplificando segmentos específicos de ADN.
Materiales descartables	
Puntas de pipeta	Fueron empleadas para evitar la contaminación de las muestras y garantizar la precisión en la transferencia de líquidos.
Tubos Falcon	Se usaron para almacenar y centrifugar muestras de mayor volumen (15 mL) durante los experimentos.
Microtubos	Se utilizaron para almacenar y manejar pequeñas cantidades de muestras (1.5 mL y 2.0 mL) durante las reacciones de PCR y otras técnicas.
Guantes de látex o nitrilo	Fueron usados para evitar la contaminación de las muestras y proteger al operador de sustancias químicas o biológicas.
Mascarillas	Se utilizaron para reducir el riesgo de contaminación de las muestras por partículas suspendidas en el aire.
Papel para filtros	Se empleó para filtrar las muestras, eliminando impurezas y partículas que pudieran interferir en los análisis.
Papel absorbente	Fue utilizado para secar o limpiar superficies y equipos, manteniendo la higiene en el laboratorio.
Papel aluminio	Se utilizó para proteger las muestras de la luz o para sellar.

3.5 Procedimientos

A continuación, se muestran los diagramas de flujo por cada etapa de la investigación, se detalla el desarrollo completo de actividades para alcanzar los objetivos específicos correspondientes.

Figura 2. *Diagrama de flujo de la investigación para la etapa de campo.*

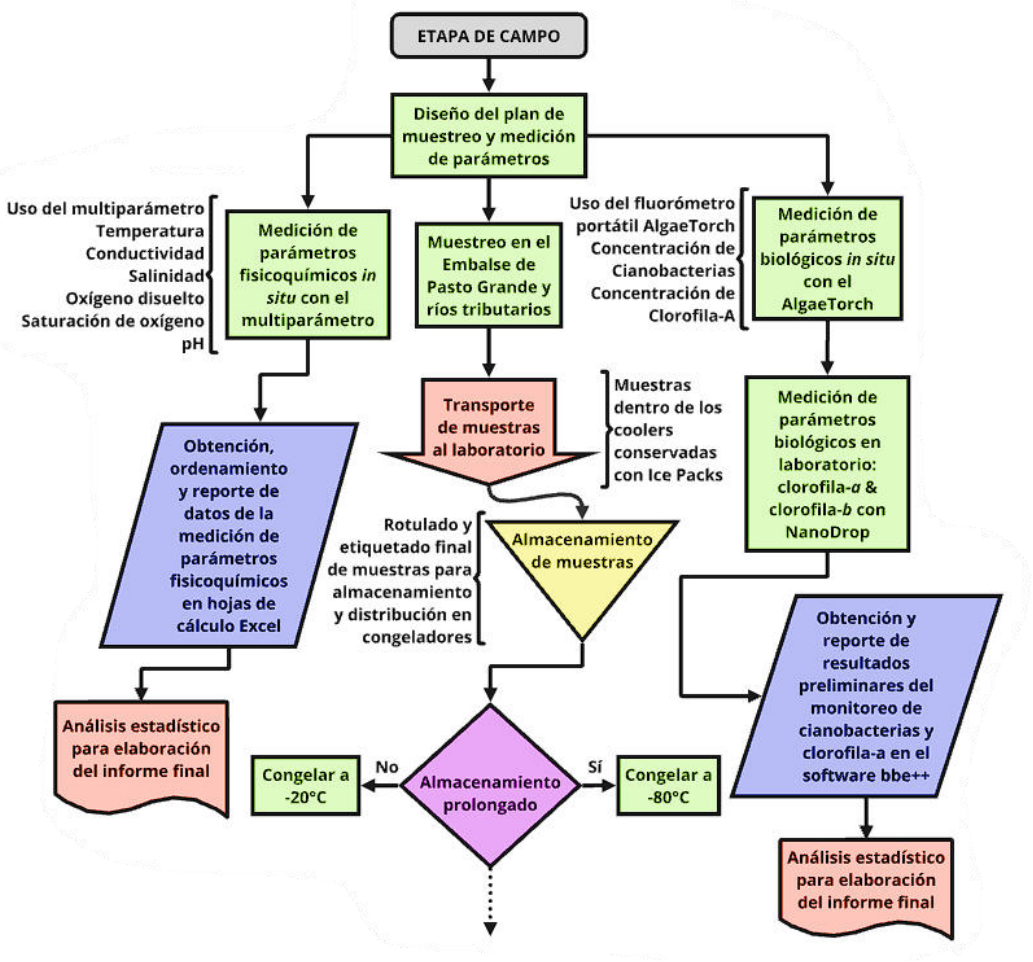


Figura 3. *Diagrama de flujo de la investigación para la etapa de laboratorio.*

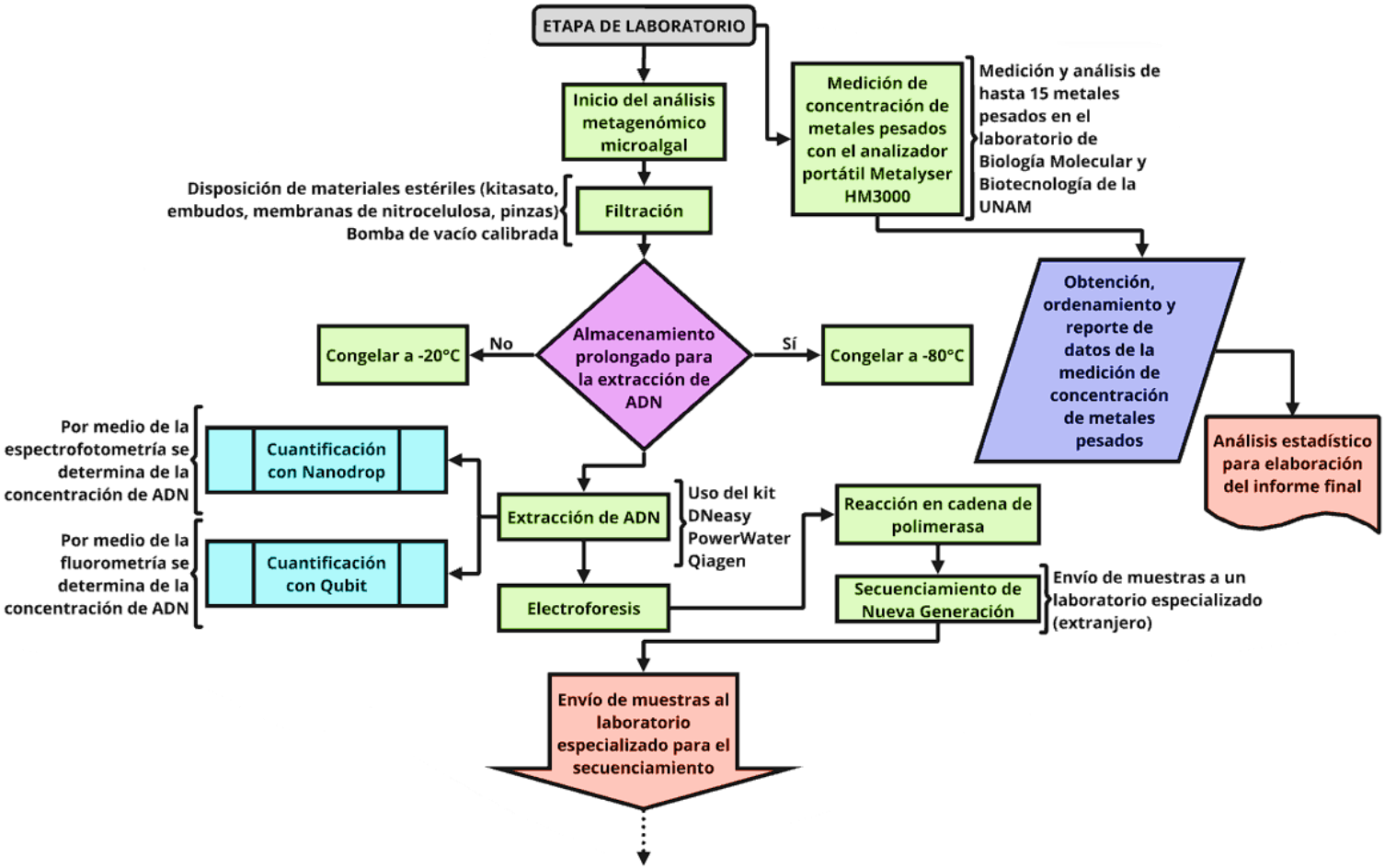
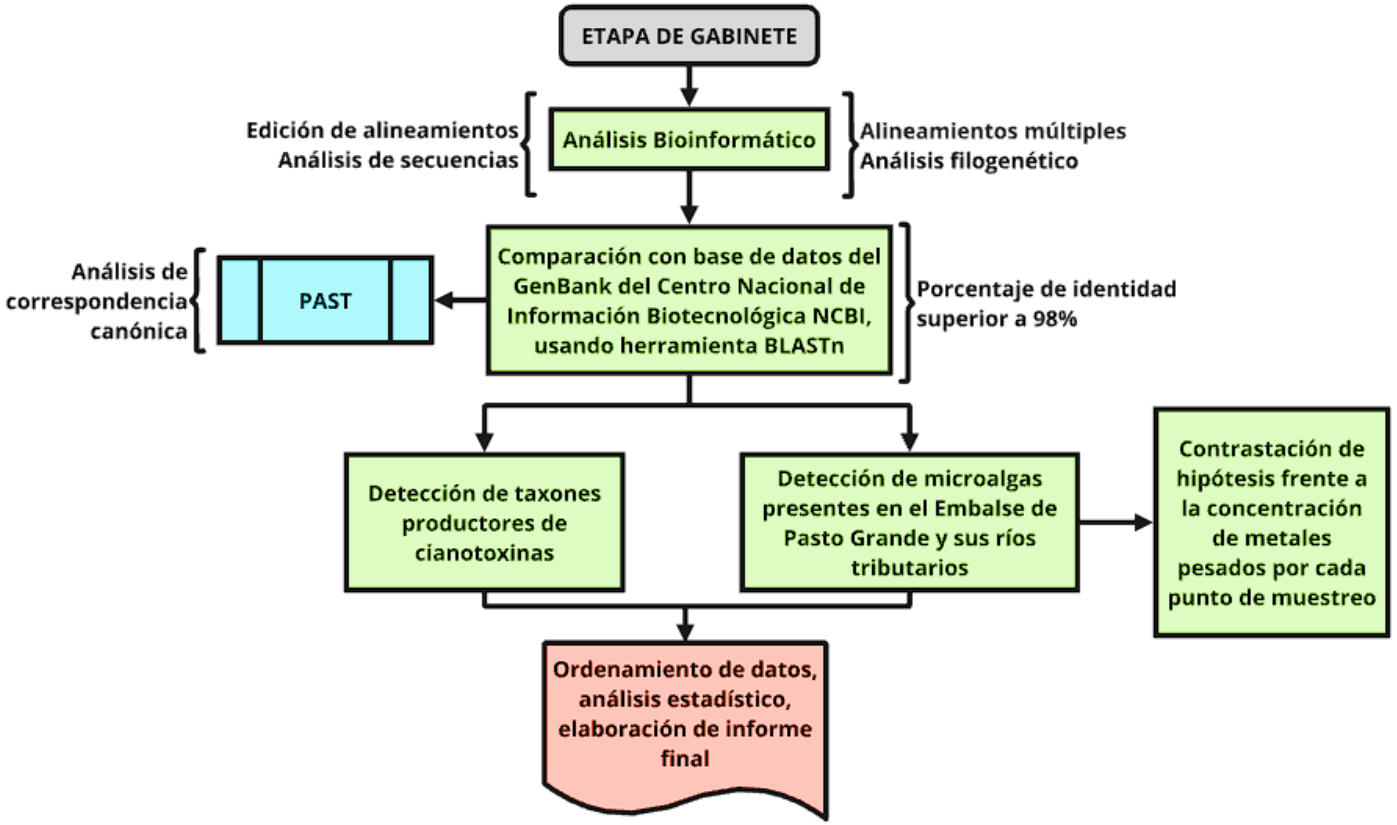


Figura 4. *Diagrama de flujo de la investigación para la etapa de gabinete.*



Los detalles de los procedimientos, desde la colecta de las muestras hasta la obtención de resultados, se exponen en orden correlativo de la siguiente manera:

3.5.1 Recolección de muestras

- Para el procedimiento de la recolección de muestras de agua se tomó como guía los criterios técnicos generales que establece el Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales según Resolución Jefatural N° 010-2016-ANA.
- Para evaluar la dinámica de la comunidad microalgal del embalse, se realizó 2 campañas de muestreo en diferentes épocas del año (Kisand et al., 2012).
- Los puntos de muestreo establecidos están estipulados en el plano de ubicación de la Figura 2, la recolección de muestras de agua del embalse de Pasto Grande y sus ríos tributarios se realizó en las siguientes coordenadas geográficas:

Tabla 4. *Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo*

Coordenadas geográficas			
Punto	**Estación**	**Latitud**	**Longitud**
01	RTocc01	16°47’52.7”S	70°8’12.2”O
02	RTocc02	16°49’10.7”S	70°7’38.4”O
03	RTocc03	16°50’3.1”S	70°6’16.4”O
04	RPata01	16°44’45.4”S	70°10’33”O
05	RPata02	16°44’43.6”S	70°10’19.6”O
06	RPata03	16°44’50.9”S	70°10’7.5”O
07	RAnta01	16°42’40.2”S	70°10’40.8”O
08	RAnta02	16°42’29”S	70°9’42”O
09	RAnta03	16°42’11.1”S	70°8’56.3”O
10	RMillo01	16°40’48.3”S	70°12’6”O
11	RMillo02	16°40’28.3”S	70°12’38.8”O
12	RMillo03	16°39’49.4”S	70°12’38.6”O
13	EPgra01	16°42’56.2”S	70°12’18”O
14	EPgra02	16°42’2.7”S	70°12’28.6”O
15	EPgra03	16°45’7.4”S	70°11’3.3”O
16	EPgra04	16°45’55”S	70°10’44.7”O
17	EPgra05	16°40’47”S	70°14’25.8”O
18	Bocatoma	16°43’35.09’’S	70°13’29.59’’O
19	Naciente	16°49’30.4”S	70°6’14.3”O

- La toma de muestras para los puntos del embalse se realizó dos veces en una misma columna de agua a 40 cm de profundidad aproximadamente para luego homogenizarla, el muestreo fue por triplicado (Autoridad Nacional del Agua (ANA), 2016; Jakomin Rudez, 2016; Tran et al., 2022).
- La toma de muestra para el caso de los puntos en ríos de poca profundidad como Millojahuira, Patara, Antajarane fue realizada aprovechando el mismo flujo del cuerpo de agua, también usando un baker de 3 litros siguiendo el mismo procedimiento anterior.

Figura 5. *Toma de muestras de agua superficial en puntos del embalse.*

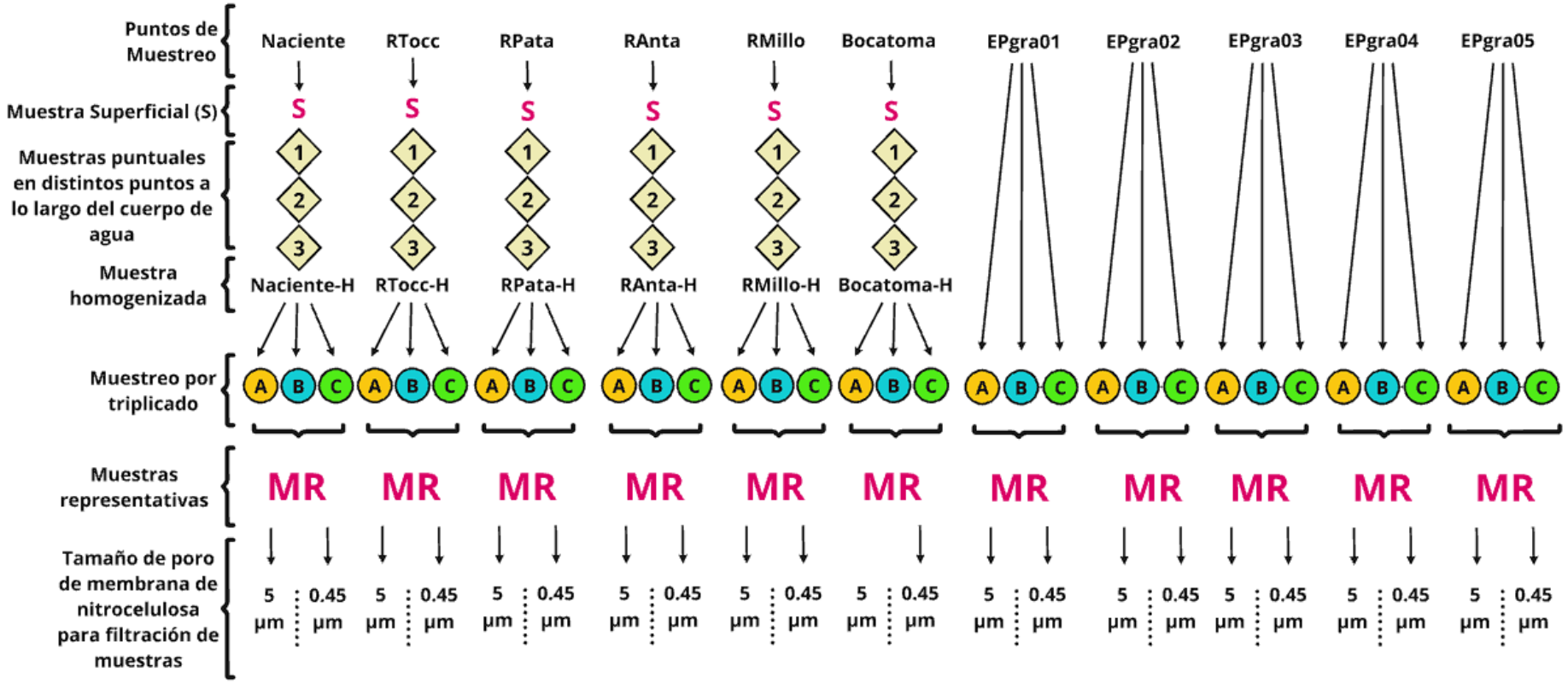


- Como se trata de una toma de muestra a 40 cm de profundidad, se usaron beakers de 3 litros para realizar la colecta, y luego de la homogenización trasvasarla a botellas de vidrio para su etiquetado y almacenamiento. (Panksep et al., 2020)
- Al momento de recolectar las muestras en estos beakers se tuvo en cuenta esperar un tiempo determinado para que la arena o sedimento remanente descienda al fondo y solo se pueda trasvasar la muestra con la más mínima partícula de sólidos, esto para que en la etapa de laboratorio no altere el proceso de filtración.

- Los beakers usados para la colecta de muestras, fueron enjuagados con la misma agua del punto de muestreo antes de cada colecta, esto se realizó con la finalidad de que no haya contaminación cruzada (Autoridad Nacional del Agua (ANA), 2016; Panksep et al., 2020).

Las muestras fueron etiquetadas de manera inmediata después de su colecta (vea Anexo 59) y seguidamente almacenadas en coolers con los respectivos geles refrigerantes manteniendo las muestras a una temperatura entre -5°C – 0°C para su transporte hacia las instalaciones del laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología de la Universidad Nacional de Moquegua, donde una vez llegados al laboratorio inmediatamente se procedió a filtrar con membranas de filtro de nitrocelulosa con poros de 0,45µm y 5.0µm (GSWP, Whatman) por cada muestra, para luego almacenarlas en un congelador a -80°C con la finalidad de preservar las muestras para los posteriores análisis.

Figura 6. *Diseño del tratamiento de muestras 40-50 cm*



Nota: Este diseño de tratamiento de muestras está estructurado de tal manera que se explique la recopilación y procesamiento de las muestras en distintos puntos del cuerpo de agua estudiado. Son 11 puntos de muestreo, de los cuales en cada uno se recolectó muestras puntuales en distintos puntos a lo largo del cuerpo de agua de manera superficial aproximadamente entre 40 a 50 cm. Una vez obtenidas las 3 muestras puntuales por cada punto de muestreo, se procedió a homogenizar las muestras recolectadas, asimismo, el procedimiento se realizó 3 veces por punto de muestreo, de esa manera se obtuvo una muestra representativa por cada punto de muestreo, de las cuales esta muestra representativa fue filtrada mediante membranas de nitrocelulosa con tamaño de poro de 5.0µm y 0.45 µm.

3.5.2 Parámetros fisicoquímicos

- La medición de los parámetros fisicoquímicos se realizó en los mismos puntos de las tomas de muestra mencionados en la Tabla 4, de igual forma tomando como guía los criterios técnicos generales que establece el Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales según Resolución Jefatural N° 010-2016-ANA, utilizando el instrumento multiparámetro YSI Professional Plus, el cual previamente fue calibrado.
- La medición de los parámetros se realizó de forma inmediata luego del vaciado *in situ* de muestra en un balde limpio y transparente, y una vez registrada la medición, se procedió a limpiar los equipos utilizados para proseguir con la siguiente muestra tomada y así sucesivamente muestra por muestra para evitar posible contaminación entre las muestras y variación de resultados (ANA, 2016). Cabe mencionar que en el momento de tomadas las mediciones, al instante se almacenaron las muestras en coolers a una temperatura de -5°C – 0°C.
- Los parámetros fisicoquímicos considerados para este estudio fueron el pH, conductividad (CE), salinidad (S), oxígeno disuelto (OD), sólidos totales disueltos (TDS) y temperatura del agua (WT) (Acharya et al., 2020; Kisand et al., 2012; Sanseverino et al., 2022).

Figura 7. *Medición de parámetros fisicoquímicos en ríos tributarios*



- Dentro de las actividades del viaje para el reconocimiento del lugar de estudio se realizó entrenamiento para la manipulación del equipo multiparamétrico como se aprecia en el Anexo 43.

3.5.3 Parámetros biológicos: Clorofila-A y concentración de cianobacterias

a) Monitoreo de clorofila-*A* y concentración de cianobacterias con el equipo portátil fluorómetro AlgaeTorch

- Para identificar los puntos de muestreo y optimizar la recolección de muestras, se realizó un monitoreo preliminar con el AlgaeTorch, que mide la concentración de clorofila-*A* y cianobacterias. Esto permitió seleccionar los puntos más representativos para el estudio del proyecto de investigación.
- Para el monitoreo del contenido de total de clorofila-*A* [µg chl-a/l] y la concentración de cianobacterias (algas verdes azuladas) [µg chl-a/l] en las aguas del embalse de Pasto Grande y sus ríos tributarios se utilizó el fluorómetro portátil sumergible AlgaeTorch, y para su funcionamiento en campo se siguió el manual guía de fábrica (bbe Moldaenke, 2023).

- El AlgaeTorch se conectó por cable para ser operado a través del software bbe++, que permite visualizar en tiempo real la medición de los parámetros de interés, ver Anexo 45.

Figura 8. *Manipulación del Algaetorch*



- El uso del AlgaeTorch se basó en la medición fluorescente *in situ* en tiempo real tras la excitación de las células de microalgas en respuesta a seis LED de tres longitudes de onda diferentes: 470, 525 y 610 nm. El análisis de medición del fluorómetro está de acuerdo con la norma ISO 10260:1992 - Calidad del agua - Medición de parámetros bioquímicos - Determinación espectrométrica de la concentración clorofila-*A* y DIN 38412/16:1985 - Métodos estándar alemanes para el análisis de agua, aguas residuales y lodos (Naughton et al., 2020).
- El fluorómetro portátil fue sumergido a nivel superficial en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios, ver Figura 10, esto para conocer la concentración de clorofila-*A* y la concentración de cianobacterias existentes en la columna de agua, a través de un monitoreo continuo que genera lectura *in situ* de los 2 parámetros ya mencionados.

Figura 9. *Medición constante de parámetros biológicos con el AlgaeTorch en el embalse Pasto Grande*



- La medición continua se realizó en un lapso de 5 minutos, esto en cada punto de muestreo “candidato” para la colecta de muestras de agua, en total fueron dos monitoreos en dos diferentes épocas del año ESTIAJE Y AVENIDA.

Figura 10. *Medición de Clorofila-A a nivel superficial en el embalse*

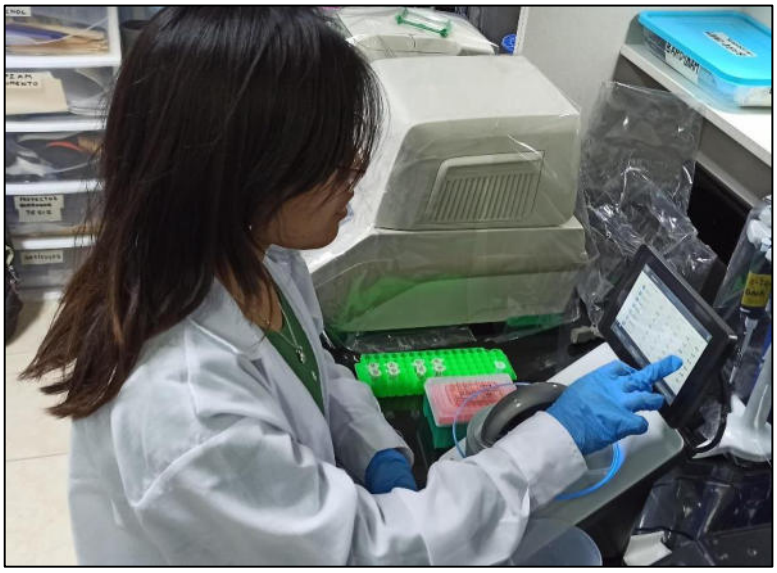


- La programación y el cargado de la batería del fluorómetro se realizó en el laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología de la UNAM, esto dentro de las actividades previas a la visita del lugar de estudio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios.

b) Cuantificación con NanoDrop One^{C}: Clorofila-*A*

- La espectrofotometría es un método común utilizado para medir la absorbancia de la luz por las moléculas de clorofila. Mediante el NanoDrop One^{C} se puede utilizar para medir la absorbancia de la clorofila-*A*.

Figura 11. *Calibración de método para cuantificación clorofila-A en el espectrofotómetro*



- La clorofila-*A* absorbe la luz en longitudes de onda: 433nm - 666 nm, por lo que se seguirán procedimientos de un método personalizado definido por Thermo Fisher Scientific (Thermo Fisher Scientific, 2018).
- Para la extracción de clorofila-*A*, se tomaron 500 ml de agua de cada punto de muestreo previamente seleccionado en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios. Esta muestra fue filtrada a través de una membrana de nitrocelulosa de 5 µm para concentrar los componentes de clorofila presentes. Posteriormente, los restos retenidos en la membrana fueron extraídos con acetona al 80%, un disolvente adecuado para este tipo de análisis. La suspensión obtenida se almacenó en tubos cubiertos de papel aluminio para evitar la degradación de clorofila por el contacto con la luz, a una temperatura de -4°C hasta su medición.

Figura 12. *Membranas de nitrocelulosa de 5 µm con carga retenida de las muestras ambientales luego de la filtración*

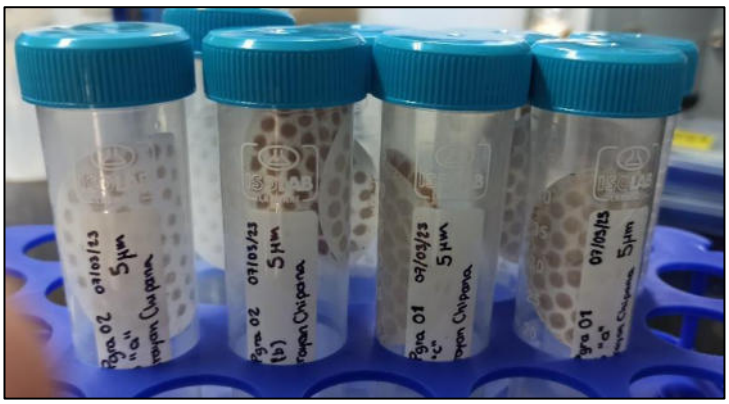
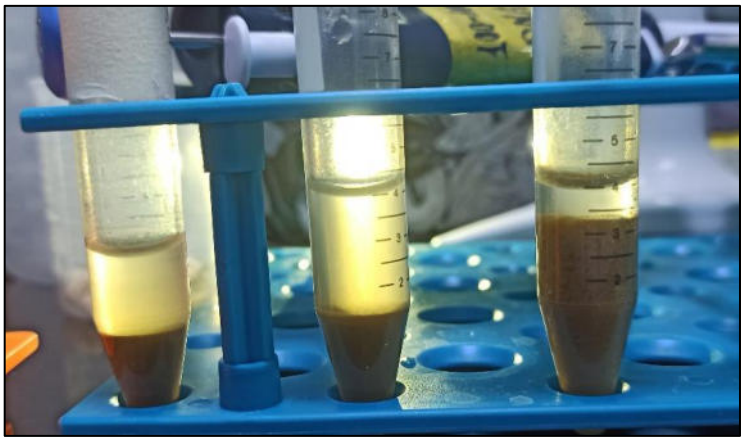
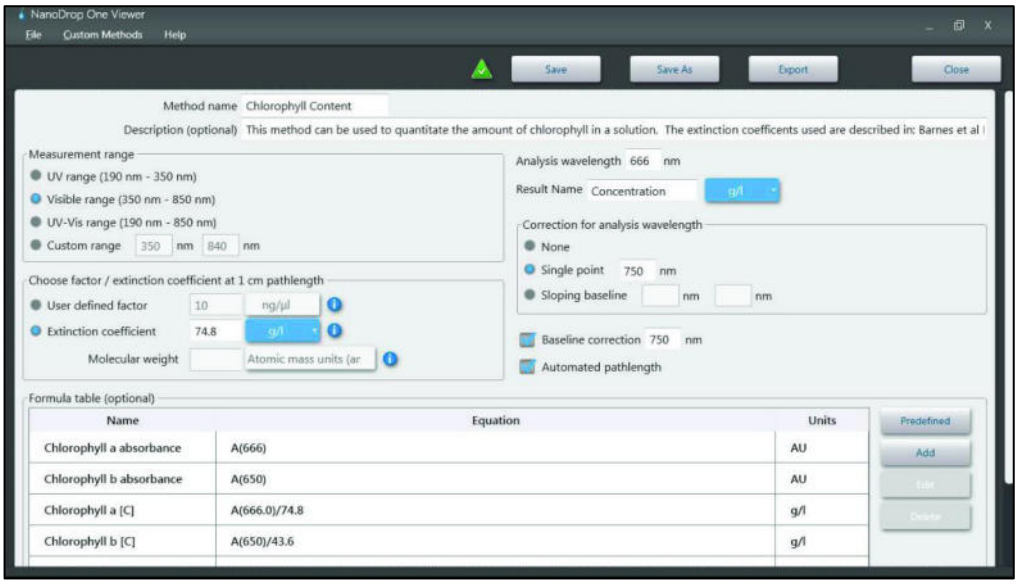


Figura 13. *Membranas de nitrocelulosa sometidas con acetona al 80%*



- La medición de la concentración de clorofila-*A* en las muestras filtradas y extraídas se realizó utilizando el espectrofotómetro NanoDrop One^{C} y un método personalizado en la aplicación UV-Vis. Para esta medición, se estableció un rango de longitud de onda visible de 350-850 nm, con una longitud de onda de análisis de 666 nm, correspondiente al máximo de absorción de la clorofila-*A*. Además, se aplicó una corrección de línea de base a 750 nm para eliminar interferencias y mejorar la precisión de los resultados.

Figura 14. *Interfaz de la pantalla del NanoDrop One^{C} para la configuración personalizada: Cuantificación de Clorofila-A*



- El coeficiente de extinción de 74,8 g/L fue utilizado para calcular la concentración de clorofila-*A*. Las mediciones fueron realizadas en triplicado para cada dilución de la muestra, asegurando la fiabilidad de los datos obtenidos. Las fórmulas personalizadas en la aplicación NanoDrop One^{C} permitieron calcular la concentración exacta de clorofila-*A* en las muestras de agua, proporcionando una medición precisa y consistente.

Figura 15. *Lectura de curvas resultantes del método personalizado en la aplicación UV-Vis*

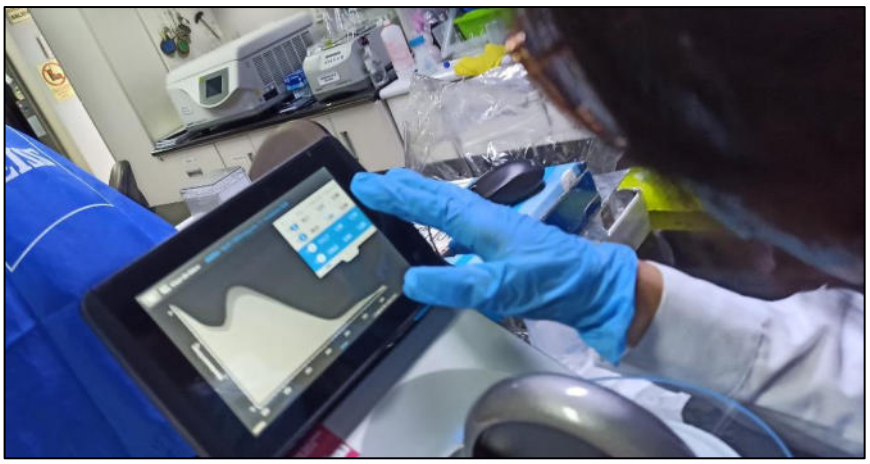


Tabla 5. *Parámetros de método personalizado*

Rango de onda	Visible (350–850 nm)
Coeficiente de extinción	74,8 g/l
Longitud de onda de análisis	666nm
Corrección por longitud de onda de análisis	750nm
Corrección de línea de base	750nm
Longitud de ruta automatizada	On

Nota: (Thermo Fisher Scientific, 2018)

3.5.4 Parámetros inorgánicos: determinación de la concentración de metales pesados con Metalyser HM3000

Se analizaron 15 metales pesados: en las muestras de agua colectadas, utilizando el equipo portátil METALYSER HM3000. Este equipo emplea el método electroquímico de voltamperometría de redisolución anódica y catódica, permitiendo una detección precisa y rápida de los metales en cuestión.

Tabla 6. *Límites de detección inferior de sonda para cada metal pesado*

Metal pesado		**Límite de detección inferior de sonda en ppb**
Arsénico Total	As Total	10
Bismuto	Bi	10
Cadmio	Cd	3
Cromo (VI)	Cr (VI)	50
Cobalto	Co	20
Cobre	Cu	5
Oro	Au	10
Plomo	Pb	5
Manganeso	Mn	5
Mercurio	Hg	5
Níquel	Ni	10
Selenio	Se	5
Talio	Tl	2
Estaño	Sn	10
Zinc	Zn	5

Nota: (Trace2O, 2021)

Se recibió la respectiva capacitación y entrenamiento para la correcta manipulación y uso de este equipo, ver Anexo 53 y Anexo 54, garantizando la calidad y confiabilidad de los resultados obtenidos. Además de los resultados a obtener, estos se contrastaron con los análisis de un laboratorio acreditado por el INACAL y fueron verificados con los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) – Agua: Categoría 1: Población y recreacional, subcategoría A: Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable, Categoría 3. Riego y bebida de animales y, Categoría 4: Conservación del Medio acuático, ver Anexo 56, 57 & 58 respectivamente.

Antes de comenzar con el análisis de los metales pesados por cada muestra, primero se tuvo que descongelar las muestras a analizar, traspasándolas del congelador de -80°C a un refrigerador que mantuvo una temperatura de 3°C. Cabe señalar que se tuvo que estar pendiente del estado de la muestra en su transición de estado sólido a líquido, debido a que una vez esté en estado líquido se procede inmediatamente con el análisis de los metales pesados, para evitar la degradación de la concentración de estos metales pesados.

El procedimiento operativo para el análisis de metales pesados con el METALYSER HM3000 consta de tres pasos principales: enchapado (acondicionamiento), análisis y resultados según el protocolo de fábrica (Trace2O, 2021):

- **Enchapado**

  Este es un proceso que se usa para formar una placa muy delgada en la superficie del electrodo de trabajo y solo lleva unos minutos completarlo. El paso de recubrimiento es necesario antes del análisis de cada elemento; sin embargo, es posible analizar los elementos consecutivamente si comparten una solución de recubrimiento común (p. ej., Cd, Pb, Zn, todos usan la solución de recubrimiento HG500 Hg).

- **Análisis**

  Para realizar una prueba, asegúrese de que el electrodo de trabajo se haya enchapado y acondicionado correctamente para el metal de interés.

  a) *Adición estándar (punto único):* Este es el método de análisis recomendado cuando se utiliza el Metalyser por sí solo. El Metalyser

primero ejecutará un escaneo en la muestra, para determinar si los metales están presentes y medir la respuesta. Se le dará un aviso para agregar un estándar a la muestra; esto se hace usando la pipeta provista. Se agrega un volumen fijo de estándar al SAB que producirá el aumento en la altura del pico a partir del cual se puede calcular la concentración inicial de la muestra.

b) Adición estándar multipunto: Este es el método recomendado cuando se usa la tableta y ofrece un análisis más avanzado. Al seleccionar la opción "Analyse Sample", se ejecutará un análisis y se trazarán los resultados. Se hace una adición estándar a la muestra y la opción "Analyse Sample" se vuelve a ejecutar; este paso se puede repetir para producir múltiples voltamogramas correspondientes a diferentes adiciones estándar. Las alturas de los picos se pueden medir manualmente y los resultados se pueden tabular utilizando la función de hoja de cálculo. Una vez que se han ingresado los datos, la función de cálculo se puede usar para generar una curva de regresión lineal y determinar el resultado para la concentración de la muestra original.

- **Interpretación de voltamogramas**

Después del análisis, se mostró un gráfico conocido como voltamograma. Esta es una gráfica de la corriente de salida frente al potencial aplicado. Si los metales de interés están presentes en la muestra, se vieron picos en los datos. Los picos se etiquetaron automáticamente con el nombre del metal y el valor de concentración calculado y mostrado.

Figura 16. *Equipo Metalyser HM3000*



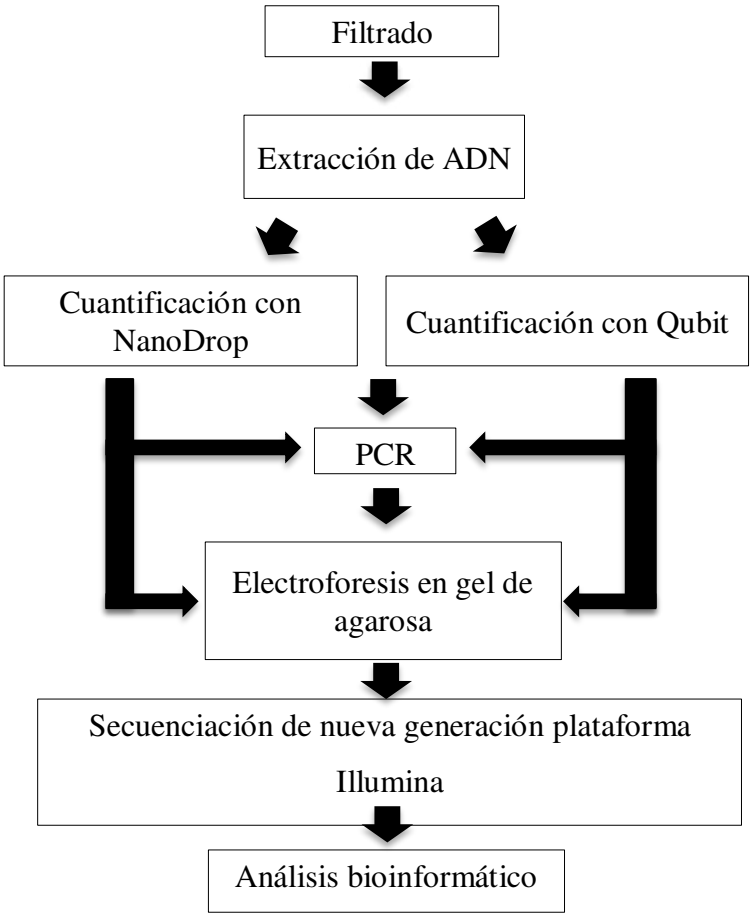
Figura 17. *Cálculos de concentración de metales pesados en el software Trace2O*



3.5.5 Análisis metagenómico microalgal

El flujo de trabajo para la realización del análisis metagenómico microalgal del agua fue el siguiente:

Figura 18. *Flujo de trabajo de análisis metagenómico*



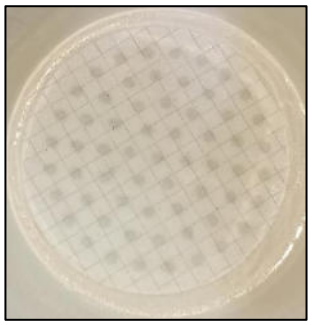
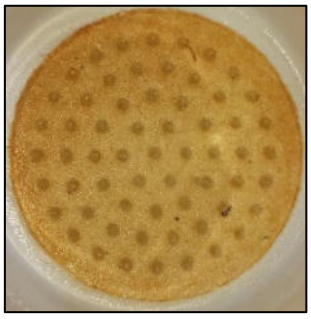
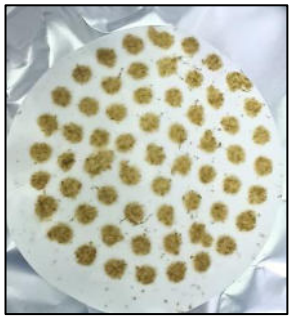
A) Filtración con bomba de vacío

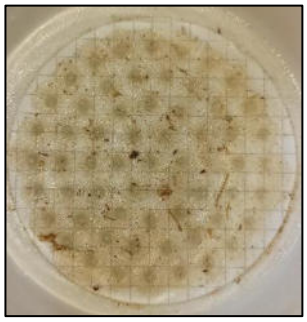
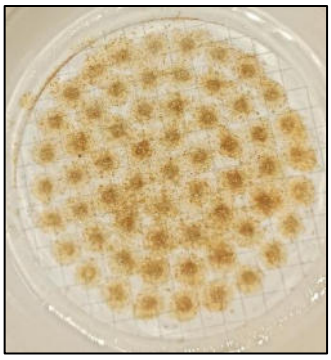
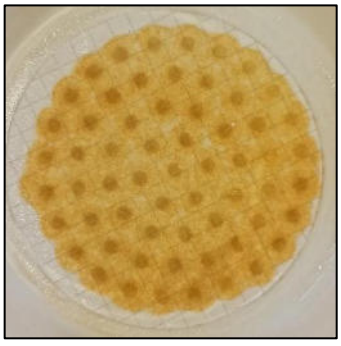
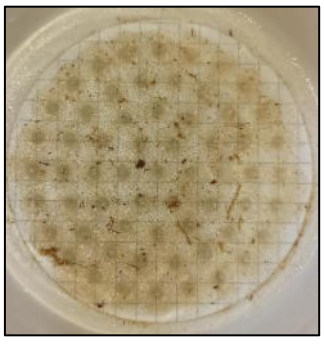
- Para el procedimiento de extracción de ADN, se comenzó filtrando la muestra de agua de acuerdo a la capacidad de absorbancia de la membrana de filtro de nitrocelulosa de 0,45µm y 5.0µm (GSWP, Whatman), previo a esto se armó un sistema de bombeo al vacío, ver Anexo 46, la presión máxima a accionar fue de 0.2 bar (Panksep et al., 2020).
- La cantidad filtrada por muestra varió entre 250 mL a 1000 mL debido a la carga microbiana de las muestras, donde como mínimo se obtuvo 1 filtro de nitrocelulosa de 0,45µm y 1 filtro de nitrocelulosa de 5.0µm por cada muestra, de los cuales, por cada filtración efectuada, enseguida se colocaba el filtro en un tubo de polipropileno para centrífuga con base cónica y se almacenaba en la ultracongeladora a -80°C para la preservación, si es que no se iba a extraer ADN en ese momento.

Figura 19. *Sistema armado para filtración*



Tabla 7. *Coloración de membrana de nitrocelulosa de 0,45µm en época de estiaje y avenida*

Muestra	Estiaje	Avenida
RMillo		
RAnta		
RPata		
RTocc		

EPgra01		
EPgra02		
EPgra03		
EPgra04		

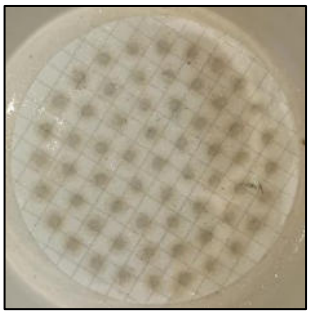
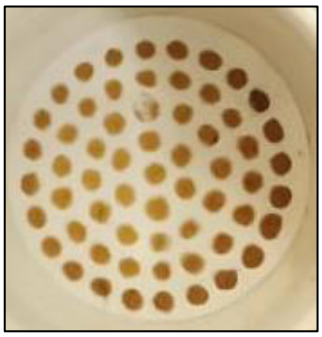
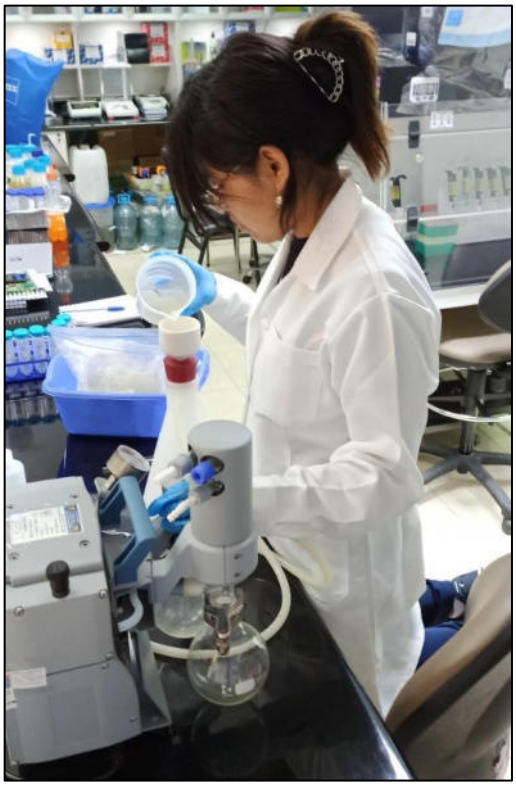
EPgra05		
Naciente		
Bocatoma		

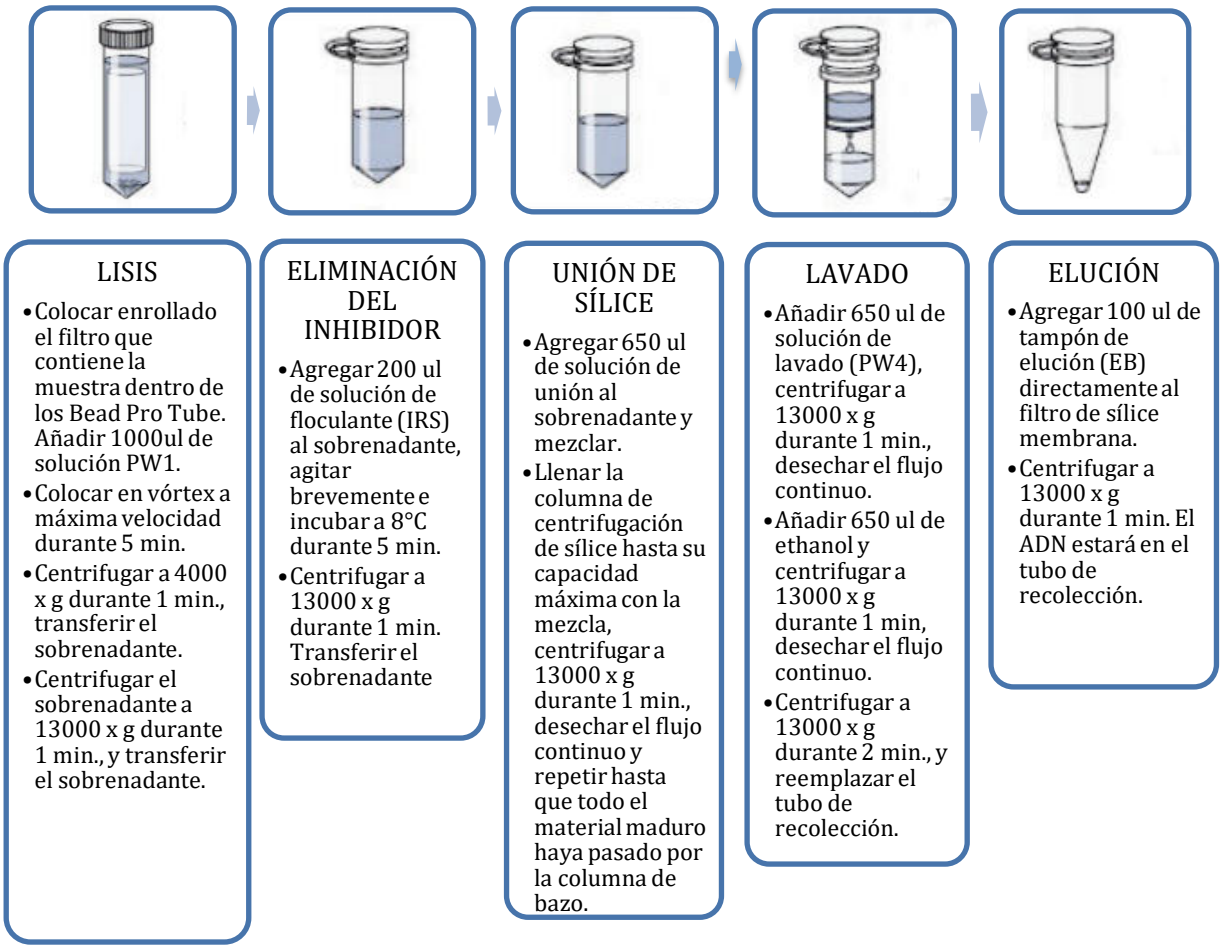
Figura 20. *Filtración con bomba de vacío*



B) Extracción de ADN metagenómico con kit comercial PowerWater DNeasy (Qiagen)

- En primera instancia la extracción de ADN metagenómico siguió el protocolo de muestreo descrito por (Kisand et al., 2012) con tendencia a algunas modificaciones sugerentes en concordancia al proceso de purificación.
- El ADN ambiental metagenómico de cada una de las muestras de agua fue extraído de la biomasa microalgal retenida en la membrana de filtro de nitrocelulosa de 0,45µm y 5.0µm utilizando el kit comercial PowerWater DNeasy (Qiagen), ver Anexo 50; siguiendo las instrucciones del fabricante. El protocolo del kit está estipulado en el Anexo 41.
- Posteriormente el ADN metagenómico se cuantificó mediante mediciones con NanoDrop One^c de la marca Thermo Fisher Scientifc (Sanseverino et al., 2022).

Figura 21. *Procedimiento de extracción de ADN ambiental con el PowerWater DNeasy (Qiagen)*



Nota: (QIAGEN, 2022)

C) Extracción de ADN metagenómico con Wizard® HMW DNA Extraction Kit de Promega

- Se centrifugó a 13000-16000 g durante 10 minutos a temperatura ambiente, donde se vio sedimento verdoso, pero si es que aún quedaba restos de sedimentos, se repetía el paso de centrifugación.

- Se transfirió lentamente el sobrenadante a un tubo de microcentrífuga limpio de 1.5 ml decantando la muestra en un tubo que contenía 600µl de isopropanol previamente a temperatura ambiente.

- Se mezcló suavemente la solución invirtiendo suavemente el tubo ocho veces. Luego, incubamos durante 1 minuto a temperatura ambiente y repetíamos la inversión.

- Centrifugamos a 13000-16000 g durante 2 minutos a temperatura ambiente.

- Decantamos el sobrenadante y añadimos 600µl de etanol al 70% a temperatura ambiente al ADN. Luego invertimos suavemente el tubo varias veces para lavar el sedimento de ADN y los lados del tubo de microcentrífuga. Y centrifugamos de nuevo, teniendo en cuenta el anterior paso.

- Después, desechamos el sobrenadante y repetimos el anterior paso.

- Aspiramos con cuidado el etanol, porque el pellet de ADN está muy suelto en este punto, por lo que con cuidado lo aspiramos sin alterar el pellet. Invertimos el tubo sobre el papel absorbente limpio y dejamos secar el pellet al aire durante el tiempo que sea necesario.

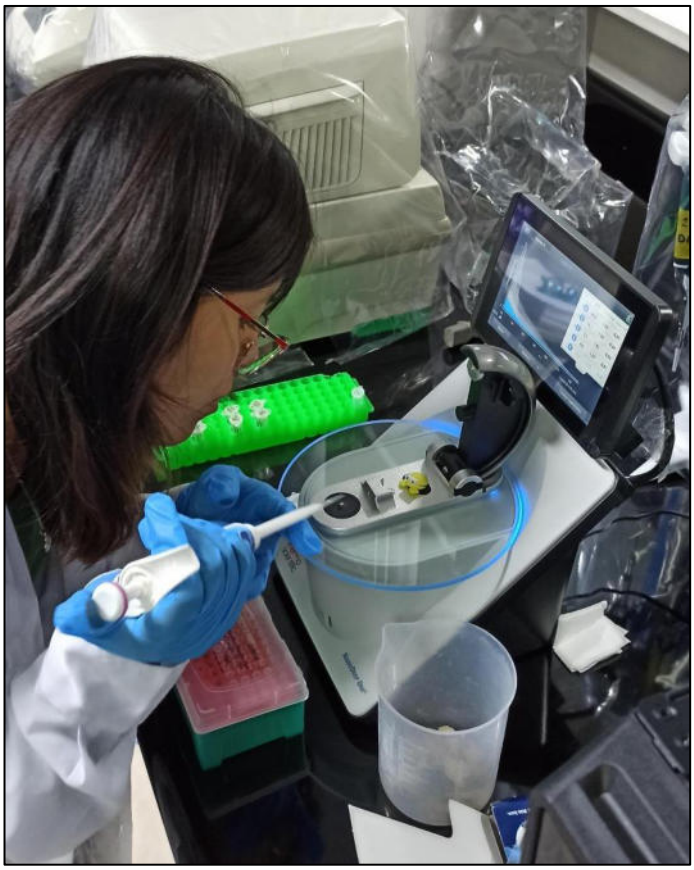
- Agregamos 60µl de solución de rehidratación de ADN al tubo. Y dejamos incubando durante una noche, y ya tenemos nuestro ADN ambiental.

A) NanoDrop One^c

El instrumento es un espectrofotómetro UV-Vis autónomo y compacto diseñado para el análisis de ácidos nucleicos y diversas proteínas purificadas a microescala (Thermo Fisher Scientific, 2016). Para llevarlo a cabo se realizaron los siguientes pasos:

- Se encendió el NanoDrop One^C y se eligió el análisis que se realizará, en este caso en la ventana de ácidos nucleicos se eligió la primera opción de cuantificación de ADN, ver Anexo 53.
- Con la propia micropipeta que trae el equipo se colocó $2\mu l$ de agua ultrapura, este será el blanco y debe ser el primero en analizar.

Figura 22. *Cuantificación de ADN a partir de 2µl de muestra*



- Luego, se colocó 2μl de la muestra de ADN a analizar. Se limpió el pedestal después de colocar cada muestra para evitar contaminación. Se repitió el proceso hasta culminar con el análisis de todas las muestras.

Figura 23. *Limpieza de pedestal del NanoDrop One^{C} con papel tisú.*

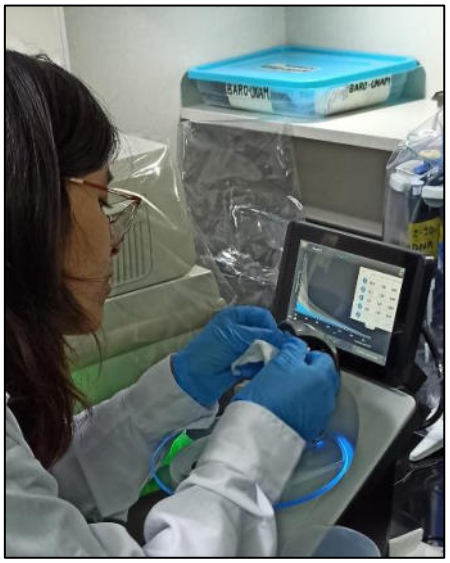
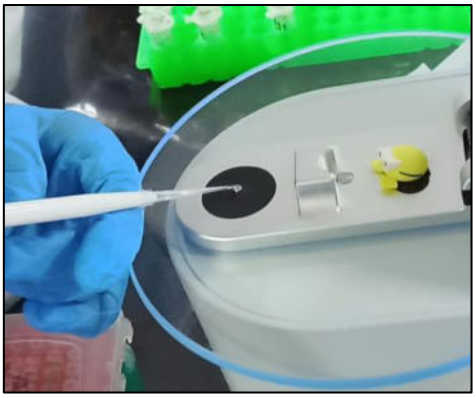


Figura 24. *Vista de la técnica de pipeteo de muestra en pedestal del NanoDrop One^C*



B) Qubit 4

El Qubit 4 cuantifica de manera rápida y precisa el ADN, ARN o proteínas muestra por muestra, además de ser imprescindible para la solicitud del servicio de secuenciamiento de las muestras, ya que por su precisión sirve como indicador si la muestra es pura o está degradada; solo aquellas que tengan una concentración mayor a 10 $ng/\mu L$ son óptimas para realizar el respectivo secuenciamiento.

El Qubit 4 sigue el protocolo de fábrica estipulado en el Anexo 42 (Invitrogen, 2020b):

- Previo a la utilización del equipo, se requirió de tubos para las muestras y los estándares los cuales llegan con el equipo. La cantidad de tubos en total está compuesta por 2 tubos que fueron netamente para cada estándar y los restantes dependieron de cuántas muestras se desearon analizar.
- Rotular necesariamente la tapa de cada tubo, para evitar la interferencia de la lectura de muestra.
- Añadir 10μl de cada estándar en su respectivo tubo.
- Agregar entre 1-20μl de muestra (dependerá de su concentración) en su respectivo tubo.

Figura 25. *Rotulación de tubos para lectura en el fluorómetro Qubit4*

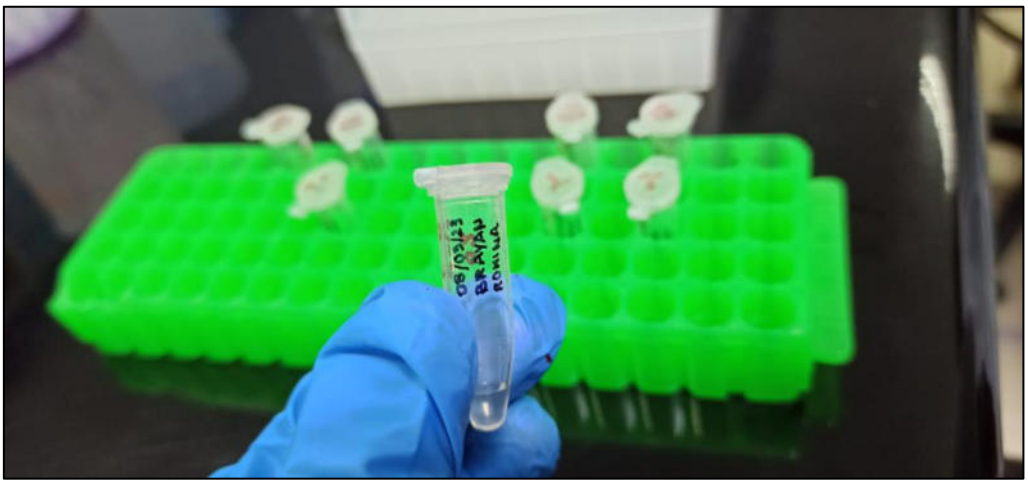
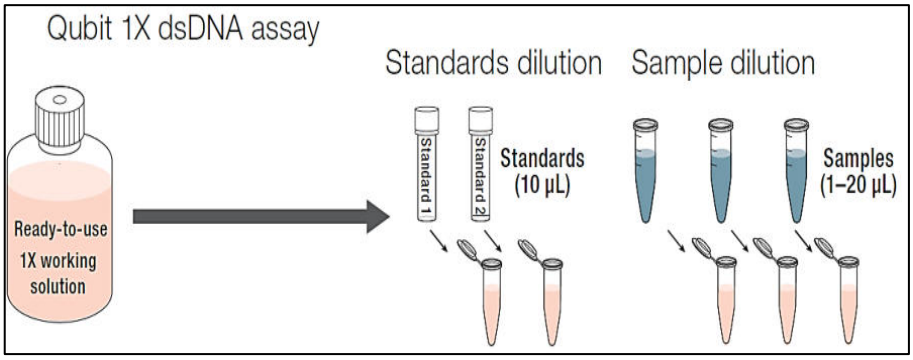


Figura 26. *Configuración de fluorómetro Qubit4 para lectura de ADN a partir de un volumen específico*



- Se agregó la Solución de trabajo 1x dsDNA en cada tubo de tal manera que todos los tubos deben tener un volumen final de 200μl.
- Se mezcló los tubos en el vórtex durante 15 segundos.
- Se incubó a temperatura ambiente durante 3 minutos.
- Los estándares y muestras ya están listos para analizarse en el Qubit 4.

Figura 27. *Diagrama de trabajo en el manejo de reactivos del Qubit 4*



Nota: (Invitrogen, 2020ª)

E) Electroforesis

La electroforesis en gel es una técnica antigua, pero la más utilizada para la separación de fragmentos de ADN, ARN y proteínas en función del tamaño y la carga (Khan Academy, n.d.). Asimismo, al correr una muestra de ADN en un gel de electroforesis, podemos observar si el ADN está intacto o degradado, mediante la visualización de las bandas, si aparecen bandas dispersas en lugar de una banda clara significa que el ADN está dañado. Por ese motivo, la electroforesis es fundamental antes de realizar procedimientos de análisis como PCR o secuenciación, ya que la calidad del ADN afecta los resultados.

Para llevar a cabo esta técnica se siguen los siguientes pasos:

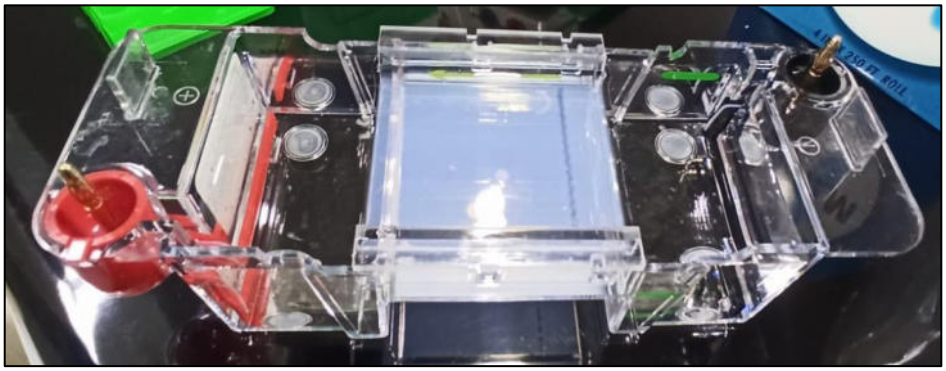
- El ADN metagenómico fue verificado por electroforesis utilizando un gel de agarosa al 1%, para ello se pesa 1g de agarosa y se vierte en un matraz agregando conjuntamente 100 ml de tampón TAE (Tris-acetato-EDTA).
- Se calentó por un minuto en un microondas exclusivamente de laboratorio. Luego se esperó a que el gel esté tibio/frío para colocarlo en la cubeta de electroforesis.
- Se vertió la agarosa ya diluida y atemperada (tibio/frío) a la cubeta, la cual previamente ya debió ser alistada colocando el molde (base), las barras (para sellar los bordes) y el peine.

Figura 28. *Posicionamiento de peine para enfriamiento de gel*



- Se esperó a que solidifique el gel de agarosa.
- Una vez solidificado el gel, retiró las barras y el peine.
- Se vertió el tampón TAE (Tris-acetato-EDTA) 1x en la cubeta hasta cubrir el gel.

Figura 29. *Cubeta de electroforesis y su respectivo gel de agarosa con tampón TAE (Tris-acetato-EDTA)1X*



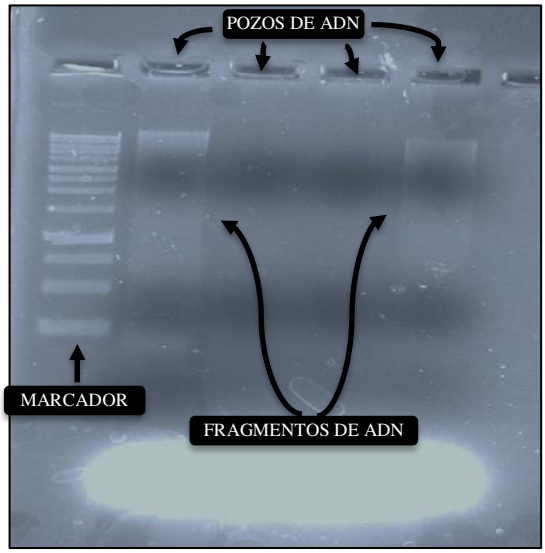
- Se colocó en el primer pozo $3\mu l$ del marcador molecular (1kb DNA Ladder), como se aprecia en el Anexo 50.
- En los siguientes se colocó para cada pozo una mezcla de $3\mu l$ del marcador (Blue/Orange 6x) con $8\mu l$ de las muestras. Es decir, el volumen total a colocar para cada pozo fue de $11\mu l$. Los pozos llenados fueron acorde a la cantidad de muestras que se tenía.
- Se cubrió la cubeta y se conectó a la fuente de poder de marca BIO RAD

Figura 30. *Fuente de poder BIO RAD PowerPac Universal*



- Se configuró la fuente de poder a 100 V por 1 hora.
- Trasladó el gel a un recipiente que contiene una solución de bromuro de etidio ($4\mu l$) y TAE ($100ml$) y se esperó por 20 min.
- El gel se trasladó al fotodocumentador, para visualizar los fragmentos de ADN, ver Anexo 51. Este dispositivo utiliza luz ultravioleta para iluminar el gel, donde los fragmentos se tiñen con colorantes específicos que se unen al ADN. A medida que se expusieron a la luz UV, las bandas de ADN se iluminaron, creando una imagen clara de su distribución en el gel. Esta imagen fue capturada por el fotodocumentador, facilitando la visualización y el análisis de la longitud y cantidad de los fragmentos.
- De esta manera el gel actuó como una herramienta clave para identificar y comparar los fragmentos según su tamaño, proporcionando resultados precisos para la toma de decisiones en la experimentación molecular, ver Anexo 25.

Figura 31. *Fragmentos de ADN en el gel de agarosa*



F) Reacción de cadena de polimerasa (PCR)

La PCR es hoy en día una técnica indispensable en biología molecular que permite la amplificación de un fragmento de ADN varios órdenes de magnitud (Molist, 2018).

El ADN extraído se amplificó mediante PCR con primers contenientes del gen 16s presentados en la Tabla 8.

Tabla 8. *Secuencia con Primers*

Primers		**Primer sequence**
27F	Foward	AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG
1492R	Reverse	CGG TTA CCT TGT TAC GAC TT

Nota: (P. Liu et al., 2018)

La programación de PCR corrió con los siguientes termociclos especificados en la siguiente tabla:

Tabla 9. *Programación PCR para la amplificación de muestras ambientales.*

Ciclo	**Temperatura (°C)**	**Tiempo**
1	94	4 min
2	94	30 s
3	58	45 s
4	72	45 s
5	Paso del 2 al 7 se repite 35 veces	
6	72	4 min

Figura 32. *Termociclos para la amplificación muestras metagenómicas con el gen 16s*



a. Secuenciación de nueva generación (NGS) – Plataforma Illumina

Para el proceso de secuenciación, las muestras se mandaron a analizar al país de China por servicio de la empresa BTS Consultores (Lima), empresa especializada en el secuenciamiento de genomas. Se aplicó la secuenciación de tipo NGS (Secuenciación de nueva generación) mediante el método "secuenciación del metagenoma", método que identifica comunidades de microalgas que existen en diferentes entornos ambientales (MACROGEN, 2020).

b. Análisis bioinformático

- El análisis bioinformático fue realizado por la empresa BTS Consultores, donde utilizaron los siguientes programas informáticos.

Tabla 10. *Softwares para el análisis bioinformático*

SoftWare Name	Versión	R Package	Versión
cutadapt	1.18	vegan	2.5-6
PEAR	0.9.8	ggraph	2.0.0
PRINSEQ	0.20.4	phyloseq	1.30.0
Usearch	11.0.667	gplots	3.0.1.1
RDP classifier	2.12	ape	5.3
NCBI Blast+	2.10.0	mixOmics	6.10.6
Mothur	1.43.0	ade4	1.7-13
Muscle	3.8.31	cluster	2.1

MAFFT	7.45	clusterSim	0.48-3
BMGE	1.12	VennDiagram	1.6.20
Fasttree	2.1.7	UpSetR	1.4.0
Krona	2.7.1	circlize	0.4.8
ETE3	3.1.1	ggtern	3.1.0
GraPhlAn	1.1.3	metagenomeSeq	1.28.0
STAMP	2.1.3	DESeq2	1.26.0
LEfSe	1.1.0	randomForest	<4.6-14
SparCC	1.0.0	pROC	1.15.3
PICRUSt2	2.5.2	corrplot	0.84
BugBase	0.1.0	dada2	1.14.0
FAPROTAX	1.2.1		
FUNGuild	1		
R	3.6.0		
SMRT Link	10.0		

- Así mismo, se empleó la herramienta informática SPSS Statistic 21 y Microsoft Excel para el procesamiento de datos, elaboración de gráficos y tablas (Sernaque Aguilar et al., 2019).

3.6 Análisis de datos

3.6.1 Validación y confiabilidad de los instrumentos

Las muestras de ADN extraídas en el laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología de la UNAM se mandaron a analizar a la empresa BTS el cual usó un análisis bioinformático secuenciación de nueva generación (NGS), que nos permitió obtener datos metagenómicos de la abundancia de taxones de microalgas y cianobacterias en las épocas de estiaje y avenida.

Las muestras de agua recolectadas fueron analizadas en el laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología de la UNAM usando un equipo portátil METALYSER HM3000 FIELD PRO de detección de la concentración de metales pesados, así como también se contrastaron estos resultados mediante el análisis de muestras en un laboratorio acreditado, el cual utilizaron la técnica analítica de espectrofotometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) para la cuantificación de las concentraciones de metales pesados

3.6.2 Métodos y técnicas para la presentación y análisis de datos

Los gráficos de concentración de metales pesados y relación entre la metagenómica microalgal se realizaron utilizando Microsoft Excel a través de tablas de datos generadas en SPSS Statistic 21.

a. Preprocesamiento de datos a partir de las OTUs

Las OTUs (Unidades Taxonómicas Operacionales) son agrupaciones de secuencias genéticas similares, fueron utilizadas para identificar y analizar unidades taxonómicas como especies o géneros en estudios filogenéticos o de genética poblacional. Estas se generaron al agrupar secuencias según un umbral de similitud, comúnmente del 97%. Este enfoque facilita el análisis de la diversidad microbiana en muestras mediante herramientas bioinformáticas. Las OTUs representan la base para interpretar el número y tipo de organismos en los resultados de secuenciación.

b. Anotación y estadísticas de especies de OTU

Para obtener la información de clasificación de especies correspondiente a cada OTU, fue necesario analizar las secuencias representativas de los OTU utilizando las bases de datos apropiadas para diferentes tipos de amplificación, principalmente el siguiente software y algoritmos:

RDP classifier: El RDP classifier se basa en la taxonomía de Bergey y utiliza el algoritmo de asignación Naïve Bayesian para calcular la probabilidad de que cada secuencia sea asignada a este nivel en diferentes niveles taxonómicos.

SINTAX: SINTAX (SImple Non-Bayesian TAXonomy) se basa en un algoritmo de clasificación no bayesiano, usando Kmer (por defecto k=8, muestreo con reposición de 32 kmers) para calcular los Kmer compartidos con la biblioteca de referencia, determinar los mejores Hits, y después de 100 iteraciones, determinar la clasificación de cada nivel (la clasificación que aparece más frecuentemente) y la confiabilidad (la frecuencia de aparición).

Blast: Utiliza blastn para alinear las secuencias con la base de datos correspondiente, seleccionando los mejores resultados de alineación para cada secuencia y filtrando los resultados. Por defecto, las secuencias que cumplen con

una similitud >90% y una cobertura >90% se utilizan para la clasificación subsecuente, mientras que las secuencias que no cumplen estos criterios se clasifican como no clasificadas.

Por defecto: Los fragmentos amplificados de 16S se alinean con la base de datos RDP utilizando RDP classifier; el 16S completo se alinea con la base de datos GTDB utilizando Blast; los genes funcionales se alinean con la base de datos NCBI NT utilizando Blast; el 18S se alinea con la base de datos Silva utilizando Blast; el ITS se alinea con la base de datos UNITE utilizando Blast.

Finalmente, se calculó la composición comunitaria de cada muestra en los distintos niveles taxonómicos: dominio, filo, clase, orden, familia, género y especie.

c. Estadística descriptiva (media, desviación estándar, etc)

La **estadística descriptiva** es un conjunto de herramientas y métodos utilizados para resumir, organizar y presentar los datos de manera comprensible. En el contexto de un análisis metagenómico de microalgas y cianobacterias, esta estadística permitió describir las principales características de los datos obtenidos, facilitando su interpretación antes de realizar análisis más complejos. (Corcoran, 2019).

d. Coeficiente de correlación de Pearson o regresión lineal

El coeficiente de correlación de Pearson es una medida estadística que se utiliza para evaluar la relación lineal entre dos variables cuantitativas. Esta medida proporciona información sobre la intensidad y la dirección de la relación entre las variables. El coeficiente de correlación de Pearson varía entre -1 y 1, donde un valor de -1 indica una correlación negativa perfecta, un valor de 0 indica la ausencia de correlación y un valor de 1 indica una correlación positiva perfecta (Hernández Lalinde et al., 2018).

3.6.3 Contrastación de hipótesis

Contraste de primera hipótesis: Se usó estadística descriptiva para resumir la diversidad filogenética y la presencia de taxones productores de cianotoxinas en cada época (estiaje y avenida) mediante tablas de frecuencia y

gráficos comparativos. Para analizar la asociación, se emplearon métodos de correlación (como Pearson o Spearman según la distribución) entre parámetros ambientales, microalgas y la abundancia de taxones productores de cianotoxinas, proporcionando evidencia sobre la relación entre ambos factores.

Contraste de segunda hipótesis: En este caso dividimos nuestros datos en grupos de "época de estiaje" y "época de avenida", y se comparó las concentraciones de metales pesados en cada grupo haciendo uso de la estadística descriptiva.

Contraste de tercera hipótesis: La estadística descriptiva resumió las concentraciones de clorofila-*A* y metales pesados por época, mostrando tendencias generales. Se empleó un análisis de correlación de Pearson para determinar si existe una relación lineal entre las concentraciones de clorofila-*A* y los metales pesados en cada época.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

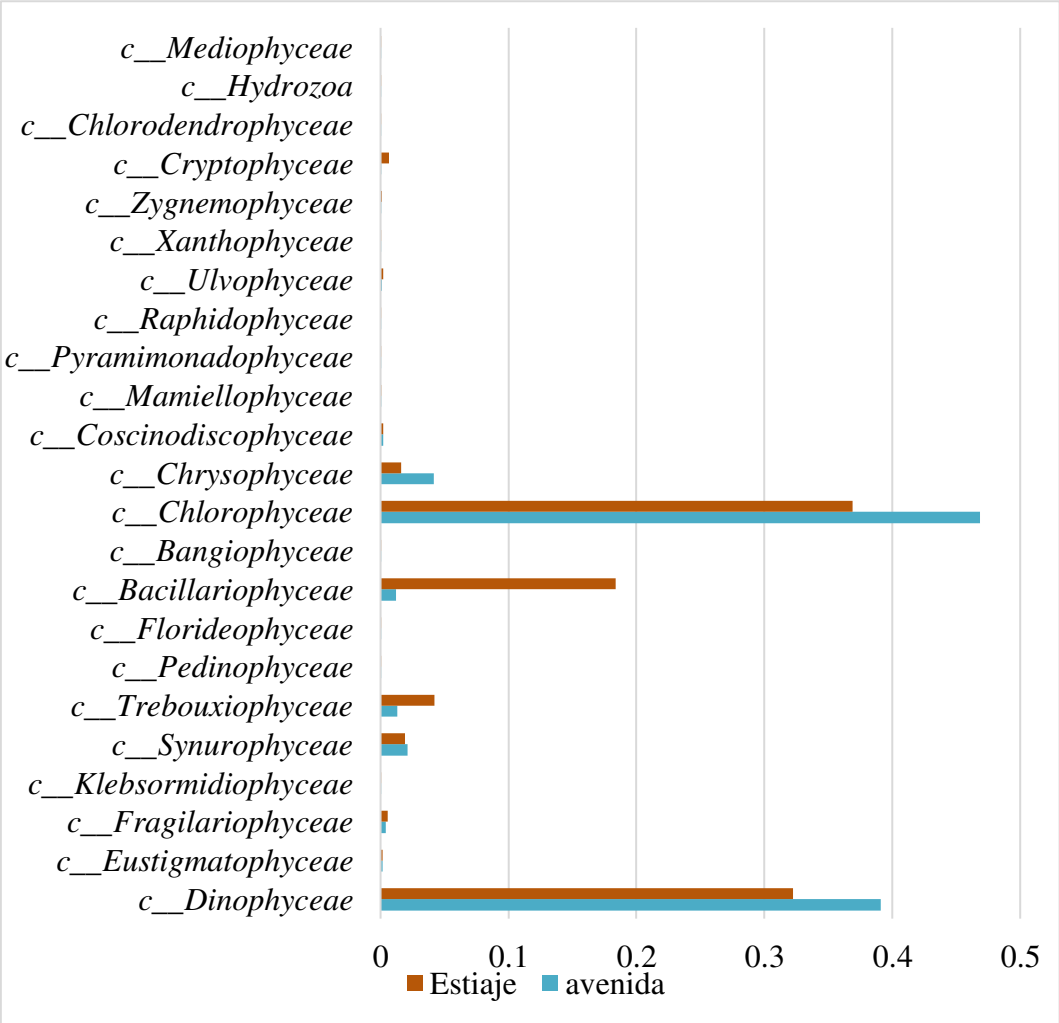
4.1.1. Análisis de la asociación entre la diversidad filogenética de microalgas y presencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida.

Tabla 11. *Abundancia de taxones de microalgas por clase en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*

	Clase	Avenida		Estiaje	
		F*	%	F*	%
Sin clasificación	*Chlorophyta*	10303	3.56%	7411	2.23%
	Perkinsozoa	21	0.01%	21	0.01%
	Eukaryota	1444	0.50%	1444	0.44%
Clases Clasificadas	*Dinophyceae*	113204	39.09%	106965	32.23%
	Eustigmatophyceae	403	0.14%	523	0.16%
	Fragilariophyceae	1144	0.40%	1846	0.56%
	Klebsormidiophyceae	13	0%	13	0%
	Synurophyceae	6058	2.09%	6354	1.91%
	Trebouxiophyceae	3766	1.30%	13983	4.21%
	Pedinophyceae	98	0.03%	100	0.03%
	Florideophyceae	75	0.03%	115	0.03%
	Bacillariophyceae	3559	1.23%	61028	18.39%
	Bangiophyceae	89	0.03%	149	0.04%
	Chlorophyceae	135750	46.88%	122440	36.89%
	Chrysophyceae	12013	4.15%	5293	1.59%
	Coscinodiscophyceae	604	0.21%	629	0.19%
	Mamiellophyceae	198	0.07%	202	0.06%
	Pyramimonadophyceae	9	0%	9	0%
	Raphidophyceae	4	0%	4	0%
	Ulvophyceae	288	0.10%	672	0.20%
	Xanthophyceae	75	0.03%	103	0.03%
	Zygnemophyceae	207	0.07%	323	0.10%
	Cryptophyceae	201	0.07%	2212	0.67%
	Chlorodendrophyceae	29	0.01%	58	0.02%
	Hydrozoa	13	0%	13	0%
	Mediophyceae	2	0%	2	0%
	Totales	289570	100%	331912	100%

Nota: * Frecuencia

Figura 33. *Abundancia de taxones de microalgas por clase en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



La Tabla 11 muestra la abundancia de taxones de microalgas en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de avenida y estiaje, de acuerdo a la dimensión presentada en la Tabla 2 referente a la variable dependiente, teniendo como indicador los taxones encontrados de acuerdo a la clase de microalgas clasificadas y sin clasificar. Durante la avenida, la clase *Chlorophyceae* es la más abundante, representando el 46.88% de la población total (135750 frecuencias), seguida de *Dinophyceae* con el 39.09% (113204 frecuencias). Otras clases notables incluyen *Chrysophyceae* (4.15%) y *Synurophyceae* (2.09%). Las microalgas sin clasificar, principalmente de *Chlorophyta*, representan un 3.56%.

En estiaje, *Chlorophyceae* sigue siendo dominante, aunque su proporción disminuye al 36.89% (122440 frecuencias), mientras que *Dinophyceae* también

reduce su porcentaje a 32.23% (106965 frecuencias). En contraste, clases como *Bacillariophyceae* incrementan notablemente su proporción, alcanzando un 18.39% en estiaje frente al 1.23% en avenida. *Trebouxiophyceae* también muestra un incremento en su proporción, pasando de 1.30% en avenida a 4.21% en estiaje. En cuanto a las microalgas sin clasificar, *Chlorophyta* disminuye ligeramente de 3.56% en avenida a 2.23% en estiaje. Otros grupos menos representados, como *Cryptophyceae* y *Fragilariophyceae*, muestran incrementos modestos en estiaje.

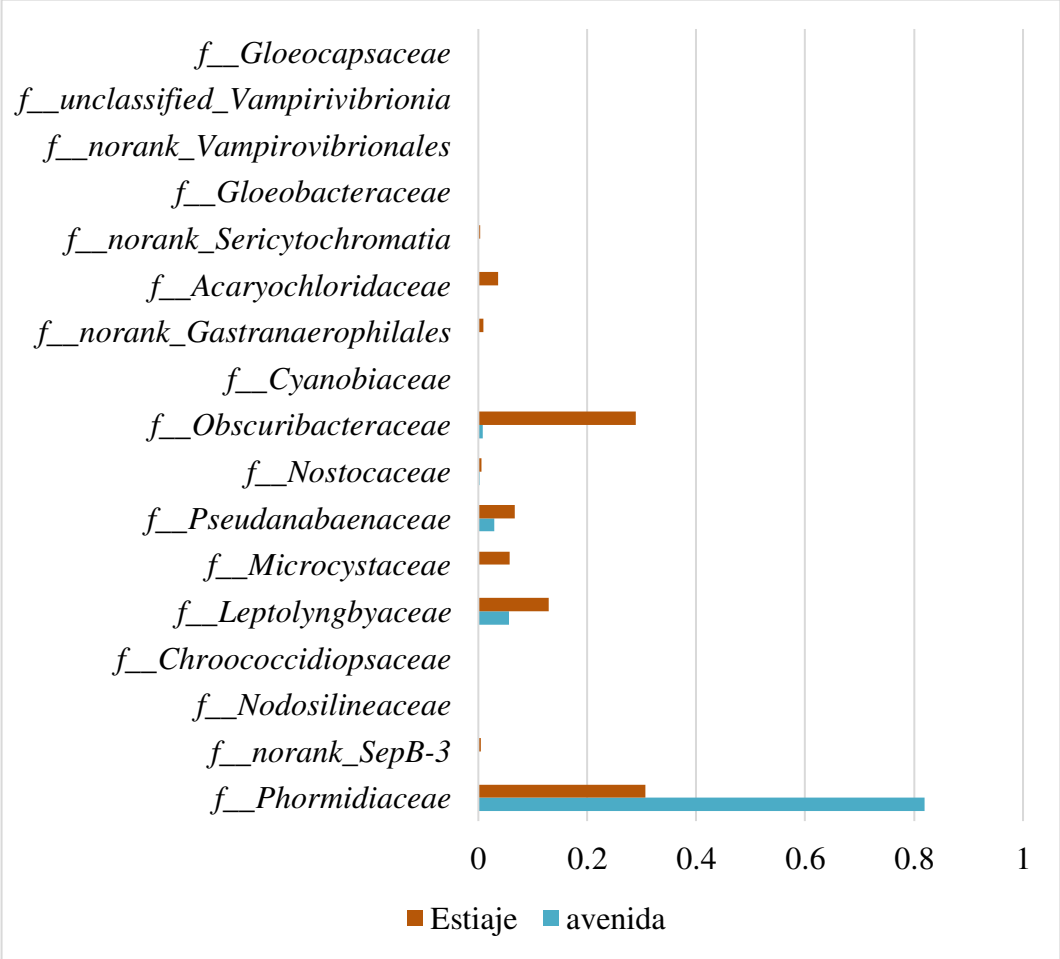
Mencionado lo anterior, se expone que durante la avenida, *Chlorophyceae* y *Dinophyceae* dominan la comunidad de microalgas, mientras que en estiaje, se observa una mayor diversidad con el incremento de clases como *Bacillariophyceae* y *Trebouxiophyceae*, en donde la variación en la composición refleja un cambio en la comunidad algal en respuesta a las condiciones ambientales de cada época.

Tabla 12. *Abundancia de cianobacterias por familia en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*

	Familia	**Avenida**		**Estiaje**	
		F*	**%**	**F***	**%**
Sin clasificar	*Cyanobacteriia*	1246	2.85%	1360	2.32%
	Cyanobacteriales	42	0.10%	28	0.05%
	Cyanobacteriia	2170	4.96%	3817	6.52%
Familias Clasificadas	*Phormidiaceae*	35832	81.97%	17976	30.72%
	SepB-3	50	0.11%	292	0.50%
	Nodosilineaceae	2	0%	2	0%
	Chroococcidiopsaceae	6	0.01%	2	0%
	Leptolyngbyaceae	2451	5.61%	7567	12.93%
	Microcystaceae	11	0.03%	3338	5.70%
	Pseudanabaenaceae	1280	2.93%	3918	6.69%
	Nostocaceae	88	0.20%	349	0.60%
	Obscuribacteraceae	365	0.83%	16940	28.94%
	Cyanobiaceae	36	0.08%	25	0.04%
	Gastranaerophilales	33	0.08%	572	0.98%
	Acaryochloridaceae	44	0.10%	2094	3.58%
	Sericytochromatia	22	0.05%	229	0.39%
	Gloeobacteraceae	19	0.04%	12	0.02%
	Vampirovibrionales	3	0.01%	0	0%
	Vampirivibrionia	10	0.02%	4	0.01%
	Gloeocapsaceae	5	0.01%	0	0%
	Totales	43715	100%	58525	100%

Nota: * Frecuencia

Figura 34. *Abundancia de cianobacterias por familia en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



La Tabla 12 presenta datos los cuales están divididos en taxones de acuerdo a la familia de cianobacterias, indicador que también es considerado en la Tabla 2 correspondiente a la variable dependiente donde se encontraron taxones de cianobacterias clasificadas y sin clasificar en el embalse Pasto Grande durante y sus ríos tributarios en las épocas de avenida y estiaje. En ambas épocas, la mayoría de las cianobacterias identificadas pertenecen a familias clasificadas, mientras que una fracción menor permanece sin clasificar.

Durante la avenida, la familia *Phormidiaceae* representa la mayor proporción de cianobacterias con un 81.97% (35832 frecuencias). Otras familias con menor abundancia incluyen *Leptolyngbyaceae* (5.61%) y *Pseudanabaenaceae* (2.93%). Las cianobacterias sin clasificar alcanzan un 7.91%, destacando los grupos *Cyanobacteriia* (2.85%) y *Cyanobacteriia* (4.96%).

En estiaje, la abundancia de *Phormidiaceae* disminuye significativamente a un 30.72% (17976 frecuencias), mientras que otras familias como *Obscuribacteraceae* aumentan a un 28.94% (16940 frecuencias) y *Leptolyngbyaceae* incrementa su proporción al 12.93%. La familia *Microcystaceae* también muestra un aumento considerable en estiaje (5.70%). Los grupos sin clasificar representan un 8.89%, con *Cyanobacteriia* en 6.52% y *Cyanobacteriia* en 2.32%.

Mencionado lo anterior, se expone que durante la avenida, *Phormidiaceae* domina la abundancia de cianobacterias, mientras que en estiaje, se observa una mayor diversidad, con aumentos significativos en *Obscuribacteraceae* y *Leptolyngbyaceae*. La abundancia de grupos sin clasificar también se mantiene notable en ambas épocas, sugiriendo la necesidad de estudios adicionales para una identificación más precisa de estos grupos.

Tabla 13. *Presencia de posibles taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje.*

Época	Punto de muestreo	Posible presencia de taxones						Total
		Sin Clasificación		Si		No		
		F*	%	F*	%	F*	%	
Estiaje	RMillo	7	30.4%	5	21.7%	11	47.8%	23
	RAnta	7	21.2%	1	3%	25	75.8%	33
	RTocc	9	26.5%	2	5.9%	23	67.6%	34
	EPgra01	6	26.1%	2	8.7%	15	65.2%	23
	EPgra02	7	28%	3	12%	15	60%	25
	EPgra03	6	26.1%	2	8.7%	15	65.2%	23
	EPgra04	4	16%	3	12%	18	72%	25
	EPgra05	5	26.3%	1	5.3%	13	68.4%	19
	Bocatoma	4	14.3%	2	7.1%	22	78.6%	28
	Naciente	14	23.7%	6	10.2%	39	66.1%	59
Total		69	23.6%	27	9.2%	196	67.1%	292

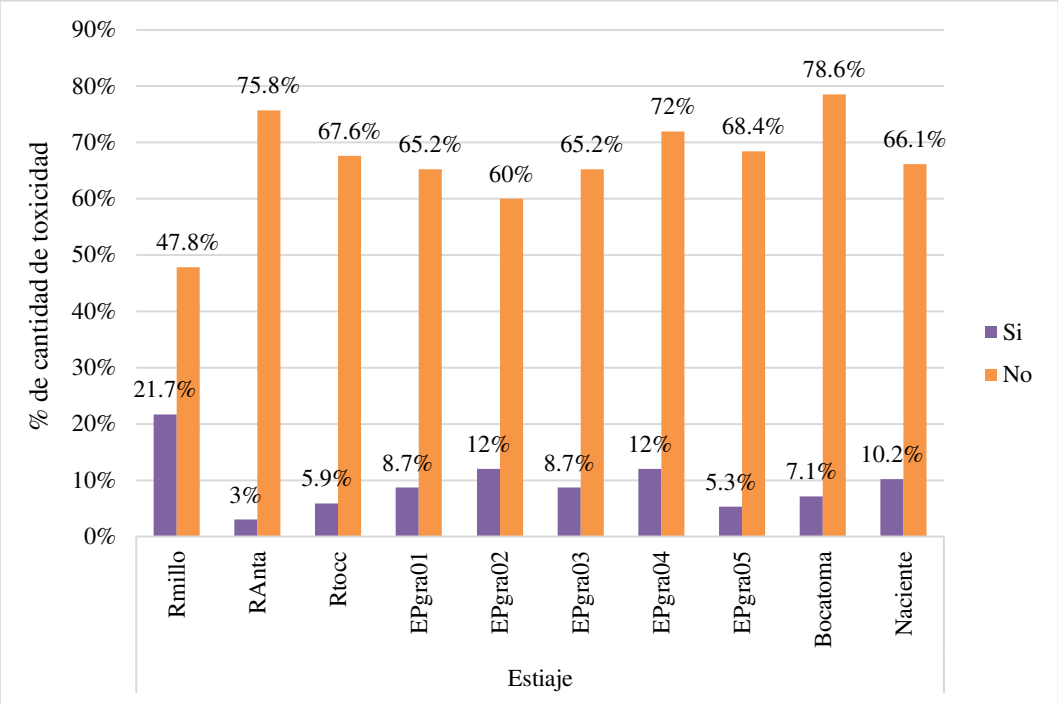
Nota: *Frecuencia. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Tabla 14. *Posibles taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje.*

Punto de muestreo	F*	Abundancia o número de secuencias	Familia	Especie
RMillo	5	10	*Cyanobiaceae*	Cyanobium_sp._PCC-6307
		1	*Nostocaceae*	Scytonema_sp._UTEX_2349
		2	*Microcystaceae*	SU2_symbiont_group_sp.
		3	*Leptolyngbyaceae*	Phormidium_sp._SAG_37.90
		1	*Nostocaceae*	Scytonema_sp._UTEX_2349
RAnta	1	3	*Nostocaceae*	Calothrix_sp._PCC-6303
RTocc	2	60	*Nostocaceae*	unclassified_Nostocaceae
		6	*Pseudanabaenaceae*	Pseudanabaenaceae_sp.
EPgra01	2	2	*Nostocaceae*	Scytonema_sp._UTEX_2349
		10	*Cyanobiaceae*	Cyanobium_sp._PCC-6307
EPgra02	3	121	*Nostocaceae*	Scytonema_sp._UTEX_2349
		15	*Nostocaceae*	Scytonema_sp._UTEX_2349
		3	*Nostocaceae*	Calothrix_sp._PCC-6303
EPgra03	2	96	*Nostocaceae*	Scytonema_sp._UTEX_2349
		150	*SepB-3*	SepB-3_sp.
EPgra04	3	14	*Nostocaceae*	Scytonema_sp._UTEX_2349
		2	*Nostocaceae*	Scytonema_sp._UTEX_2349
		6	*Pseudanabaenaceae*	Pseudanabaenaceae_sp.
EPgra05	1	3	*Nostocaceae*	Calothrix_sp._PCC-6303
Bocatoma	2	79	*SepB-3*	SepB-3_sp.
		2	*Nostocaceae*	Scytonema_sp._UTEX_2349
Naciente	6	3	*Phormidiaceae*	unclassified_Phormidiaceae
		3	*Nostocaceae*	unclassified_Nostocaceae
		2	*Leptolyngbyaceae*	Phormidium_sp._CYN64
		789	*Phormidiaceae*	unclassified_Phormidiaceae
		1506	*Pseudanabaenaceae*	Pseudanabaenaceae_sp.
		13	*Nostocaceae*	Calothrix_sp._PCC-6303

Nota: *Frecuencia. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Figura 35. *Presencia de posibles taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje.*



Nota: Época de estiaje. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

La Tabla 13 presenta la relación entre los puntos de muestreo en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante la época de estiaje, clasificando la posible producción de cianotoxinas en tres categorías: sin clasificación, taxones de cianobacterias que posiblemente si producen cianotoxina ("Sí") y los taxones que posiblemente no producen cianotoxina, con sus porcentajes y frecuencias respectivas.

En el punto de muestreo RMillo, de las muestras recolectadas, el 30.4% se encuentra sin clasificación, el 21.7% muestra posible producción de cianotoxinas y el 47.8% se clasifica sin cianotoxina. Esto refleja una baja incidencia de posible producción de cianotoxinas en este punto, predominando las muestras sin cianotoxina. Para RAnta, con un total de muestras significativas, el 21.2% queda sin clasificación, el 3% muestra posible producción de cianotoxinas y el 75.8% corresponde a la categoría sin cianotoxina, indicando una predominancia de posibles condiciones no tóxicas en este sitio. En RTocc, el 26.5% de las muestras está sin clasificación, el 5.9% tiene posible producción de cianotoxinas y el 67.6%

se clasifica sin cianotoxina. La tendencia en este punto sugiere una posible baja frecuencia de cianotoxinas.

Los puntos EPgra01 a EPgra05 presentan un comportamiento similar. En EPgra01, el 26.1% de las muestras está sin clasificación, el 8.7% posiblemente produce cianotoxinas y el 65.2% se clasifica sin cianotoxina. En EPgra02, el 28.0% queda sin clasificación, el 12% posiblemente produce cianotoxinas y el 60% se clasifica sin cianotoxina. Los puntos EPgra03 y EPgra04 también muestran un predominio de la categoría sin cianotoxina, con valores de 65.2% y 72.0% respectivamente, mientras que en EPgra05, el 26.3% está sin clasificación, el 5.3% posiblemente produce cianotoxinas y el 68.4% se clasifica sin cianotoxina.

En los puntos Bocatoma y Naciente, el comportamiento es consistente con los demás puntos. En Bocatoma, el 14.3% de las muestras queda sin clasificación, el 7.1% muestra posible producción de cianotoxinas y el 78.6% se clasifica sin cianotoxina. En Naciente, el 23.7% está sin clasificación, el 10.2% posiblemente produce cianotoxinas y el 66.1% se clasifica sin cianotoxina. Estos resultados sugieren que durante la época de estiaje, la posible producción de cianotoxinas en los puntos de muestreo es generalmente baja, con una alta proporción de posibles muestras sin cianotoxina en la mayoría de los puntos, lo que podría señalar un ambiente relativamente seguro en términos de producción de toxinas en el embalse y sus afluentes.

Tabla 15. *Posible presencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida.*

Época	Punto de muestreo	Posible presencia de taxones						Total
		Sin Clasificación		Si		No		
		F*	%	F*	%	F*	%	
Avenida	RMillo	6	35.3%	4	23.5%	7	41.2%	17
	RAnta	6	18.8%	7	21.9%	19	59.4%	32
	RTocc	11	29.7%	6	16.2%	20	54.1%	37
	EPgra01	7	30.4%	1	4.3%	15	65.2%	23
	EPgra02	2	11.1%	2	11.1%	14	77.8%	18
	EPgra03	4	25%	2	12.5%	10	62.5%	16

	EPgra04	4	16%	0	0%	21	84%	25
	EPgra05	2	28.6%	0	0%	5	71.4%	7
	Bocatoma	5	25%	2	10%	13	65%	20
	Naciente	13	23.2%	8	14.3%	35	62.5%	56
Total		60	23.9%	32	12.7%	159	63.3%	251

Nota: *Frecuencia. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

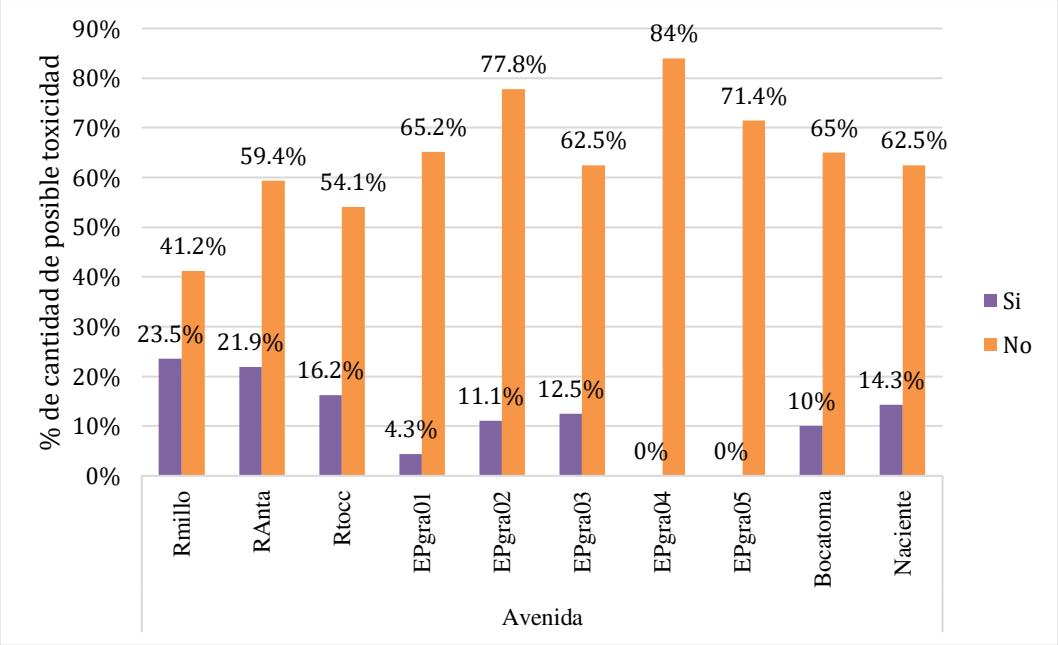
Tabla 16. *Posible* p*resencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida.*

Punto de muestreo	**F***	**Abundancia o número de secuencias**	**Familia**	**Especie**
RMillo	4	10	*Cyanobiaceae*	*Cyanobium sp. PCC-6307*
		2	*Microcystaceae*	*SU2_symbiont_group_sp.*
		3	*Leptolyngbyaceae*	*Phormidium sp. SAG_37.90_*
		8	*Nostocaceae*	*Aphanizomenon_sp._NIES81*
RAnta	7	14	*Nostocaceae*	*Scytonema_sp._UTEX_2349*
		9	*Nostocaceae*	*unclassified_Nostoc_PCC-73102*
		16	*Cyanobiaceae*	*Cyanobium_sp._PCC-6307*
		5	*Cyanobiaceae*	*Cyanobium_sp._PCC-6307*
		2	*Nostocaceae*	*unclassified_Nodularia_PCC-9350*
		3	*Nostocaceae*	*Calothrix_sp._PCC-6303*
		1	*Microcystaceae*	*Snowella_sp._0TU37S04*
RTocc	6	3	*Phormidiaceae*	*unclassified_Phormidiaceae*
		3	*Nostocaceae*	*unclassified_Nostocaceae*
		2	*Leptolyngbyaceae*	*Phormidium_sp._CYN64*
		2	*Phormidiaceae*	*unclassified_Phormidiaceae*
		2	*Phormidiaceae*	*unclassified_Phormidiaceae*
		3	*Nostocaceae*	*unclassified_Nostocaceae*
EPgra01	1	2	*Nostocaceae*	*Scytonema_UTEX_2349_sp.*
EPgra02	2	1	*Nostocaceae*	*Scytonema_UTEX_2349_sp.*
		2	*Microcystaceae*	*unclassified_Microcystaceae*
EPgra03	2	1	*Nostocaceae*	*Scytonema_UTEX_2349_sp.*
		3	*Nostocaceae*	*unclassified_Nostocaceae*
Bocatoma	2	2	*Nostocaceae*	*Scytonema_UTEX_2349_sp.*
		1	*norank_SepB-3*	*SepB-3_sp.*
Naciente		29	*Nostocaceae*	*Scytonema_sp._UTEX_2349*
		6	*Pseudanabaenaceae*	*Pseudanabaenaceae_sp.*

3	*Phormidiaceae*	*unclassified_Phormidiaceae*
3	*Nostocaceae*	*unclassified_Nostocaceae*
2	*Leptolyngbyaceae*	*Phormidium_sp._CYN64*
2	*Phormidiaceae*	*unclassified_Phormidiaceae*
2	*Phormidiaceae*	*unclassified_Phormidiaceae*
2	*Phormidiaceae*	*unclassified_Phormidiaceae*

Nota: *Frecuencia. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Figura 36. *Posible presencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida*



Nota: Época de avenida. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

La Tabla 15 detalla la distribución de los puntos de muestreo en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante la época de avenida, enfocándose en la posible producción de cianotoxinas en tres categorías: sin clasificación, los taxones que posiblemente producen cianotoxinas ("Sí") y los taxones que posiblemente no producen cianotoxinas, con sus respectivos porcentajes y frecuencias.

En el punto de muestreo RMillo, de las muestras analizadas, el 35.3% está sin clasificación, el 23.5% posiblemente produce cianotoxinas y el 41.2% se clasifica sin cianotoxina. Esta distribución refleja una baja incidencia de posible

producción de cianotoxinas en este punto específico. En RAnta, los resultados muestran un 18.8% de muestras sin clasificación, un 21.9% con posible producción de cianotoxinas y un 59.4% sin cianotoxina. Este patrón sugiere un ambiente menos propenso a la posible toxicidad en este punto de muestreo.

Para RTocc, el 29.7% de las muestras está sin clasificación, el 16.2% posiblemente produce cianotoxinas y el 54.1% se clasifica sin cianotoxina, manteniendo una tendencia de posible baja incidencia de cianotoxinas.

En los puntos EPgra01 a EPgra05, se observa una distribución similar. En EPgra01, el 30.4% de las muestras está sin clasificación, el 4.3% posiblemente produce cianotoxinas y el 65.2% sin cianotoxina. En EPgra02, se registró un 11.1% sin clasificación, un 11.1% en la categoría de posible producción de cianotoxinas y un 77.8% sin cianotoxina. EPgra03 y EPgra04 muestran una proporción mayoritaria en la categoría sin cianotoxina, siendo EPgra04 el punto con el porcentaje más alto en esta clasificación (84%). En EPgra05, el 28.6% de las muestras está sin clasificación y el 71.4% se clasifica sin cianotoxina.

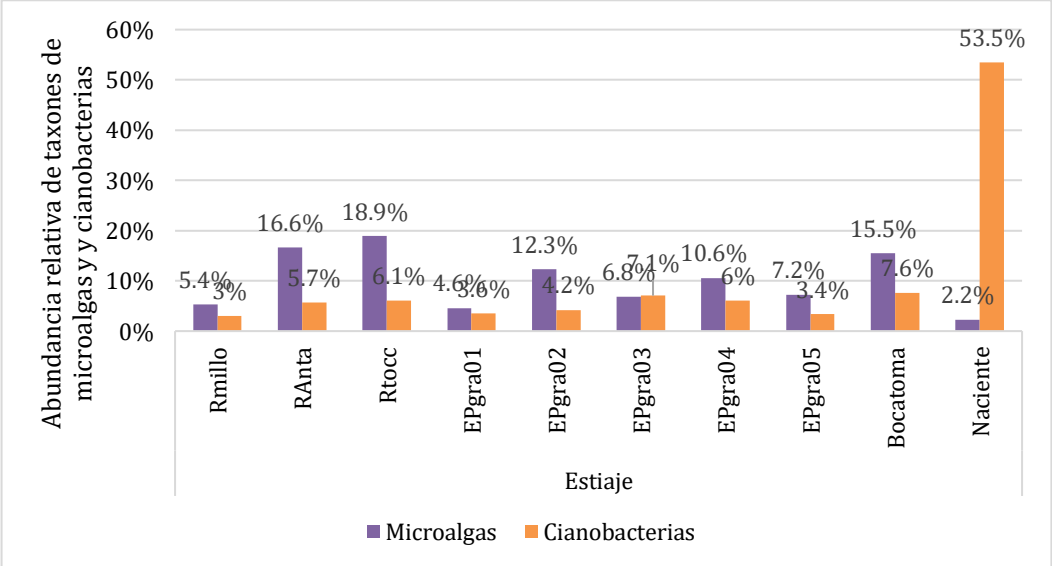
En los puntos de muestreo Bocatoma y Naciente, el patrón muestra una prevalencia de muestras sin cianotoxina. En Bocatoma, el 25% está sin clasificación, el 10% posiblemente produce cianotoxinas y el 65% se clasifica sin cianotoxina. Naciente presenta un 23.2% sin clasificación, un 14.3% con posible producción de cianotoxinas y un 62.5% sin cianotoxina. Estos resultados sugieren que, durante la época de avenida, la mayoría de los puntos de muestreo exhiben posibles condiciones de baja toxicidad en relación con la posible producción de cianotoxinas, con una notable cantidad de muestras clasificadas sin cianotoxina en los diferentes puntos evaluados.

Tabla 17. *Abundancia relativa* de microalgas frente a presencia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje*

Época	Punto de muestreo	Microalgas		Cianobacterias		Total
		N*	%	N*	%	
Estiaje	RMillo	17789	5.4%	1744	3.0%	19533
	RAnta	55052	16.6%	3328	5.7%	58380
	RTocc	62667	18.9%	3565	6.1%	66232
	EPgra01	15228	4.6%	2081	3.6%	17309
	EPgra02	40776	12.3%	2444	4.2%	43220
	EPgra03	22558	6.8%	4127	7.1%	26685
	EPgra04	35078	10.6%	3538	6.0%	38616
	EPgra05	24006	7.2%	1961	3.4%	25967
	Bocatoma	51385	15.5%	4430	7.6%	55815
	Naciente	7373	2.2%	31307	53.5%	38680
Total		331912	100%	58525	100%	390437

Nota: *Criterio basado según el número de secuencias genéticas. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Figura 37. *Abundancia relativa* de microalgas frente a presencia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje*



Nota: *Criterio basado según el número de secuencias genéticas. Época de estiaje. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse

Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

La Tabla 17 muestra la abundancia relativa de microalgas y cianobacterias en los puntos de muestreo del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante la época de estiaje, con valores expresados en número de secuencias (N) y porcentajes (%) sobre el total de cada categoría. En el punto de muestreo RMillo, se registraron 17789 números de secuencias de microalgas (5.4% del total de microalgas) y 1744 números de secuencias de cianobacterias (3% del total de cianobacterias). Estos valores indican una menor presencia de cianobacterias en comparación con las microalgas en este punto. RAnta presenta una abundancia de 55052 números de secuencias de microalgas (16.6%) y 3328 números de secuencias de cianobacterias (5.7%), mostrando una alta concentración de microalgas con una proporción moderada de cianobacterias.

En RTocc, se observan 62667 números de secuencias de microalgas (18.9%) y 3565 números de secuencias de cianobacterias (6.1%), lo cual representa uno de los valores más altos de microalgas, con una significativa presencia de cianobacterias. Para EPgra01, se identificaron 15228 números de secuencias de microalgas (4.6%) y 2,081 números de secuencias de cianobacterias (3.6%), reflejando una proporción baja en ambas categorías en comparación con otros puntos de muestreo. Los puntos EPgra02 y EPgra03 muestran diferencias en las proporciones de cada categoría. EPgra02 cuenta con 40776 números de secuencias de microalgas (12.3%) y 2444 números de secuencias de cianobacterias (4.2%), mientras que en EPgra03, se registraron 22558 números de secuencias de microalgas (6.8%) y 4127 números de secuencias de cianobacterias (7.1%), destacando una mayor concentración relativa de cianobacterias en este último.

En EPgra04, se identificaron 35078 números de secuencias de microalgas (10.6%) y 3538 números de secuencias de cianobacterias (6.0%), mientras que EPgra05 presentó 24006 números de secuencias de microalgas (7.2%) y 1961 números de secuencias de cianobacterias (3.4%), lo cual muestra una distribución equilibrada entre los dos tipos de organismos en ambos puntos. El punto de muestreo Bocatoma tiene una alta concentración de microalgas, con 51385 números de secuencias de microalgas (15.5%), y una proporción significativa de

cianobacterias, con 4430 números de secuencias de cianobacterias (7.6%), evidenciando una alta biodiversidad en este sitio durante la época de estiaje.

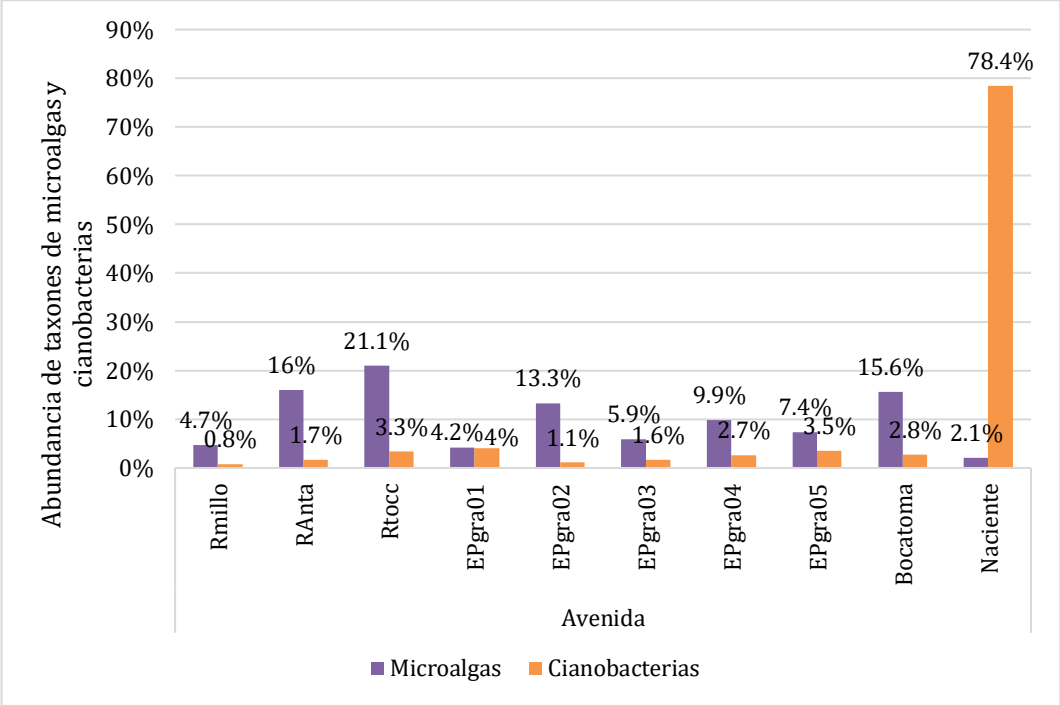
Finalmente, el punto de Naciente destaca con una baja cantidad de microalgas (7373 representando el 2.2%), pero con una notable concentración de cianobacterias, alcanzando 31307 números de secuencias (53.5%). Este punto se caracteriza por una elevada abundancia de cianobacterias en comparación con las microalgas, lo que lo diferencia marcadamente de los demás puntos de muestreo.

Tabla 18. *Abundancia relativa* de microalgas frente a presencia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida*

Época	Punto de muestreo	Microalgas		Cianobacterias		Total
		N*	%	N*	%	
Avenida	RMillo	13487	4.7%	357	0.8%	13844
	RAnta	46263	16%	743	1.7%	47006
	RTocc	60960	21.1%	1461	3.3%	62421
	EPgra01	12065	4.2%	1765	4%	13830
	EPgra02	38452	13.3%	480	1.1%	38932
	EPgra03	17221	5.9%	715	1.6%	17936
	EPgra04	28644	9.9%	1161	2.7%	29805
	EPgra05	21420	7.4%	1529	3.5%	22949
	Bocatoma	45091	15.6%	1217	2.8%	46308
	Naciente	5967	2.1%	34287	78.4%	40254
Total		289570	100%	43715	100%	333285

Nota: *Criterio basado según el número de secuencias genéticas. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Figura 38. *Abundancia relativa* de microalgas frente a presencia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida*



Nota: *Criterio basado según el número de secuencias genéticas. Época de avenida. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

La Tabla 18 muestra la abundancia relativa de microalgas y cianobacterias en los puntos de muestreo del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante la época de avenida. Los valores están expresados en número de secuencias (N) y porcentajes (%) sobre el total de organismos identificados en cada categoría (microalgas y cianobacterias). En el punto de muestreo RMillo, se registraron 13487 números de secuencias de microalgas, representando el 4.7% del total de microalgas, y 357 números de secuencias de cianobacterias, un 0.8% del total de cianobacterias. Esto sugiere una baja presencia de cianobacterias en comparación con microalgas.

En RAnta, se identificaron 46263 números de secuencias de microalgas, lo que equivale al 16% del total de microalgas, junto con 743 números de secuencias de cianobacterias, representando el 1.7% de las cianobacterias. Este punto muestra una mayor abundancia relativa de microalgas. Para RTocc, con 60960 números de

secuencias de microalgas (21.1%) y 1461 números de secuencias de cianobacterias (3.3%), se observa una alta concentración de microalgas y una moderada presencia de cianobacterias en relación con otros puntos de muestreo.

En EPgra01, se contabilizaron 12065 números de secuencias de microalgas (4.2%) y 1765 números de secuencias de cianobacterias (4%). La presencia de cianobacterias en este punto es relativamente alta en comparación con el porcentaje general. EPgra02 y EPgra03 presentan una menor concentración de cianobacterias. En EPgra02, se encontraron 38452 números de secuencias de microalgas (13.3%) y 480 números de secuencias de cianobacterias (1.1%), mientras que en EPgra03 se registraron 17,221 números de secuencias de microalgas (5.9%) y 715 números de secuencias de cianobacterias (1.6%). En EPgra04 y EPgra05, la proporción de cianobacterias es más elevada. EPgra04 tiene 28644 números de secuencias de microalgas (9.9%) y 1161 números de secuencias de cianobacterias (2.7%), mientras que EPgra05 registra 21420 números de secuencias de microalgas (7.4%) y 1529 números de secuencias de cianobacterias (3.5%).

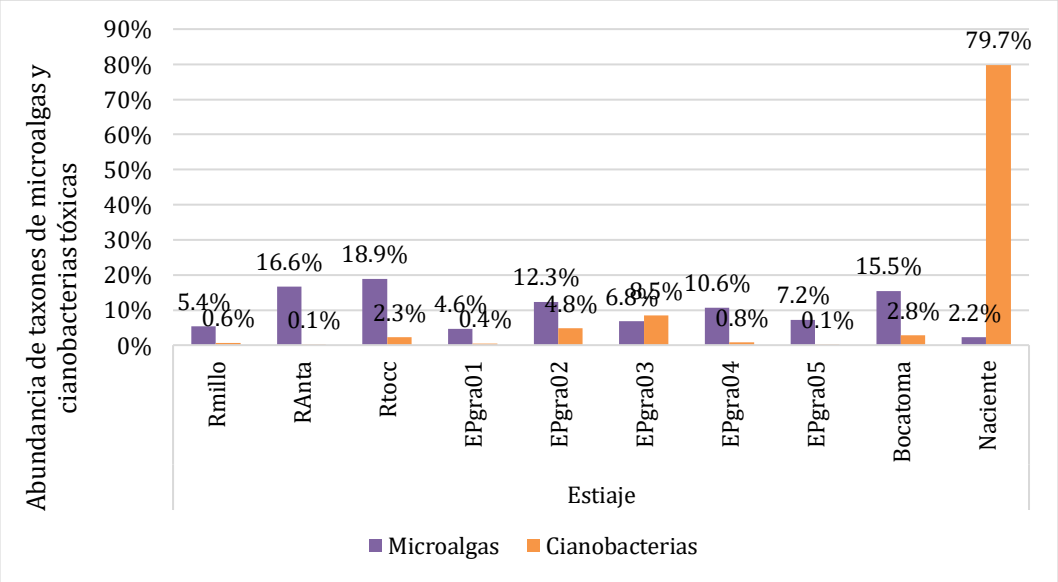
El punto de Bocatoma presenta 45091 números de secuencias de microalgas (15.6%) y 1217 números de secuencias de cianobacterias (2.8%), destacándose por su alta abundancia de taxones de microalgas. En contraste, en el punto de Naciente, hay una concentración notable de cianobacterias, con 34287 números de secuencias de organismos (78.4%), frente a solo 5967 números de secuencias de microalgas (2.1%). El total de organismos identificados durante la época de avenida, las microalgas representan una mayor proporción en la mayoría de los puntos de muestreo, mientras que las cianobacterias son particularmente abundantes en el punto Naciente, representando una excepción significativa respecto a los demás puntos.

Tabla 19. *Diversidad filogenética de microalgas y posible presencia* de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje*

Época	Punto de muestreo	Microalgas		Cianobacterias		Total
		N*	%	N*	%	
Estiaje	RMillo	17789	5.4%	17	0.6%	17806
	RAnta	55052	16.6%	3	0.1%	55055
	RTocc	62667	18.9%	66	2.3%	62733
	EPgra01	15228	4.6%	12	0.4%	15240
	EPgra02	40776	12.3%	139	4.8%	40915
	EPgra03	22558	6.8%	246	8.5%	22804
	EPgra04	35078	10.6%	22	0.8%	35100
	EPgra05	24006	7.2%	3	0.1%	24009
	Bocatoma	51385	15.5%	81	2.8%	51466
	Naciente	7373	2.2%	2316	79.7%	9689
Total		331912	100%	2905	100%	334817

Nota: *Criterio basado según el número de secuencias genéticas. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Figura 39. *Diversidad filogenética de microalgas y posible presencia* de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje*



Nota: *Criterio basado según el número de secuencias genéticas. Época de estiaje. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

La Tabla 19 muestra la abundancia relativa de taxones de microalgas y cianobacterias tóxicas en los puntos de muestreo del embalse Pasto Grande durante la época de estiaje, con valores expresados en número de secuencias (N) y porcentajes (%) sobre el total de cada categoría. En el punto de muestreo RMillo, se registraron 17789 números de secuencias de microalgas (5.4% del total de microalgas) y 17 cianobacterias tóxicas (0.6% del total de cianobacterias tóxicas), reflejando una baja proporción de cianobacterias tóxicas frente a las microalgas. En RAnta, la abundancia de taxones de microalgas asciende a 55052 (16.6%), mientras que las cianobacterias tóxicas son muy pocas, con apenas 3 números de secuencias (0.1%).

En RTocc, se observaron 62667 números de secuencias de microalgas (18.9%) y 66 números de secuencias de cianobacterias tóxicas (2.3%), lo que lo posiciona como uno de los puntos con mayor abundancia de taxones de microalgas y una proporción moderada de cianobacterias tóxicas. En EPgra01, se registraron 15228 números de secuencias de microalgas (4.6%) y 12 números de secuencias de cianobacterias tóxicas (0.4%), mostrando una baja abundancia en ambas categorías. Los puntos EPgra02 y EPgra03 presentan una mayor proporción de cianobacterias tóxicas. En EPgra02, se reportaron 40776 números de secuencias de microalgas (12.3%) y 139 números de secuencias de cianobacterias tóxicas (4.8%), mientras que en EPgra03, la abundancia de taxones de microalgas fue de 22558 (6.8%) y las cianobacterias tóxicas alcanzaron 246 números de secuencias (8.5%), representando una de las proporciones más altas de cianobacterias tóxicas en comparación con otros puntos.

En EPgra04, se identificaron 35078 números de secuencias de microalgas (10.6%) y 22 números de secuencias de cianobacterias tóxicas (0.8%), mientras que en EPgra05, hubo 24006 números de secuencias de microalgas (7.2%) y solo 3 números de secuencias de cianobacterias tóxicas (0.1%). En Bocatoma, la abundancia de taxones de microalgas fue de 51385 (15.5%) y las cianobacterias tóxicas sumaron 81 números de secuencias (2.8%), indicando una biodiversidad moderada en este punto.

Finalmente, en Naciente, se registraron 7373 números de secuencias de microalgas (2.2%) y una notable abundancia de 2316 números de secuencias de

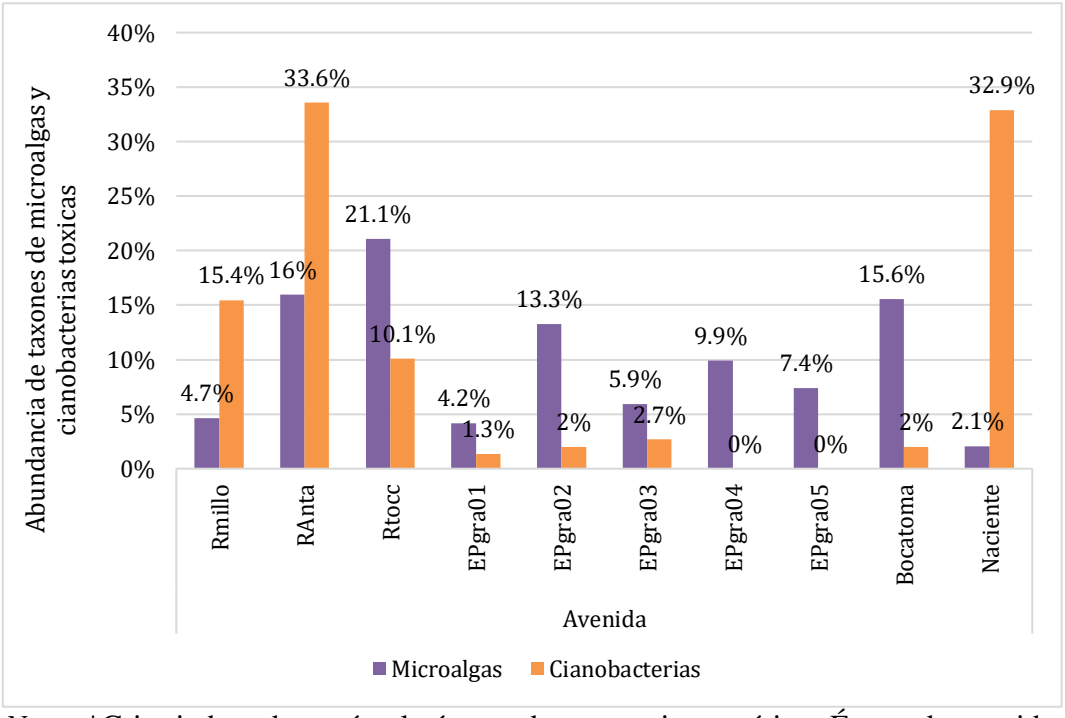
cianobacterias tóxicas (79.7%), lo que lo convierte en el punto con mayor proporción de cianobacterias tóxicas, diferenciándolo significativamente de los demás puntos de muestreo. Durante la época de estiaje, las microalgas predominan en todos los puntos de muestreo, mientras que las cianobacterias tóxicas presentan concentraciones más altas en EPgra02, EPgra03, y especialmente en Naciente, que se destaca como un punto crítico para el monitoreo ambiental y la evaluación de riesgos.

Tabla 20. *Diversidad filogenética de microalgas y posible presencia* de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida*

Época	Punto de muestreo	Microalgas		Cianobacterias		Total
		N*	%	N*	%	
Avenida	RMillo	13487	4.7%	23	15.4%	13510
	RAnta	46263	16%	50	33.6%	46313
	RTocc	60960	21.1%	15	10.1%	60975
	EPgra01	12065	4.2%	2	1.3%	12067
	EPgra02	38452	13.3%	3	2%	38455
	EPgra03	17221	5.9%	4	2.7%	17225
	EPgra04	28644	9.9%	0	0%	28644
	EPgra05	21420	7.4%	0	0%	21420
	Bocatoma	45091	15.6%	3	2.0%	45094
	Naciente	5967	2.1%	49	32.9%	6016
Total		289570	100%	149	100%	289719

Nota: *Criterio basado según el número de secuencias genéticas. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Figura 40. *Diversidad filogenética de microalgas y posible presencia* de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida*



Nota: *Criterio basado según el número de secuencias genéticas Época de avenida. RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

La Tabla 20 muestra la abundancia relativa de microalgas y cianobacterias tóxicas en los puntos de muestreo. En el punto de muestreo RMillo, se registraron 13487 números de secuencia de microalgas (4.7% del total de microalgas) y 23 números de secuencia de cianobacterias tóxicas (15.4% del total de cianobacterias tóxicas). Estos valores reflejan una predominancia de microalgas en comparación con las cianobacterias tóxicas en este punto. En RAnta, se observaron 46263 números de secuencia de microalgas (16%) y 50 números de secuencia de cianobacterias tóxicas (33.6%), lo que indica una alta concentración de microalgas y una proporción significativa de cianobacterias tóxicas.

En RTocc, se reportaron 60960 números de secuencia de microalgas (21.1%) y 15 números de secuencia de cianobacterias tóxicas (10.1%), representando uno de los valores más altos en abundancia de taxones de microalgas con una presencia moderada de cianobacterias tóxicas. En EPgra01, se identificaron

12065 números de secuencia de microalgas (4.2%) y 2 números de secuencia de cianobacterias tóxicas (1.3%), reflejando una baja abundancia en ambas categorías.

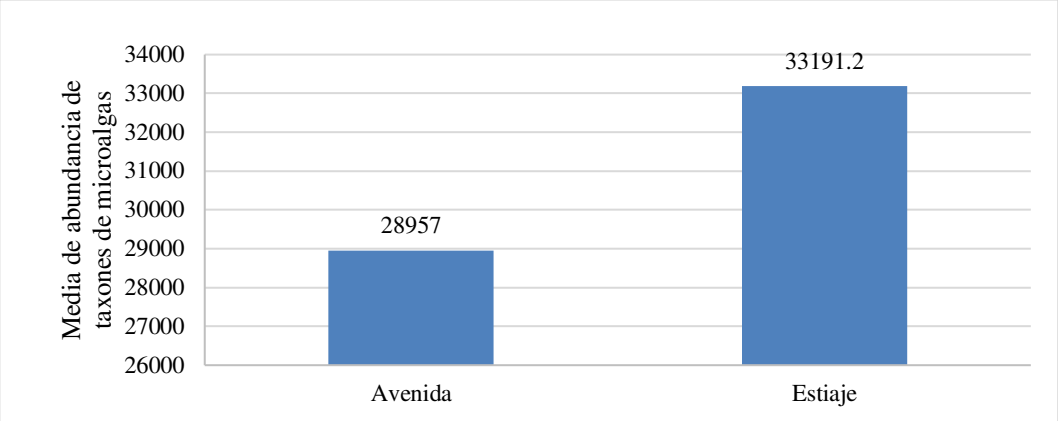
Los puntos EPgra02 y EPgra03 presentan diferencias en las proporciones. En EPgra02, se registraron 38452 números de secuencia de microalgas (13.3%) y 3 números de secuencia de cianobacterias tóxicas (2.0%), mientras que en EPgra03 se identificaron 17221 números de secuencia de microalgas (5.9%) y 4 números de secuencia de cianobacterias tóxicas (2.7%), lo que sugiere una mayor proporción de cianobacterias tóxicas en este último punto. En EPgra04 y EPgra05, no se detectaron cianobacterias tóxicas, aunque las microalgas presentaron abundancias de 28644 (9.9%) y 21420 (7.4%), respectivamente.

En Bocatoma, se registraron 45091 números de secuencia de microalgas (15.6%) y 3 números de secuencia de cianobacterias tóxicas (2%), mostrando una alta abundancia de taxones de microalgas y una baja proporción de cianobacterias tóxicas. Finalmente, en Naciente, se identificaron 5967 números de secuencia de microalgas (2.1%) y 49 números de secuencia de cianobacterias tóxicas (32.9%), caracterizándose por una elevada concentración de cianobacterias tóxicas en comparación con las microalgas, lo que lo distingue de los demás puntos de muestreo. La distribución de microalgas y cianobacterias tóxicas en el embalse es heterogénea, con predominancia de microalgas en la mayoría de los puntos, pero con concentraciones relativas más altas de cianobacterias tóxicas en sitios como RAnta y Naciente, que podrían representar áreas críticas para el monitoreo ambiental.

Tabla 21. *Análisis descriptivo de abundancia de taxones de microalgas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*

Abundancia Microalgas	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% de intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Avenida	10	28957	18018.48	5697.94	16067.36	41846.64	5967	60960
Estiaje	10	33191.2	18746.07	5928.03	19781.07	46601.33	7373	62667
Total	20	31074.1	18026.84	4030.92	22637.28	39510.92	5967	62667

Figura 41. *Abundancia de taxones de microalgas* del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



Nota: *Criterio basado según el número de secuencias genéticas.

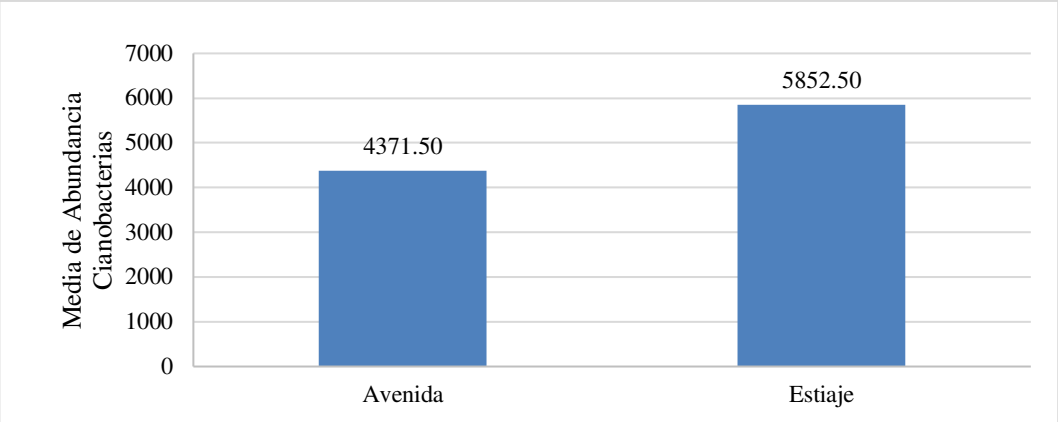
La Tabla 21 muestra un análisis descriptivo de la abundancia de taxones de microalgas en el embalse Pasto Grande durante las épocas de avenida y estiaje. La abundancia promedio de microalgas es mayor en estiaje, con 33191.2 secuencias de microalgas, en comparación con 28957 secuencias de microalgas en avenida. La desviación estándar es alta en ambas épocas (18018.48 en avenida y 18746.07 en estiaje), lo que indica una variabilidad considerable en la abundancia de taxones de microalgas. Los valores oscilan entre un mínimo de 5967 y un máximo de 60960 en avenida, y de 7373 a 62667 en estiaje. Esto sugiere que la abundancia de taxones de microalgas puede ser ligeramente mayor durante el estiaje, aunque con una variabilidad considerable.

El intervalo de confianza del 95% para la media en avenida se encuentra entre 16067.36 y 41846.64, mientras que en estiaje está entre 19781.07 y 46601.33, lo cual refuerza la observación de una mayor abundancia en estiaje.

Tabla 22. *Análisis descriptivo de abundancia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida.*

Abundancia Cianobacterias	**N**	**Media**	**Desviación estándar**	**Error estándar**	**95% de intervalo de confianza para la media**		**Mínimo**	**Máximo**
					Límite inferior	**Límite superior**		
Avenida	10	4371.5	10521.6	3327.22	-3155.2	11898.20	357	34287
Estiaje	10	5852.5	8992.35	2843.63	-580.24	12285.24	1744	31307
Total	20	5112	9556.1	2136.81	639.61	9584.39	357	34287

Figura 42. *Abundancia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida.*



La Tabla 22 presenta un análisis descriptivo de la abundancia de cianobacterias en el embalse Pasto Grande durante las épocas de avenida y estiaje. En promedio, la abundancia de cianobacterias es mayor en estiaje, con una media de 5852.50 secuencias, en comparación con 4371.50 secuencias de cianobacterias en avenida. Sin embargo, la desviación estándar es alta en ambas épocas (10521.60 en avenida y 8992.35 en estiaje), lo que indica una gran variabilidad en la abundancia de cianobacterias. Los valores de abundancia van desde un mínimo de 357 secuencias en avenida y 1744 en estiaje hasta un máximo de 34287 en avenida y 31307 en estiaje.

El intervalo de confianza del 95% para la media de abundancia de cianobacterias en avenida es de -3155.20 a 11898.20, y en estiaje es de -580.24 a 12285.24. Estos intervalos amplios reflejan la alta variabilidad y el solapamiento en los valores de ambas épocas, sugiriendo que, aunque hay un promedio mayor en estiaje, la diferencia no es consistente.

4.1.2. Comparación de las concentraciones de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios con los Estándares de Calidad Ambiental durante las épocas de estiaje y avenida utilizando el Metalyser Field Pro HM3000

Tabla 23. *Concentración de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de estiaje*

Punto de muestreo	Concentración de Metales pesados - Estiaje mg/L									
	Arsénico Total	**Cadmio**	**Cobre**	**Cromo (VI)**	**Mercurio**	**Níquel**	**Plomo**	**Selenio**	**Talio**	**Zinc**
RMillo	0.0376	0.0036	0.0060	<LI	0.0016	<LI	0.0043	<LI	0.0013	0.3527
RAnta	0.0090	0.0046	0.2918	<LI	0.0855	<LI	0.0013	<LI	0.0021	0.3820
RPata	0.4623	0.0447	0.1166	<LI	0.0863	<LI	0.0060	0.0399	0.0249	1.6248
RTocc	0.0210	0.0006	0.0396	<LI	0.00008	<LI	0.0008	<LI	0.0004	0.0049
EPgra01	0.0079	0.0043	0.0280	<LI	0.0082	<LI	0.0076	<LI	0.0209	0.2215
EPgra02	0.0150	0.0029	0.0248	<LI	0.0131	<LI	0.0033	<LI	<LI	0.2547
EPgra03	0.0141	0.0093	0.0064	<LI	0.0291	<LI	0.0003	0.0058	0.0010	0.0061
EPgra04	0.0042	<LI	0.0002	<LI	0.00025	<LI	0.0002	<LI	<LI	0.0047
EPgra05	0.0019	0.0011	0.0221	<LI	0.0174	<LI	0.0022	<LI	0.0045	0.0973
Bocatoma	0.0060	0.0146	0.0078	<LI	0.0009	<LI	0.0008	<LI	0.0088	0.5527
Naciente	0.0049	0.0006	0.0084	<LI	0.0016	<LI	0.0011	<LI	<LI	0.0045

Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

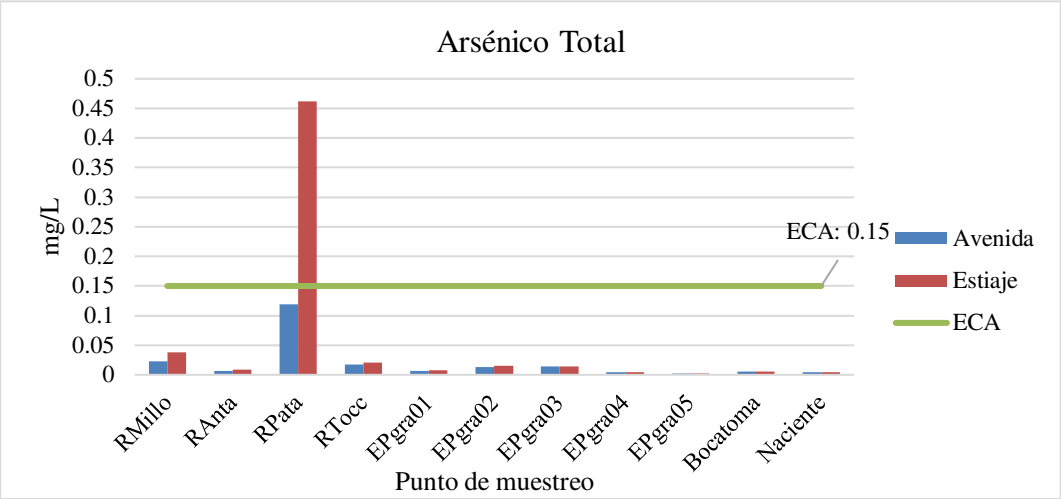
Tabla 24. *Concentración de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en época de avenida*

Punto de muestreo	Concentración de Metales pesados - Avenida mg/L									
	Arsénico Total	**Cadmio**	**Cobre**	**Cromo (VI)**	**Mercurio**	**Níquel**	**Plomo**	**Selenio**	**Talio**	**Zinc**
RMillo	0.0227	0.0002	0.0023	<LI	0.0002	<LI	0.0012	<LI	0.0003	0.1255
RAnta	0.0061	0.0011	0.1817	<LI	0.0727	<LI	0.0006	<LI	0.0018	0.3021
RPata	0.1196	0.0192	0.0981	<LI	0.0288	<LI	0.0042	0.0303	0.0249	1.3291
RTocc	0.0178	<LI	0.0312	<LI	0.00005	<LI	0.0003	<LI	0.0002	0.0056
EPgra01	0.0068	0.0049	0.0247	<LI	0.0087	<LI	0.0047	<LI	0.0239	0.2110
EPgra02	0.0135	0.0026	0.0248	<LI	0.0118	<LI	0.0036	<LI	<LI	0.2398
EPgra03	0.0139	<LI	<LI	<LI	0.0242	<LI	<LI	<LI	<LI	0.0054
EPgra04	0.0039	<LI	<LI	<LI	0.00008	<LI	0.0002	<LI	<LI	0.0043
EPgra05	0.0021	0.0028	0.0582	<LI	0.0219	<LI	0.0042	<LI	0.0130	0.1946
Bocatoma	0.0053	0.0156	0.0086	<LI	0.0011	<LI	0.0010	<LI	0.0096	0.6321
Naciente	0.0044	0.0004	0.0023	<LI	0.0010	<LI	0.0001	<LI	<LI	0.0047

Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

En la Tabla 23 y 24 se observa la comparación de las concentraciones de metales pesados en referencia al indicador de la Tabla 1 correspondiente a la variable independiente, se revela diferencias importantes en ambas épocas, en relación con los (ECA).

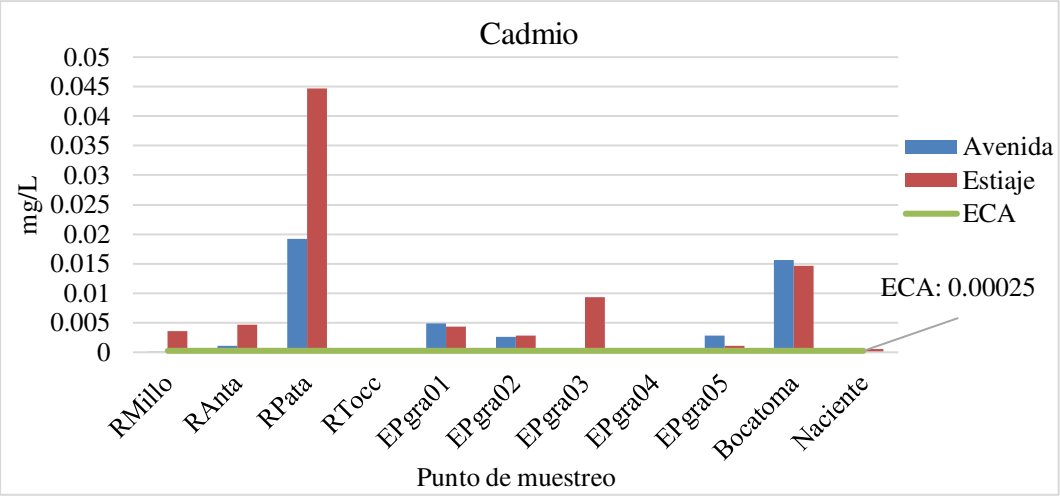
Figura 43. *Concentración de arsénico total en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA utilizando el Metalyser HM3000*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Para el arsénico, la mayoría de los puntos mantiene niveles por debajo del ECA en ambas épocas, excepto en RPata, donde en estiaje la concentración aumenta considerablemente, superando el límite permitido. Este patrón sugiere una acumulación mayor de arsénico en esta área durante la época seca.

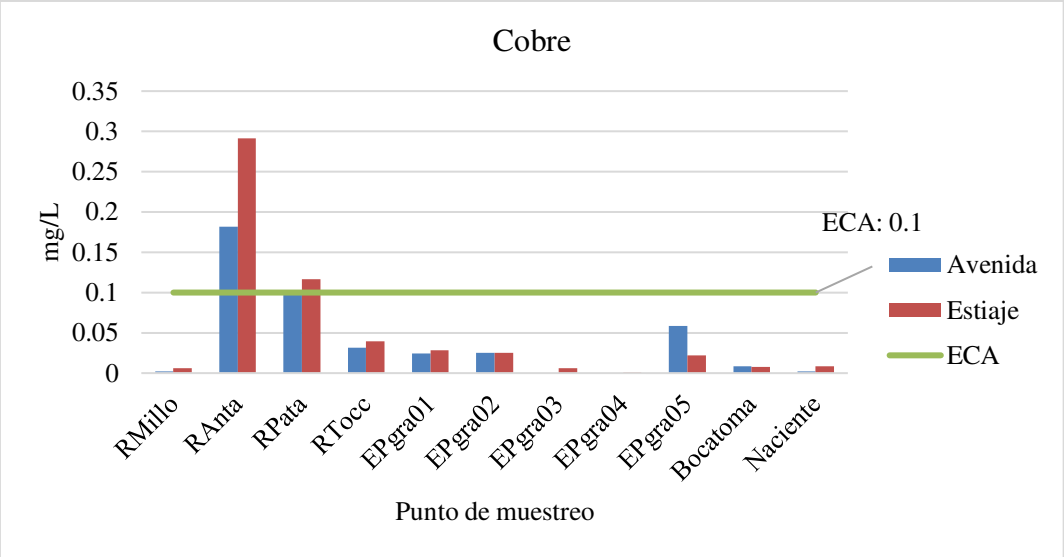
Figura 44. *Concentración de cadmio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

El cadmio muestra una tendencia de concentración por encima del ECA en varios puntos de muestreo, particularmente en RPata y RAnta, tanto en avenida como en estiaje, con niveles aún más altos en la época seca. Este incremento en estiaje, junto con la superación del límite en otros puntos como RMillo, indica una presencia persistente de cadmio que podría representar un riesgo ambiental significativo en estos lugares.

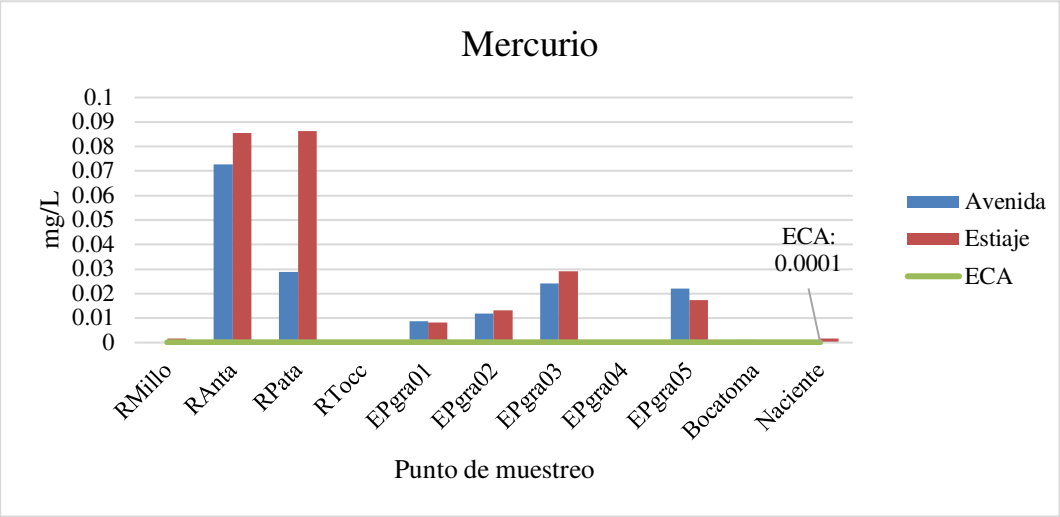
Figura 45. *Concentración de cobre en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Para el cobre, las concentraciones en RAnta son particularmente altas, superando el ECA en ambas épocas, mientras que en RPata solo en estiaje se observa un ligero aumento por encima del límite permitido. La mayoría de los otros puntos mantiene niveles bajos de cobre. Sin embargo, la concentración elevada en RAnta podría ser indicativa de una fuente de contaminación específica en esa área.

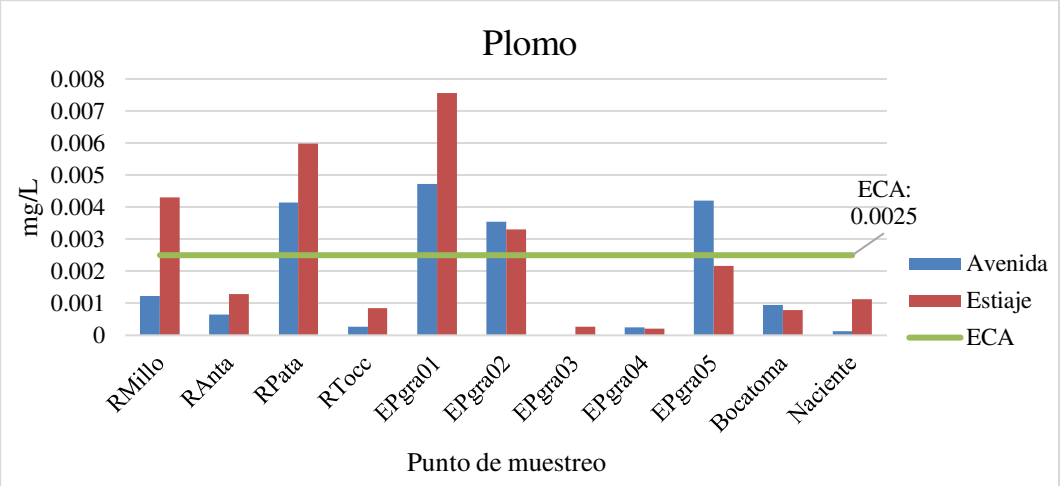
Figura 46. *Concentración de mercurio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

El mercurio es otro mcetal que excede ampliamente el ECA en casi todos los puntos de muestreo en ambas épocas. Las concentraciones de mercurio varían en avenida entre 0.00005 mg/L en RTocc y 0.07274 mg/L en RAnta, mientras que en estiaje oscilan entre 0.00008 mg/L en RTocc y 0.08631 mg/L en RPata. En ambos casos, RPata y RAnta muestran niveles elevados, superando el límite del ECA de 0.0001 mg/L.

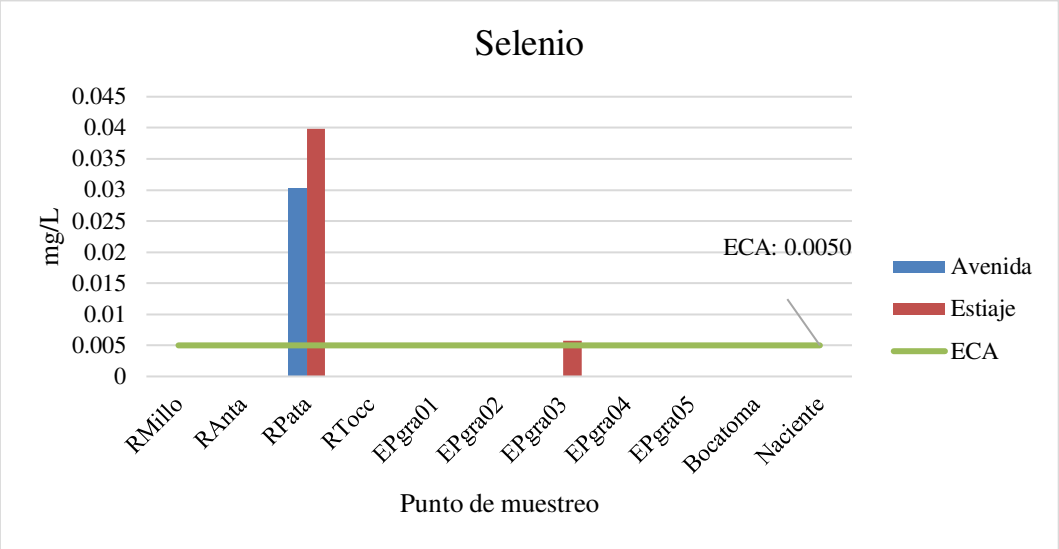
Figura 47. *Concentración de plomo en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

En cuanto al plomo, los niveles tienden a superar el ECA en RPata y RMillo durante la estiaje, mientras que en otros puntos, como RAnta, se mantienen bajos. Esta variación sugiere que el plomo es menos generalizado en comparación con otros metales, pero en áreas como RPata y RMillo su concentración es significativa en la época seca.

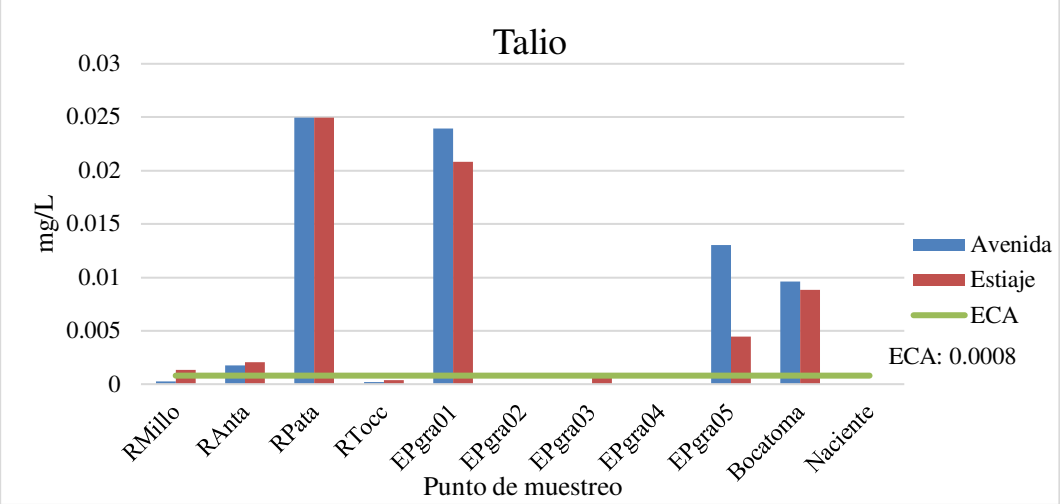
Figura 48. *Concentración de selenio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

El selenio presenta valores superiores al ECA en RPata en ambas épocas, indicando una posible contaminación crónica en estos puntos. Otros puntos mantienen niveles de selenio bajos o indetectables. Esto sugiere que la distribución de selenio está concentrada en ciertas áreas, con un impacto potencial sobre la calidad del agua en esos sitios específicos.

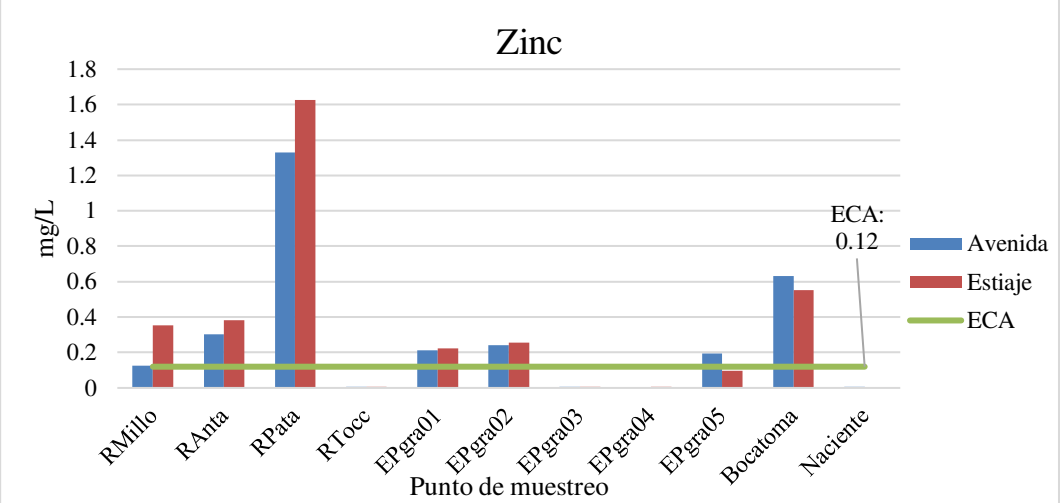
Figura 49. *Concentración de talio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Para el talio, RPata y EPgra01 muestran concentraciones elevadas en ambas épocas, superando los límites del ECA, así como también en EPgra05 y Bocatoma. En otros puntos, el talio es generalmente indetectable, lo que indica una distribución localizada y alta concentración en ciertos puntos de muestreo. Esto podría reflejar una fuente específica de talio en estos lugares.

Figura 50. *Concentración de zinc en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida frente al ECA*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Finalmente, el zinc tiene concentraciones elevadas en RPata, RAnta y RMillo en ambas épocas, muy por encima del ECA, especialmente en estiaje. La presencia sostenida de zinc en niveles altos sugiere una contaminación relevante y constante que afecta varias áreas de estudio, posiblemente intensificada por la reducción de caudal en la época seca.

Los metales como el cadmio, mercurio, plomo, talio, selenio y zinc muestran concentraciones elevadas en varios puntos de muestreo en ambas épocas, con incrementos significativos en estiaje. Los puntos RPata, RAnta y RMillo se destacan por presentar niveles consistentemente altos de múltiples metales, lo cual indica una posible fuente de contaminación persistente en estas áreas y plantea un riesgo potencial para la calidad del agua en el embalse y sus afluentes.

Los resultados muestran que algunos metales como el arsénico, cadmio, cobre, mercurio, selenio, talio y zinc exceden los límites establecidos por el ECA en puntos específicos, principalmente en RPata y RAnta, siendo más pronunciado durante la época de estiaje. Esto destaca la necesidad de un monitoreo continuo y medidas de mitigación en estas áreas para minimizar los riesgos ambientales y de salud pública.

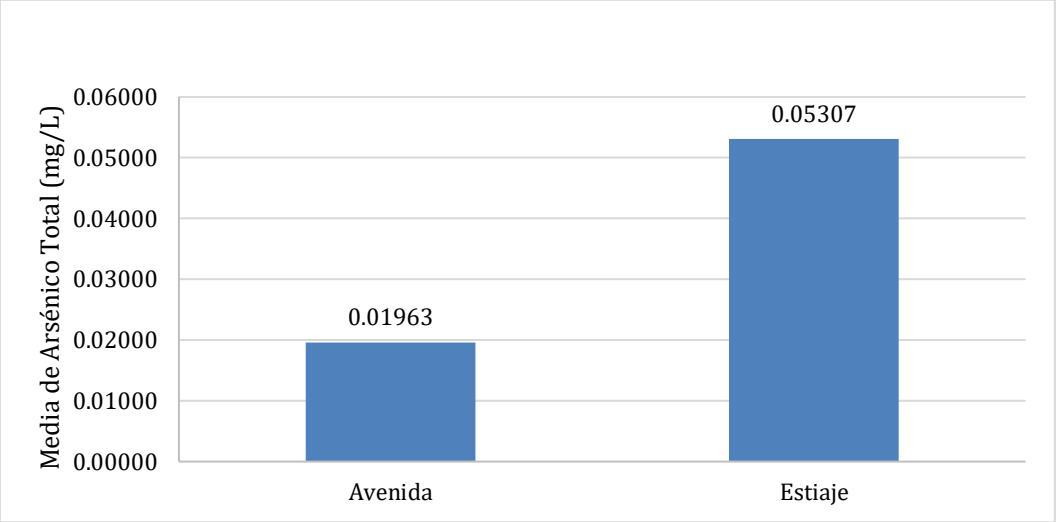
Tabla 25. *Análisis descriptivo de la concentración de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*

Descriptivos									
		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% de intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Arsénico Total (mg/L)	Avenida	11	0.020	0.034	0.010	-0.003	0.042	0.002	0.120
	Estiaje	11	0.053	0.136	0.041	-0.038	0.145	0.002	0.462
	Total	22	0.036	0.098	0.021	-0.007	0.080	0.002	0.462
Mercurio (mg/L)	Avenida	11	0.016	0.022	0.007	0.001	0.030	0.000	0.073
	Estiaje	11	0.022	0.033	0.010	0.000	0.044	0.000	0.086
	Total	22	0.019	0.027	0.006	0.007	0.031	0.000	0.086
Cadmio (mg/L)	Avenida	8	0.006	0.007	0.003	0.000	0.012	0.000	0.019
	Estiaje	10	0.009	0.013	0.004	-0.001	0.018	0.001	0.045
	Total	18	0.007	0.011	0.003	0.002	0.013	0.000	0.045
Plomo (mg/L)	Avenida	10	0.002	0.002	0.001	0.001	0.003	0.000	0.005
	Estiaje	11	0.003	0.002	0.001	0.001	0.004	0.000	0.008
	Total	21	0.002	0.002	0.000	0.001	0.003	0.000	0.008

Cobre (mg/L)	Avenida	9	0.048	0.059	0.020	0.003	0.093	0.002	0.182
	Estiaje	11	0.050	0.086	0.026	-0.008	0.108	0.000	0.292
	Total	20	0.049	0.073	0.016	0.015	0.084	0.000	0.292
Zinc (mg/L)	Avenida	11	0.278	0.396	0.119	0.012	0.543	0.004	1.329
	Estiaje	11	0.319	0.471	0.142	0.002	0.635	0.004	1.625
	Total	22	0.298	0.425	0.091	0.110	0.487	0.004	1.625
Manganeso (mg/L)	Avenida	10	0.251	0.309	0.098	0.030	0.472	0.001	0.863
	Estiaje	11	0.275	0.316	0.095	0.063	0.488	0.001	0.867
	Total	21	0.264	0.305	0.067	0.125	0.403	0.001	0.867
Cobalto (mg/L)	Avenida	2	0.008	0.009	0.007	-0.076	0.091	0.001	0.014
	Estiaje	3	0.006	0.007	0.004	-0.013	0.024	0.000	0.014
	Total	5	0.006	0.007	0.003	-0.002	0.015	0.000	0.014
Selenio (mg/L)	Avenida	1	0.030					0.030	0.030
	Estiaje	2	0.023	0.024	0.017	-0.194	0.240	0.006	0.040
	Total	3	0.025	0.018	0.010	-0.018	0.069	0.006	0.040
Talio (mg/L)	Avenida	7	0.011	0.011	0.004	0.001	0.020	0.000	0.025
	Estiaje	8	0.008	0.010	0.003	0.000	0.016	0.000	0.025
	Total	15	0.009	0.010	0.003	0.004	0.015	0.000	0.025
Oro (mg/L)	Avenida	4	0.026	0.012	0.006	0.008	0.045	0.012	0.040
	Estiaje	6	0.014	0.015	0.006	-0.001	0.030	0.001	0.031
	Total	10	0.019	0.014	0.005	0.009	0.029	0.001	0.040
Bismuto (mg/L)	Avenida	9	0.098	0.081	0.027	0.036	0.160	0.002	0.280
	Estiaje	9	0.145	0.166	0.055	0.017	0.273	0.001	0.551
	Total	18	0.122	0.129	0.030	0.058	0.186	0.001	0.551
Estaño (mg/L)	Avenida	3	0.530	0.307	0.177	-0.232	1.291	0.267	0.867
	Estiaje	3	0.470	0.370	0.214	-0.450	1.390	0.211	0.894
	Total	6	0.500	0.306	0.125	0.179	0.821	0.211	0.894

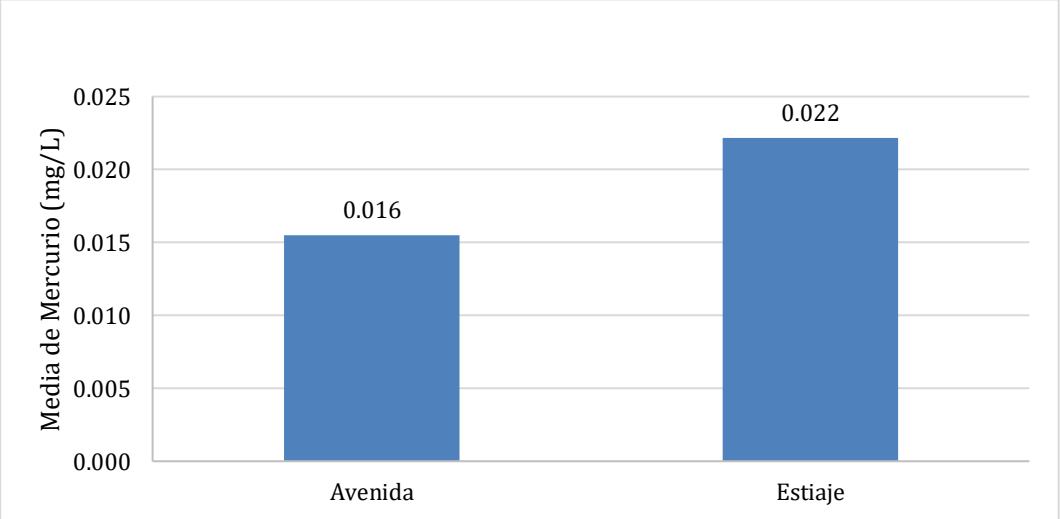
La Tabla 25 presenta los valores descriptivos de la concentración de varios metales pesados (arsénico, mercurio, cadmio, plomo, cobre, zinc, manganeso, cobalto, selenio, talio, oro, bismuto y estaño) en el embalse Pasto Grande durante las épocas de avenida y estiaje. Los datos incluyen estadísticas como la media, desviación estándar, error estándar, intervalo de confianza al 95%, y los valores mínimo y máximo para cada metal en ambas épocas, proporcionando una visión detallada de las variaciones en sus concentraciones.

Figura 51. *Concentración promedio de arsénico total en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida utilizando el Metalyser HM3000*



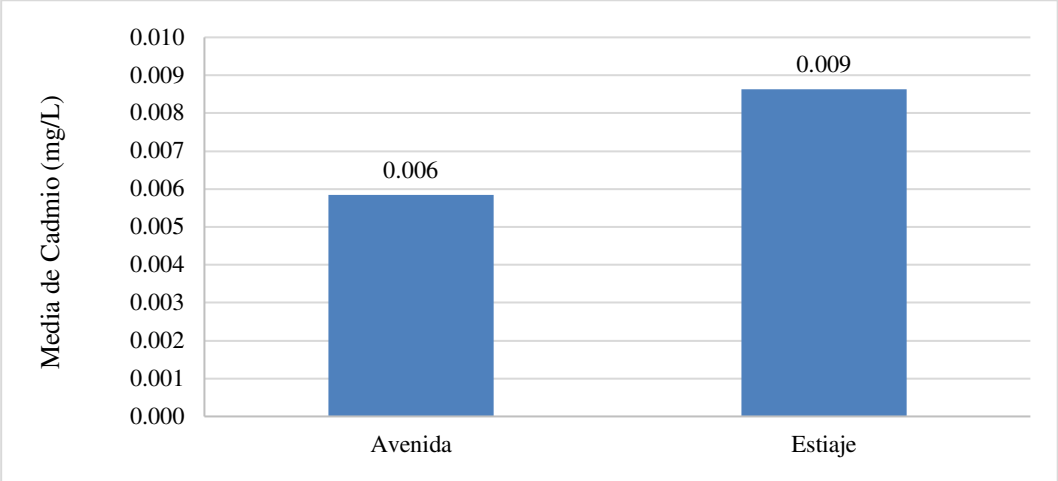
Para el arsénico total, la concentración promedio es de 0.02 mg/L en avenida y 0.05 mg/L en estiaje, con un rango de 0.00 a 0.46 mg/L.

Figura 52. *Concentración promedio de mercurio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



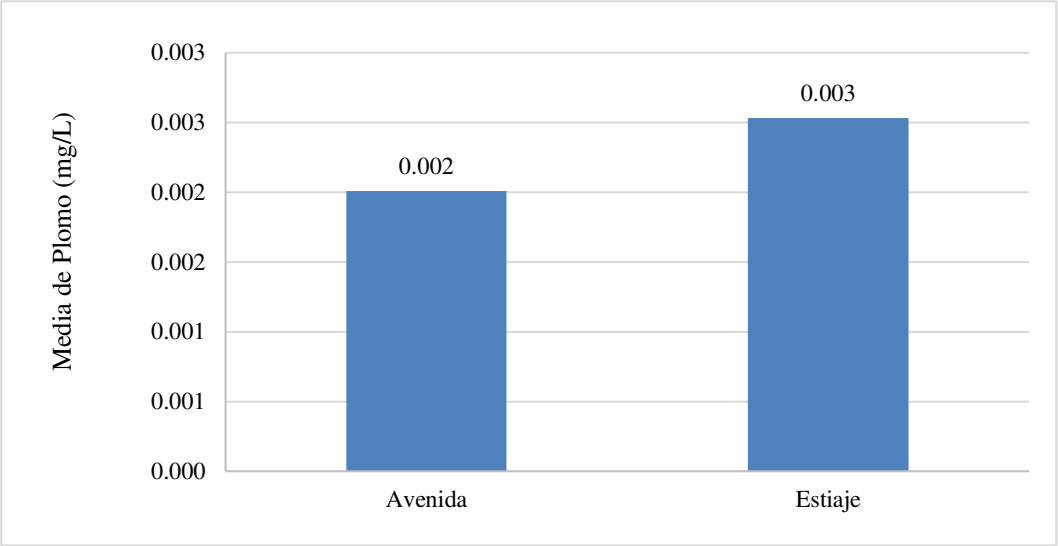
Las concentraciones de mercurio son ligeramente mayores en estiaje (media = 0.022 mg/L) que en avenida (media = 0.016 mg/L), con una baja desviación estándar en ambas épocas.

Figura 53. *Concentración promedio de cadmio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



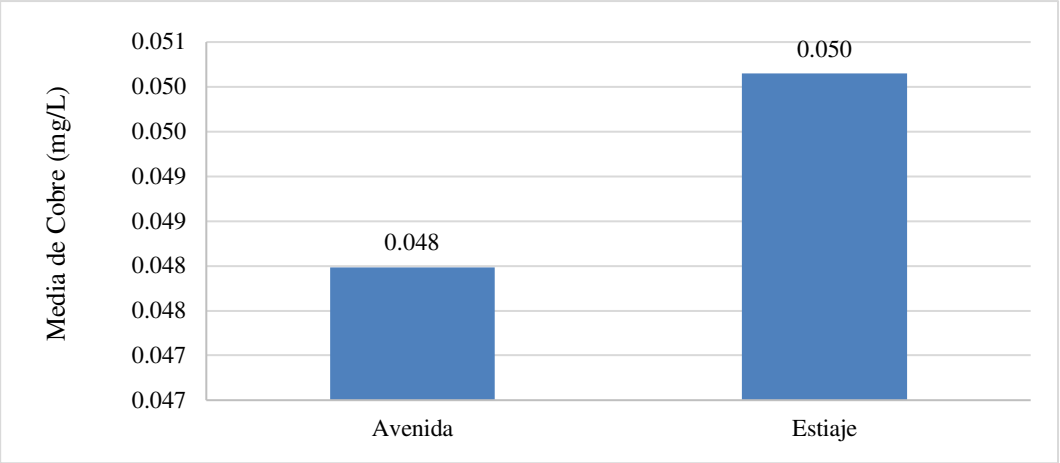
La concentración de cadmio es baja y consistente, con un promedio de aproximadamente 0.007 mg/L en ambas épocas y un rango máximo de 0.045 mg/L en estiaje.

Figura 54. *Concentración de plomo en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



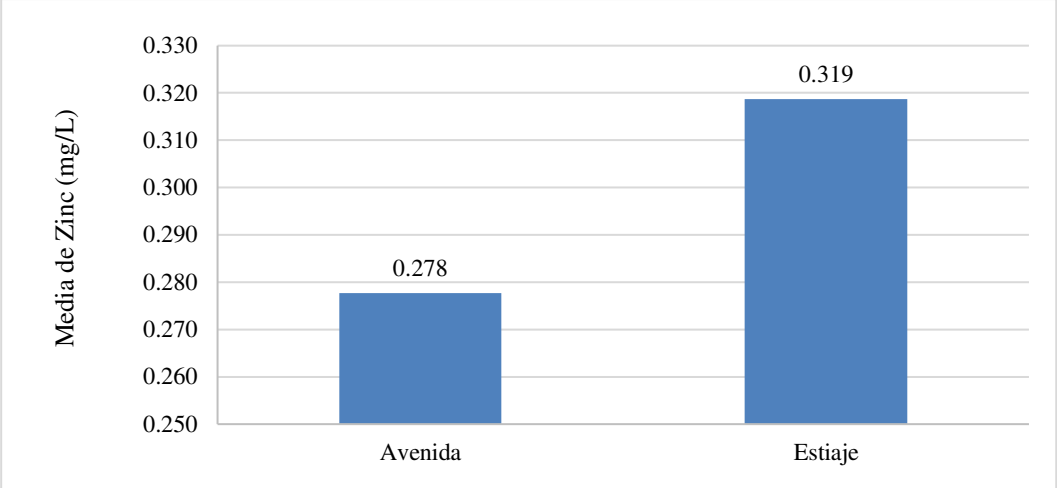
Para el plomo, las concentraciones son extremadamente bajas, con una media de 0.002 y 0.003 mg/L en avenida y estiaje, respectivamente; y un valor máximo de 0.008 mg/L en estiaje.

Figura 55. *Concentración de cobre en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



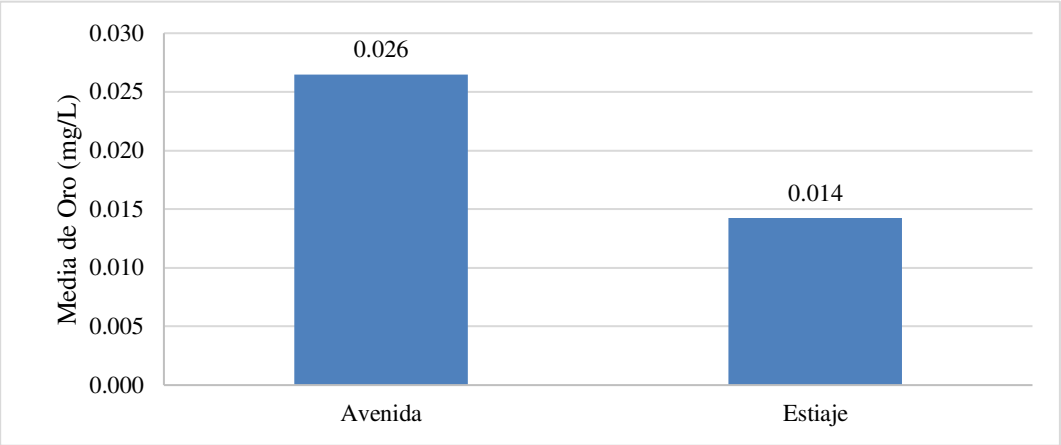
El cobre presenta una concentración promedio de 0.049 mg/L, con un rango máximo de 0.292 mg/L en estiaje.

Figura 56. *Concentración de zinc en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



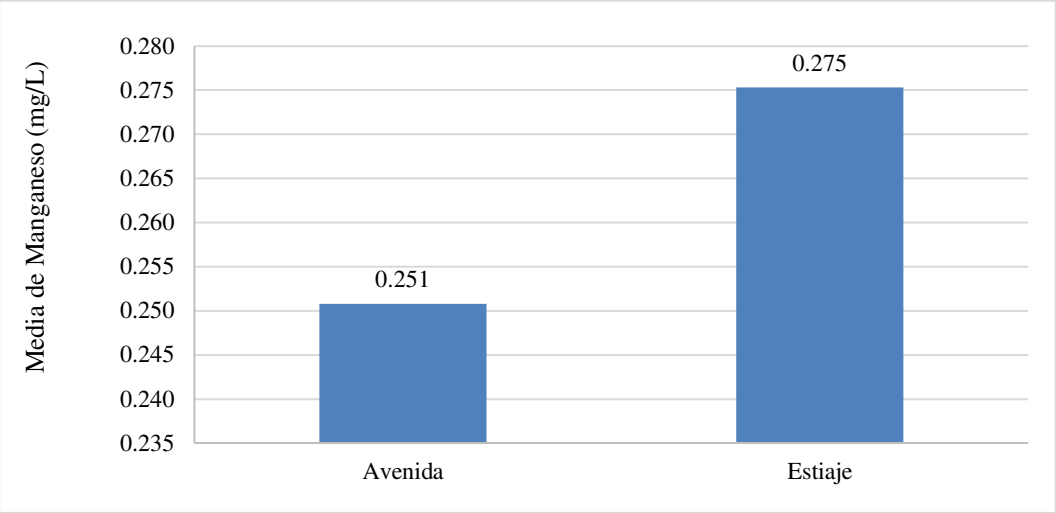
La concentración de zinc aumenta ligeramente de 0.278 mg/L en avenida a 0.319 mg/L en estiaje, alcanzando hasta un rango máximo de 1.625 mg/L en estiaje.

Figura 57. *Concentración de oro en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



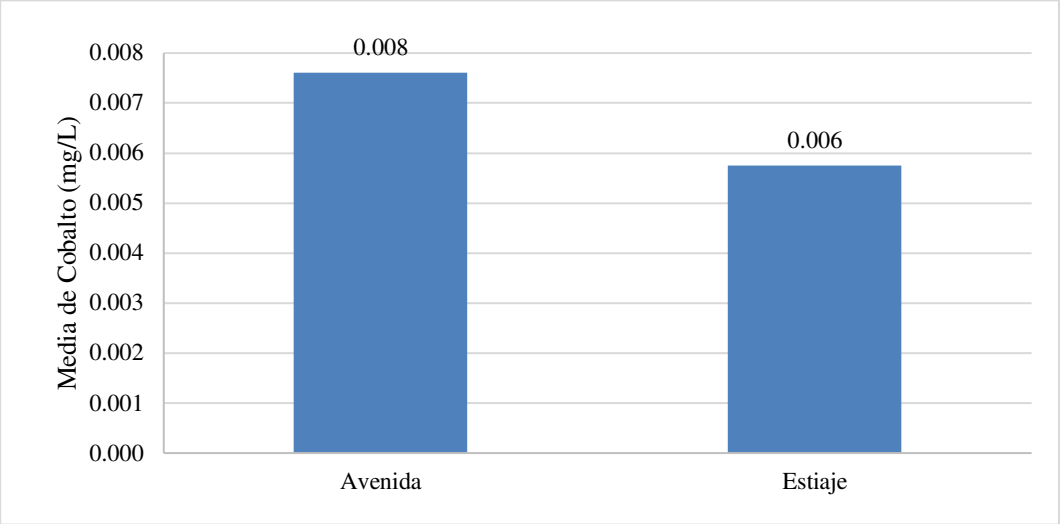
En cuanto al oro, la concentración promedio es ligeramente mayor en avenida (0.026 mg/L) que en estiaje (0.014 mg/L), con valores máximos de 0.04 mg/L.

Figura 58. *Concentración de manganeso en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



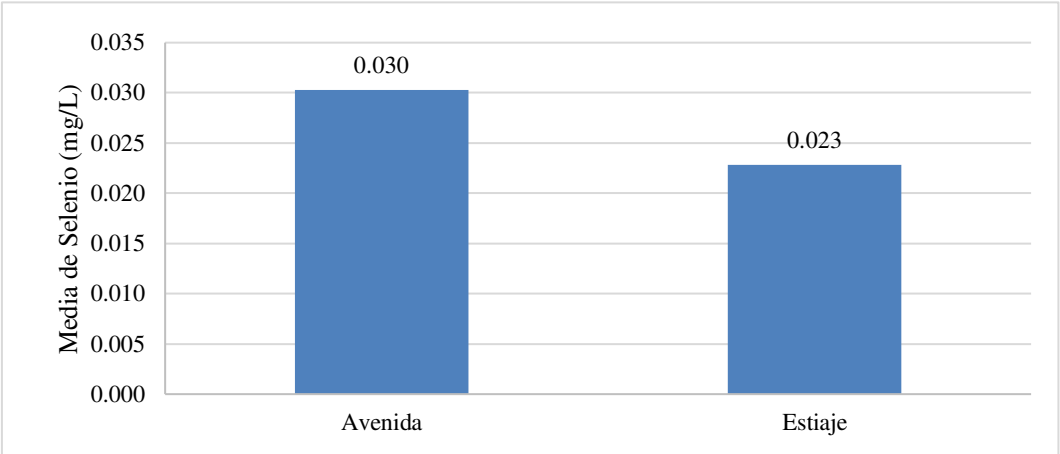
En el caso del manganeso, la concentración promedio es de 0.251 mg/L en avenida y 0.275 mg/L en estiaje, con valores máximos de 0.867 mg/L.

Figura 59. *Concentración de cobalto en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas estiaje y avenida*



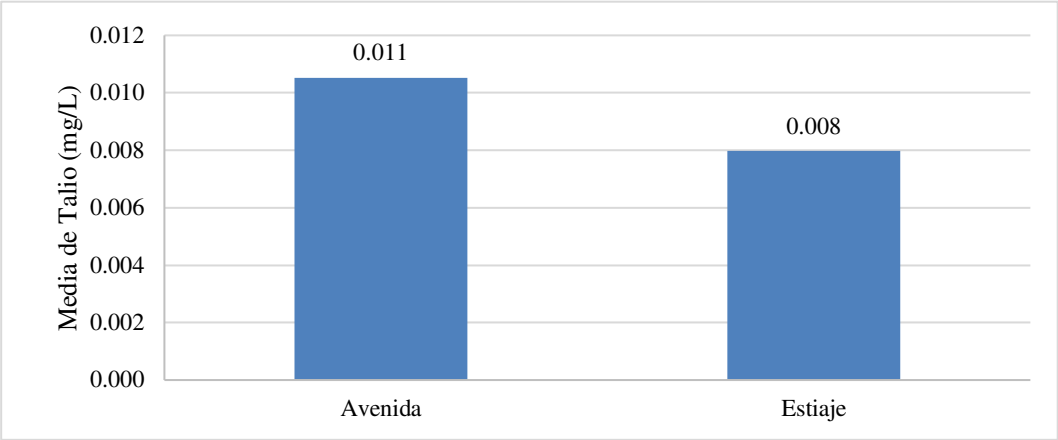
La concentración de cobalto es baja en ambas épocas, con una media de 0.006 mg/L y un rango máximo de 0.014 mg/L.

Figura 60. *Concentración de selenio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas estiaje y avenida*



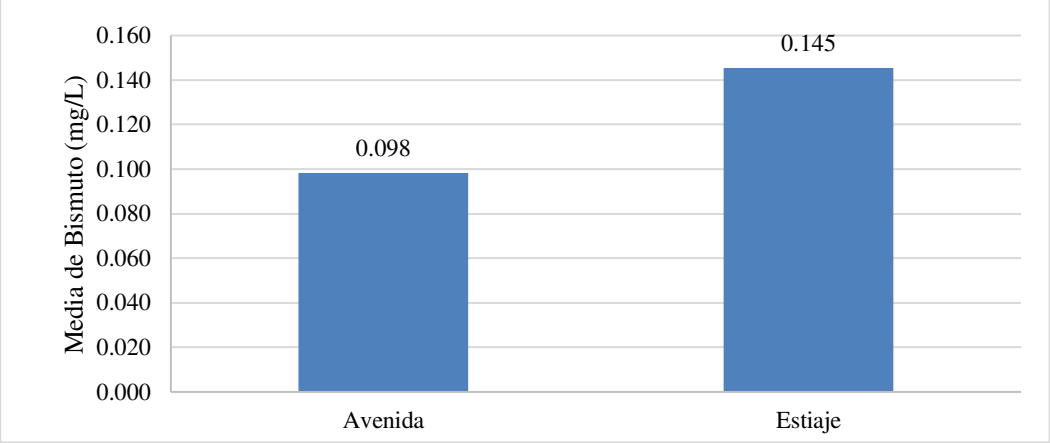
Para el selenio, la concentración promedio es de 0.03 mg/L en avenida y disminuye ligeramente a 0.023 mg/L en estiaje, con un rango de 0.006 a 0.040 mg/L.

Figura 61. *Concentración de talio en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas estiaje y avenida*



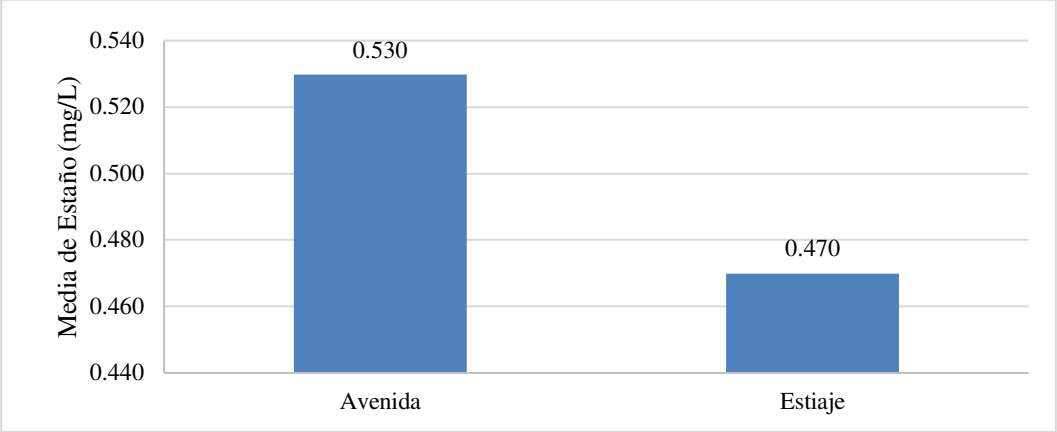
El talio presenta una concentración promedio de 0.009 mg/L, con un rango máximo de 0.025 mg/L.

Figura 62. *Concentración de bismuto en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



La concentración de bismuto muestra un aumento de 0.098 mg/L en avenida a 0.145 mg/L en estiaje, con un rango máximo de 0.551 mg/L.

Figura 63. *Concentración de estaño en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



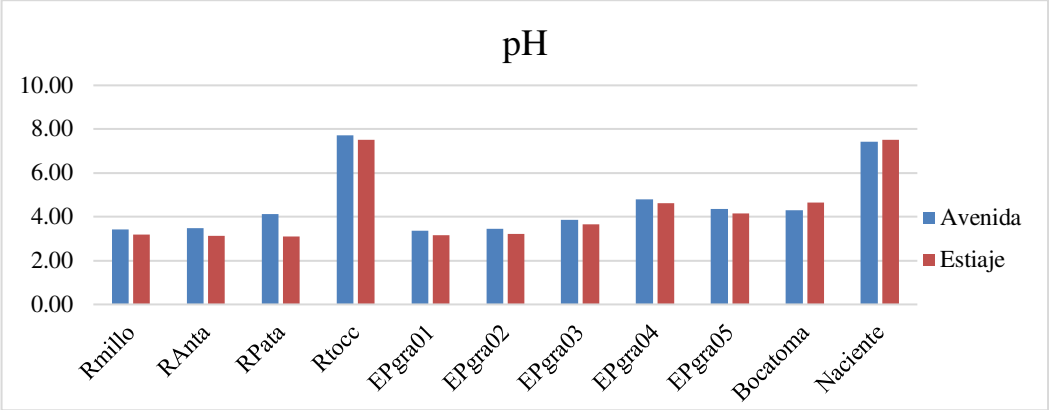
Finalmente, el estaño tiene una concentración promedio de 0.530 mg/L en avenida y 0.470 mg/L en estiaje, con un rango de 0.211 a 0.894 mg/L.

Tabla 26. *Parámetros fisicoquímicos del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*

Punto de muestreo	pH		Salinidad (ppt)		Conductividad Eléctrica (µS/cm)		Oxígeno disuelto (mg/L)		Sólidos Totales disueltos (mg/L)		Temperatura (°C)	
	Avenida	Estiaje	Avenida	Estiaje	Avenida	Estiaje	Avenida	Estiaje	Avenida	Estiaje	Avenida	Estiaje
RMillo	3.42	3.20	0.57	0.49	1120	1254	9.150	8.550	734.5	598.1	9.3	10.1
RAnta	3.47	3.14	0.52	0.50	1041	1097	9.130	8.900	682.0	509.5	11.0	13.1
RPata	4.12	3.10	0.58	0.61	1395	1410	9.480	9.200	903.0	806.4	7.8	8.0
RTocc	7.73	7.50	0.79	0.70	1375	1408	8.200	8.860	884.0	846.8	15.3	15.9
EPgra01	3.36	3.15	0.35	0.33	707	682	9.800	9.470	460.2	433.2	8.7	9.6
EPgra02	3.45	3.23	0.39	0.59	815	741	9.540	9.810	424.3	396.0	8.3	8.7
EPgra03	3.87	3.67	0.40	0.25	993	906	8.300	8.900	660.1	600.9	10.1	11.0
EPgra04	4.79	4.62	0.36	0.27	980	926	8.340	8.660	670.0	586.1	9.5	12.6
EPgra05	4.36	4.14	0.39	0.46	772	815	9.190	8.700	688.0	643.0	8.3	8.9
Bocatoma	4.29	4.65	0.41	0.38	780	796	8.950	8.630	650.0	594.1	9.1	9.4
Naciente	7.43	7.51	0.01	0.05	27	44	8.37	7.13	17.55	9.47	8.8	9.2

Nota: La Tabla 29 muestra los valores de parámetros fisicoquímicos en diferentes puntos de muestreo durante las épocas de avenida y estiaje en el embalse Pasto Grande, abarcando pH, salinidad, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto, sólidos totales disueltos y temperatura. *RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.*

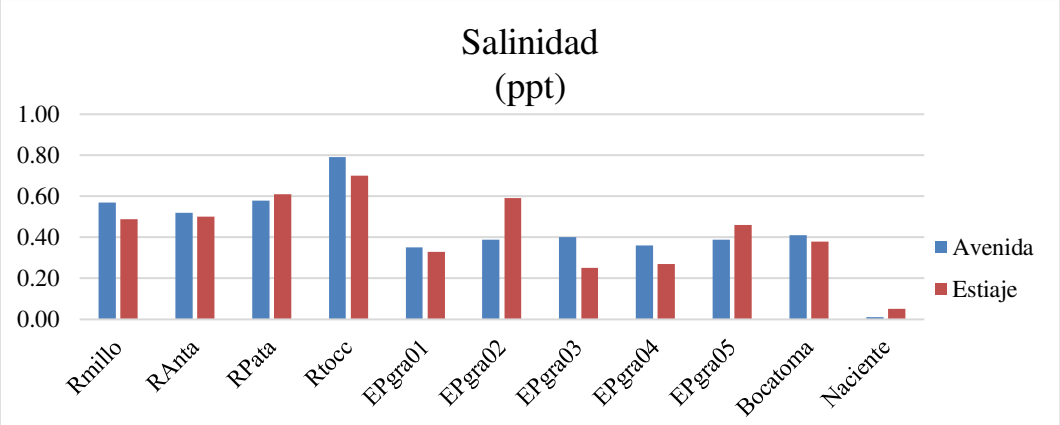
Figura 64. *pH del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida.*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Como otro indicador correspondiente a la Tabla 1 de la variable independiente, se tiene al pH que varió entre los puntos de muestreo y entre las épocas de avenida y estiaje. En avenida, los valores oscilaron entre 3.36 en EPgra01 y 7.73 en RTocc, mientras que en estiaje van desde 3.10 en RPata hasta 7.51 en Naciente. En general, el pH tendió a ser ligeramente más bajo en estiaje, con excepciones como en Naciente, donde aumentó ligeramente. Este patrón sugiere una ligera acidificación en varios puntos durante el estiaje.

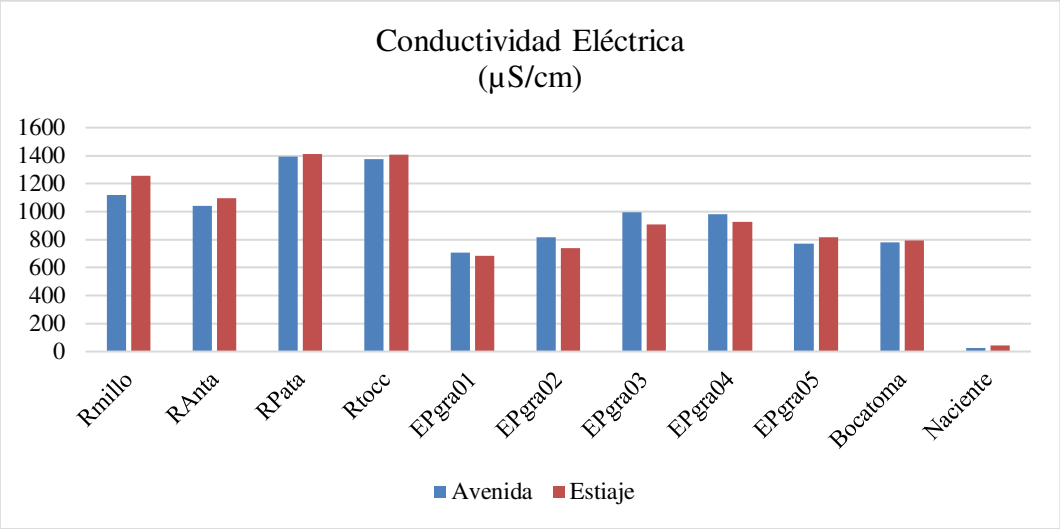
Figura 65. *Salinidad del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

La salinidad disminuyó en estiaje en la mayoría de los puntos, lo cual podría estar relacionado con cambios en la concentración de sales debido a la reducción de caudal. La salinidad tendió a ser más alta en avenida en la mayoría de los puntos. En avenida, los valores van de 0.01 en Naciente a 0.79 en Rtocc, mientras que en estiaje oscilaron entre 0.05 en Naciente y 0.70 en Rtocc. Esto indica una relativa estabilidad en los niveles de salinidad, con Naciente mostrando los valores más bajos en ambas épocas.

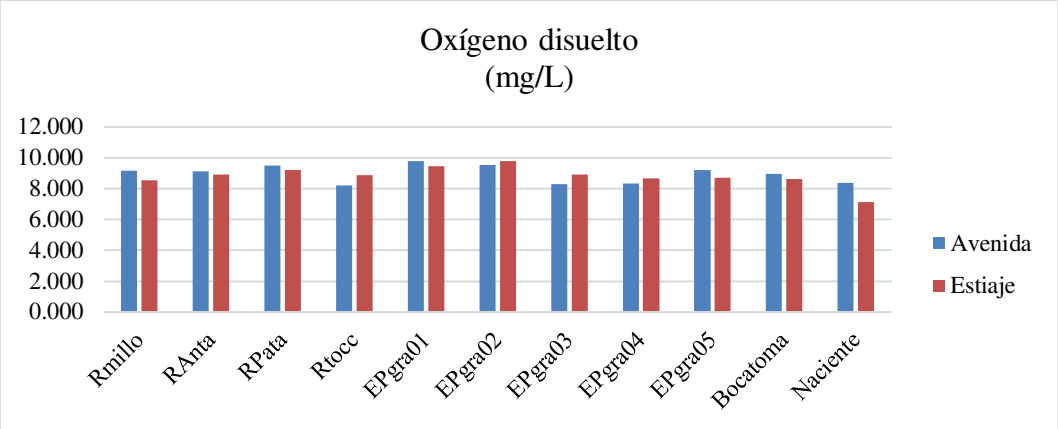
Figura 66. *Conductividad eléctrica del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

La conductividad eléctrica fue generalmente mayor en estiaje, con valores máximos en RPata (1,410 µS/cm) y mínimos en Naciente (27 µS/cm en avenida y 44 µS/cm en estiaje). Esto sugiere una acumulación de iones disueltos durante el estiaje, especialmente en puntos como RPata y RTocc.

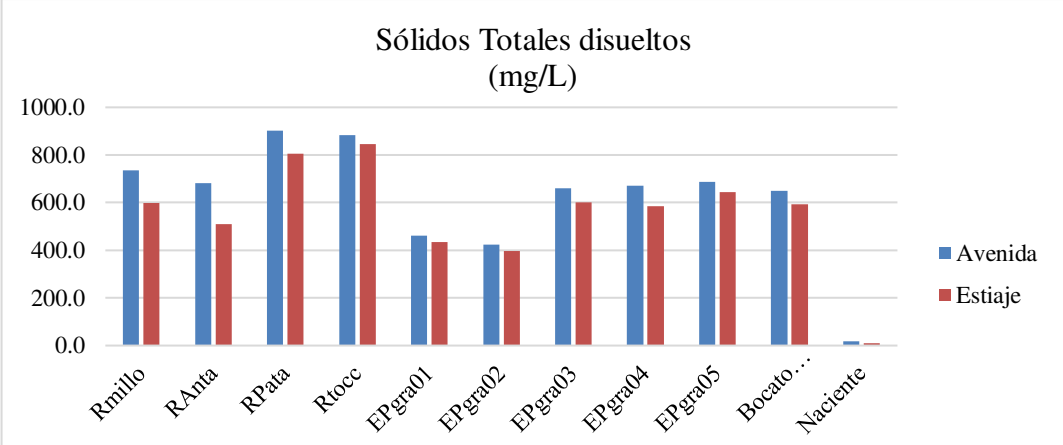
Figura 67. *Oxígeno disuelto del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Los niveles de oxígeno disuelto fueron ligeramente más altos en avenida en algunos puntos, como EPgra01 (9.800 mg/L en avenida vs. 9.470 mg/L en estiaje). Sin embargo, en otros, como RTocc y RPata, se observó una disminución en estiaje. Naciente tuvo los menores niveles en ambas épocas, con una caída notable en estiaje (7.13 mg/L), posiblemente debido a menor circulación o mayor actividad biológica.

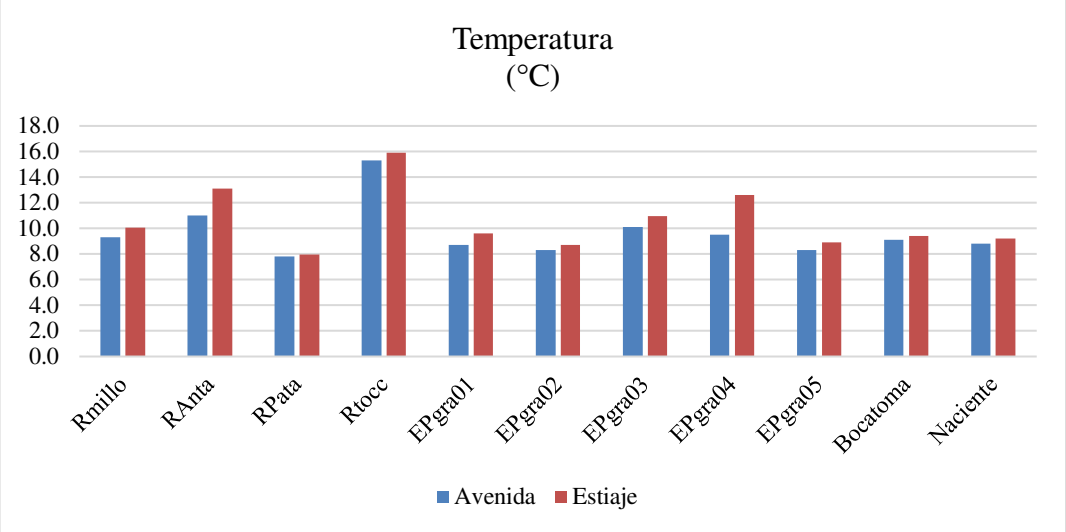
Figura 68. *Sólidos totales disueltos del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

En avenida, los sólidos totales disueltos fueron más altos en generalmente, alcanzando un máximo de 903 mg/L en RPata. En estiaje, estos niveles disminuyeron en la mayoría de los puntos, con mínimos de 9.47 mg/L en Naciente. Esto podría reflejar una dilución mayor en la época de avenida por el aumento del caudal.

Figura 69. *Temperatura del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida*



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

La temperatura fue consistentemente más alta en estiaje en todos los puntos, lo cual es esperable debido a las condiciones climáticas. Los valores más altos se registraron en RTocc (15.9 °C en estiaje) y los más bajos en RPata (7.8 °C en avenida). Este aumento de temperatura en estiaje pudo favorecer procesos biológicos y químicos que alteran la calidad del agua.

Los parámetros fisicoquímicos mostraron variaciones marcadas entre las épocas de avenida y estiaje. Durante el estiaje, se observaron tendencias como un pH ligeramente más bajo, mayor conductividad eléctrica, menor oxígeno disuelto en ciertos puntos, y un incremento en la temperatura, lo que refleja las características típicas de esta estación y su impacto en la calidad del agua del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios.

Tabla 27. *Correlación de Pearson de la concentración de metales pesados y parámetros fisicoquímicos* en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios *en época de estiaje*

METALES PESADOS mg/L		pH	Salinidad (ppt)	Conductividad eléctrica (µs/cm)	Oxígeno disuelto (mg/l)	Sólidos totales disueltos (mg/l)	Temperatura (°C)
Arsénico Total	Correlación de Pearson	-0.259	0.364	0.461	0.206	0.404	-0.351
	Sig. (bilateral)	0.441	0.270	0.154	0.544	0.218	0.290
Mercurio	Correlación de Pearson	-0.472	0.320	0.401	0.269	0.255	-0.080
	Sig. (bilateral)	0.143	0.338	0.222	0.424	0.450	0.815
Cadmio	Correlación de Pearson	-0.335	0.246	0.416	0.226	0.427	-0.390
	Sig. (bilateral)	0.344	0.494	0.232	0.529	0.218	0.266
Plomo	Correlación de Pearson	-0.513	0.257	0.147	0.459	0.047	-0.499
	Sig. (bilateral)	0.106	0.446	0.666	0.156	0.890	0.118
Cobre	Correlación de Pearson	-0.296	0.335	0.329	0.176	0.116	0.249
	Sig. (bilateral)	0.376	0.314	0.323	0.604	0.734	0.460
Zinc	Correlación de Pearson	-0.421	0.410	0.446	0.280	0.374	-0.443
	Sig. (bilateral)	0.197	0.210	0.169	0.404	0.258	0.172
Manganeso	Correlación de Pearson	-0.619*	0.347	0.070	0.602	-0.134	-0.387
	Sig. (bilateral)	0.042	0.296	0.839	0.050	0.695	0.240
Cobalto	Correlación de Pearson	0.860	0.982	0.947	0.543	0.908	0.912
	Sig. (bilateral)	0.341	0.122	0.208	0.635	0.275	0.269
Selenio	Correlación de Pearson	.c	.c	.c	.c	.c	.c
	Sig. (bilateral)	.	.	.	.	.	.
Talio	Correlación de Pearson	-0.396	0.002	-0.070	0.754*	-0.015	-0.610
	Sig. (bilateral)	0.332	0.997	0.869	0.031	0.972	0.109
Níquel	Correlación de Pearson	.c	.c	.c	.c	.c	.c
	Sig. (bilateral)	.	.	.	.	.	.
Oro	Correlación de Pearson	-0.544	0.727	0.726	0.446	0.528	-0.364
	Sig. (bilateral)	0.264	0.102	0.103	0.376	0.282	0.478
Bismuto	Correlación de Pearson	-0.252	0.302	0.399	-0.023	0.132	0.113
	Sig. (bilateral)	0.514	0.429	0.287	0.953	0.735	0.773
Cromo (VI)	Correlación de Pearson	.c	.c	.c	.c	.c	.c
	Sig. (bilateral)	.	.	.	.	.	.

Estaño	Correlación de Pearson	1,000**	-0.998*	-0.994	-0.996	-0.998*	0.313
	Sig. (bilateral)	0.008	0.036	0.068	0.056	0.037	0.797

La Tabla 27 examina la correlación entre metales pesados y parámetros fisicoquímicos (pH, salinidad, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto, sólidos totales disueltos y temperatura) durante la época de estiaje en el embalse Pasto Grande. Las correlaciones de Pearson indican la fuerza y dirección de la relación entre los metales y las condiciones ambientales, mientras que los valores de significancia (Sig.) revelan si estas correlaciones son estadísticamente significativas.

Para el arsénico, las correlaciones son moderadas con la conductividad eléctrica (0.461) y los sólidos totales disueltos (0.404), aunque no son significativas, lo que sugiere una posible relación sin conclusiones claras. El mercurio muestra correlaciones débiles y no significativas con los parámetros fisicoquímicos, pH (-0.472) y la temperatura (-0.080), mientras que las correlaciones con salinidad (0.320), conductividad eléctrica (0.401), oxígeno disuelto (0.269) son positivas, pero no significativas.

El cadmio tiene correlaciones moderadas con la conductividad eléctrica (0.416) y los sólidos disueltos (0.427), sin significancia estadística, indicando una tendencia que no es concluyente. Para el plomo, no se observaron correlaciones significativas, aunque presenta una relación negativa con pH (-0.513), sugiriendo una mayor presencia en condiciones de menor pH. El cobre y el zinc muestran correlaciones moderadas con la conductividad eléctrica y los sólidos disueltos, pero no alcanzan significancia estadística, indicando una posible asociación con estos parámetros sin respaldo concluyente.

El manganeso presenta una correlación negativa significativa con el pH (-0.619, $p = 0.042$), indicando mayor concentración en condiciones de menor pH. El talio tiene una correlación positiva con el oxígeno disuelto (0.754, $p = 0.031$), lo que sugiere que puede estar más presente en ambientes oxigenados durante estiaje. Finalmente, el estaño muestra correlaciones significativas con varios parámetros, incluyendo una fuerte correlación positiva con el pH (1.000, $p = 0.008$), y relaciones negativas con salinidad y sólidos disueltos.

El mercurio y el estaño muestran relaciones significativas con la temperatura y el pH, respectivamente. El manganeso también se relaciona con el pH en estiaje, mientras que el talio parece más prevalente en ambientes oxigenados.

Tabla 28. *Correlación de Pearson de concentración de metales pesados y parámetros fisicoquímicos en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en la época de avenida*

METALES PESADOS mg/L		**pH**	**Salinidad (ppt)**	**Conductividad eléctrica (µs/cm)**	**Oxígeno disuelto (mg/L)**	**Sólidos totales disueltos**	**Temperatura (°C)**
Arsénico Total	Correlación de Pearson	-0.100	0.360	0.523	0.294	0.447	-0.214
	Sig. (bilateral)	0.770	0.277	0.099	0.380	0.168	0.528
Mercurio	Correlación de Pearson	-0.400	0.169	0.230	0.257	0.217	0
	Sig. (bilateral)	0.222	0.620	0.496	0.445	0.521	1
Cadmio	Correlación de Pearson	-0.104	0.344	0.446	0.217	0.505	-0.409
	Sig. (bilateral)	0.807	0.404	0.268	0.606	0.202	0.314
Plomo	Correlación de Pearson	-0.541	0.008	0.083	0.849**	0.089	-0.552
	Sig. (bilateral)	0.106	0.983	0.820	0.002	0.806	0.098
Cobre	Correlación de Pearson	-0.294	0.294	0.387	0.201	0.375	0.100
	Sig. (bilateral)	0.443	0.443	0.304	0.604	0.321	0.797
Zinc	Correlación de Pearson	-0.291	0.243	0.364	0.511	0.384	-0.391
	Sig. (bilateral)	0.385	0.471	0.272	0.108	0.244	0.234
Manganeso	Correlación de Pearson	-0.585	-0.016	-0.055	0.870**	-0.207	-0.387
	Sig. (bilateral)	0.076	0.964	0.881	0.001	0.567	0.269
Cobalto	Correlación de Pearson	1000**	1000**	1000**	-1000**	1000*	1000**
	Sig. (bilateral)						
Selenio	Correlación de Pearson	.b	.b	.b	.b	.b	.b
	Sig. (bilateral)						

Talio	Correlación de Pearson	-0.349	-0.512	-0.222	0.749	-0.247	-0.661
	Sig. (bilateral)	0.443	0.240	0.632	0.053	0.594	0.106
Níquel	Correlación de Pearson	.[b]	.[b]	.[b]	.[b]	.[b]	.[b]
	Sig. (bilateral)						
Oro	Correlación de Pearson	-0.057	0.162	0.122	-0.331	-0.014	0.364
	Sig. (bilateral)	0.943	0.838	0.878	0.669	0.986	0.636
Bismuto	Correlación de Pearson	-0.212	0.210	0.091	0.221	0.109	0.023
	Sig. (bilateral)	0.584	0.588	0.816	0.568	0.780	0.953
Cromo (VI)	Correlación de Pearson	.[b]	.[b]	.[b]	.[b]	.[b]	.[b]
	Sig. (bilateral)						
Estaño	Correlación de Pearson	0.946	-0.938	-0.949	-1000[*]	-0.966	0.439
	Sig. (bilateral)	0.210	0.226	0.204	0.014	0.166	0.711

La Tabla 28 examina las correlaciones entre metales pesados y parámetros fisicoquímicos (pH, salinidad, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto, sólidos totales disueltos y temperatura) en la época de avenida en el embalse Pasto Grande. Algunas correlaciones destacan, indicando cómo las condiciones ambientales podrían influir en la presencia de ciertos metales.

Para el arsénico, se observan correlaciones positivas moderadas con la conductividad eléctrica (0.523) y los sólidos totales disueltos (0.447), aunque sin significancia estadística, sugiriendo una posible relación con el contenido de sólidos disueltos. El mercurio muestra correlaciones débiles con los parámetros fisicoquímicos, como el pH (-0.400), salinidad (0.169), conductividad eléctrica (0.230), oxígeno disuelto (0.257), y sólidos totales disueltos (0.217), sin que ninguna de ellas sea estadísticamente significativa. Además, no presenta relación con la temperatura (0.000, p = 1.000), lo que sugiere que las concentraciones de mercurio en estas muestras no están significativamente influenciadas por estos factores ambientales.

El cadmio muestra correlación positiva con sólidos disueltos (0.505), pero sin significancia, indicando una posible pero no concluyente relación. En contraste,

el plomo tiene una fuerte y significativa correlación positiva con el oxígeno disuelto (0.849, p = 0.002), sugiriendo mayor presencia en ambientes oxigenados. El cobre tiene correlaciones moderadas con la conductividad eléctrica (0.387) y sólidos disueltos (0.375), sin alcanzar significancia.

Para el zinc, aunque no existen correlaciones significativas, muestra una ligera tendencia positiva con el oxígeno disuelto (0.511). El manganeso también tiene una fuerte correlación positiva con el oxígeno disuelto (0.870, p = 0.001), lo que sugiere mayor concentración en ambientes bien oxigenados. El talio presenta una correlación moderada con el oxígeno disuelto (0.749) y una negativa con la temperatura, aunque sin significancia estadística.

El mercurio, plomo y manganeso destacan en su relación con ciertos parámetros: el mercurio con la temperatura y el plomo y manganeso con el oxígeno disuelto, sugiriendo que estos factores ambientales pueden influir en la distribución de metales pesados en el embalse.

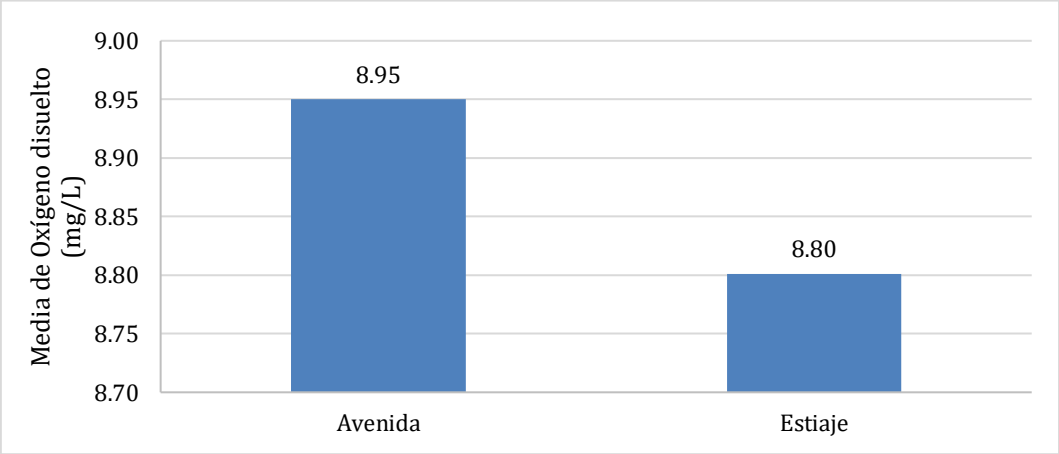
Tabla 29. *Análisis descriptivo de los parámetros fisicoquímicos en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*

Descriptivos									
		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% de intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
pH	Avenida	11	4.57	1.56	0.47	3.53	5.62	3.36	7.73
	Estiaje	11	4.36	1.66	0.50	3.24	5.47	3.10	7.51
	Total	22	4.46	1.58	0.34	3.76	5.16	3.10	7.73
Salinidad (ppt)	Avenida	11	0.43	0.19	0.06	0.30	0.56	0.01	0.79
	Estiaje	11	0.42	0.19	0.06	0.29	0.55	0.05	0.70
	Total	22	0.43	0.19	0.04	0.34	0.51	0.01	0.79
Conductividad eléctrica	Avenida	11	909.55	372.88	112.43	659.04	1160.05	27	1395
	Estiaje	11	916.27	387.77	116.92	655.76	1176.78	44	1410
	Total	22	912.91	371.25	79.15	748.31	1077.51	27	1410

Oxígeno disuelto (mg/L)	Avenida	11	8.95	0.56	0.17	8.57	9.33	8.2	9.80
	Estiaje	11	8.80	0.68	0.20	8.35	9.25	7.13	9.81
	Total	22	8.88	0.61	0.13	8.60	9.15	7.13	9.81
Sólidos totales disueltos	Avenida	11	615.79	245.55	74.04	450.82	780.75	17.55	903
	Estiaje	11	547.59	223.99	67.54	397.11	698.07	9.47	846.78
	Total	22	581.69	232.00	49.46	478.83	684.55	9.47	903
Temperatura (°C)	Avenida	11	9.65	2.08	0.63	8.26	11.05	7.80	15.3
	Estiaje	11	10.58	2.39	0.72	8.97	12.18	7.95	15.9
	Total	22	10.12	2.23	0.48	9.13	11.11	7.80	15.9

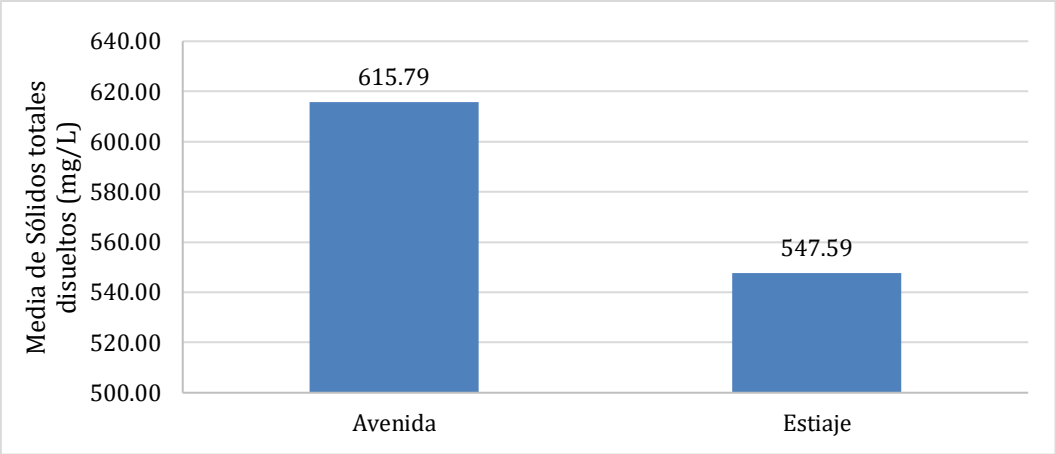
La Tabla 29 presenta los valores descriptivos de parámetros fisicoquímicos (pH, salinidad, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto, sólidos totales disueltos y temperatura) durante las épocas de avenida y estiaje en el embalse Pasto Grande.

Figura 70. Media *de Oxígeno disuelto en estiaje y avenida*



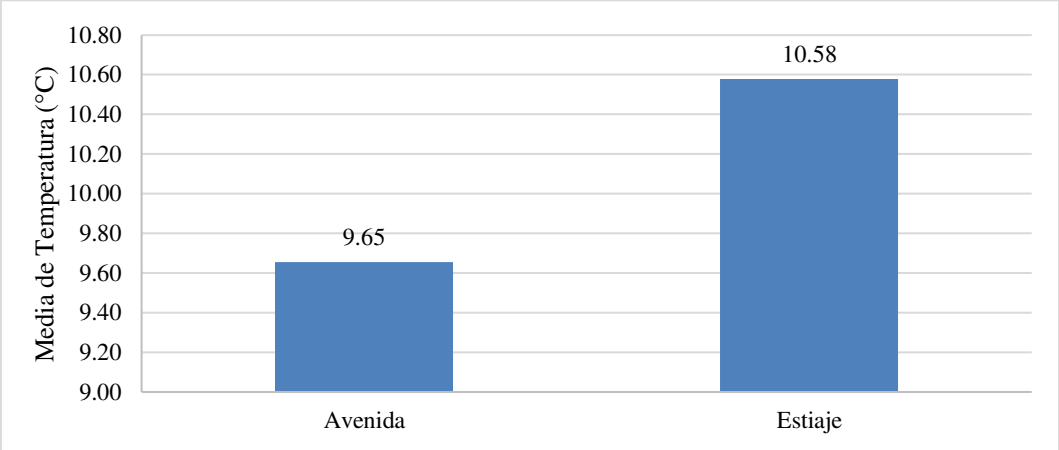
El oxígeno disuelto tiene un promedio de 8.95 mg/L en avenida y 8.80 mg/L en estiaje, con desviaciones estándar de 0.56 y 0.68, respectivamente. Los valores de oxígeno disuelto varían entre 7.13 y 9.81 mg/L.

Figura 71. *Parámetro fisicoquímico de Sólidos totales disueltos en estiaje y avenida*



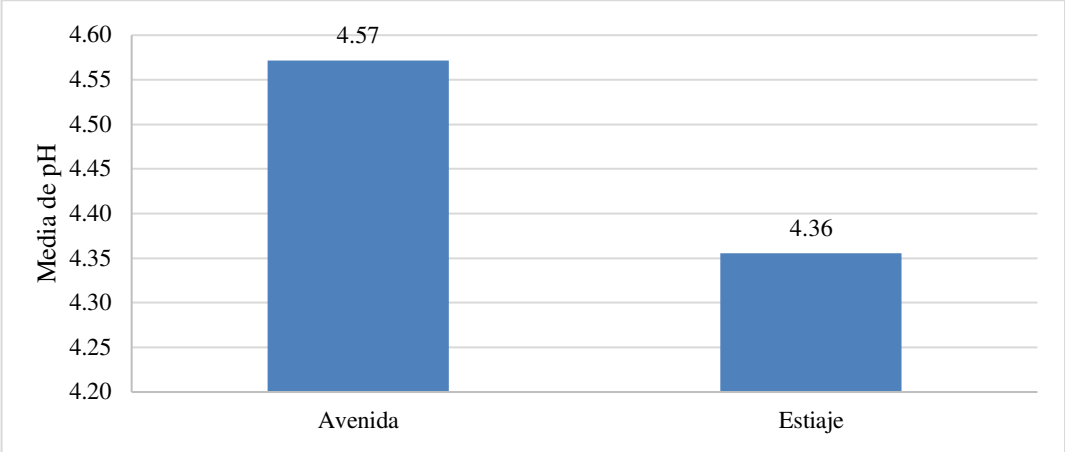
Para los sólidos totales disueltos, el promedio es de 615.79 mg/L en avenida y disminuye a 547.59 mg/L en estiaje, con desviaciones estándar de 245.55 y 223.99, respectivamente. Los valores oscilan entre 9.47 y 903 mg/L.

Figura 72. *Media de la temperatura en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



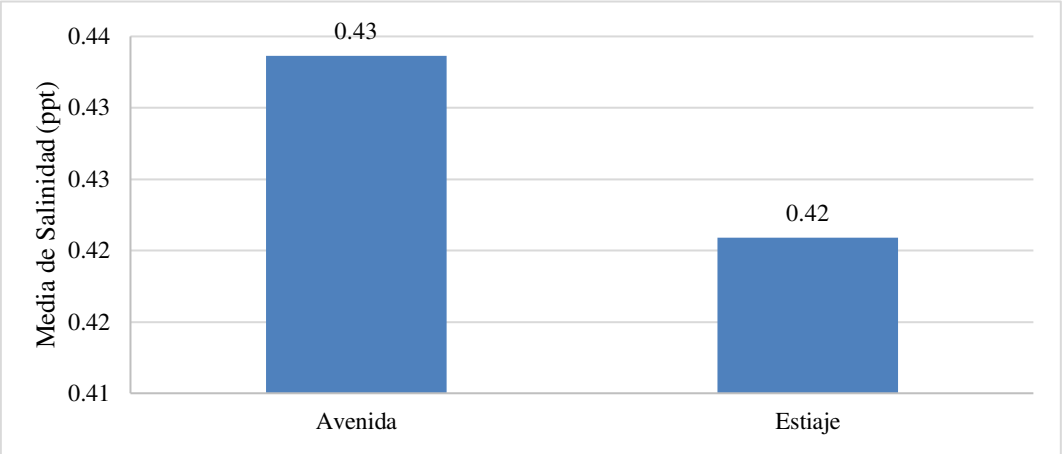
La temperatura promedio en avenida es de 9.65 °C y aumenta ligeramente a 10.58 °C en estiaje, con desviaciones estándar de 2.08 y 2.39, respectivamente. Los valores de temperatura varían entre 7.80 y 15.90 °C.

Figura 73. *Media de pH en* el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de *estiaje y avenida*



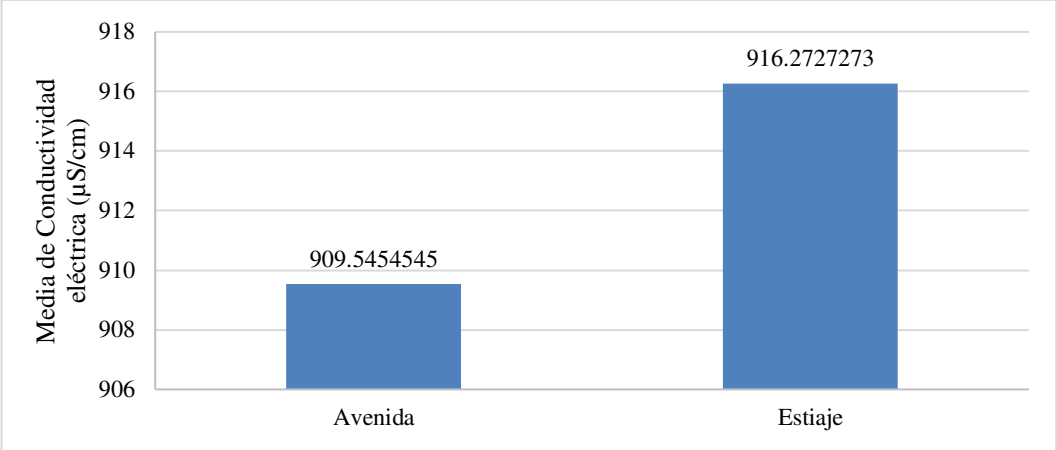
Para el pH, el promedio en avenida es de 4.57 con una desviación estándar de 1.56, mientras que en estiaje baja ligeramente a 4.36, con una desviación estándar de 1.66. Los valores fluctúan entre un mínimo de 3.10 y un máximo de 7.73.

Figura 74. *Media de salinidad en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



La salinidad muestra un promedio de 0.43 ppt en avenida y 0.42 ppt en estiaje, con una desviación estándar constante de 0.19 en ambas épocas. Los valores de salinidad van desde 0.01 hasta 0.79 ppt.

Figura 75. *Media de conductividad eléctrica en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



En cuanto a la conductividad eléctrica, el promedio es de 909.55 µS/cm en avenida y aumenta ligeramente a 916.27 µS/cm en estiaje, con desviaciones estándar de 372.88 y 387.77, respectivamente. Los valores oscilan entre un mínimo de 27 y un máximo de 1410 µS/cm.

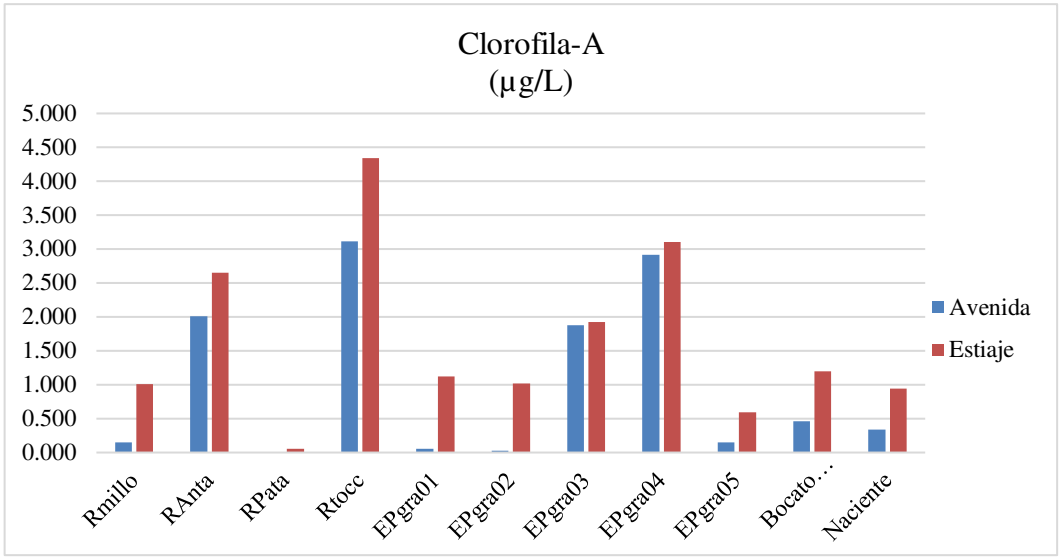
4.1.3. Determinación de la asociación entre las concentraciones de clorofila-A y metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida.

Tabla 30. *Concentración de clorofila-A del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida mediante el principio de fluorometría utilizando el NanoDrop One*[c]

Punto de muestreo	**Clorofila-*A* (µg/L)**	
	Avenida	**Estiaje**
RMillo	0.154	1.009
RAnta	2.013	2.653
RPata	0.012	0.051
RTocc	3.113	4.341
EPgra01	0.052	1.121
EPgra02	0.026	1.019
EPgra03	1.879	1.927
EPgra04	2.911	3.106
EPgra05	0.145	0.592
Bocatoma	0.458	1.201
Naciente	0.336	0.944

Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Figura 76. *Concentración de clorofila-A del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en épocas de estiaje y avenida mediante el principio de fluorometría utilizando el NanoDrop One*[c]



Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

La Tabla 30 presenta los valores de concentración de clorofila-*A*, considerada como uno de los indicadores de la variable independiente de la Tabla 1, en diferentes puntos de muestreo durante las épocas de avenida y estiaje en el embalse Pasto Grande. La clorofila-*A*, utilizada como indicador de actividad algal y productividad biológica, muestra incrementos generalizados durante el estiaje en todos los puntos de muestreo.

En RMillo, la concentración de clorofila-*A* aumenta de 0.154 µg/L en avenida a 1.009 µg/L en estiaje, reflejando un incremento significativo en la actividad algal. Un comportamiento similar se observa en RAnta, donde los valores aumentan de 2.013 µg/L a 2.653 µg/L entre ambas épocas. Este patrón de aumento también es evidente en EPgra01, con un incremento de 0.052 µg/L en avenida a 1.121 µg/L en estiaje, y en Bocatoma, donde la concentración pasa de 0.458 µg/L a 1.201 µg/L.

En RTocc y EPgra02, los incrementos son más pronunciados considerando los valores iniciales bajos en avenida. En RTocc, la clorofila-*A* aumenta de 3.113 µg/L a 4.341 µg/L, mientras que en EPgra02 pasa de 0.026 µg/L en avenida a 1.019

µg/L en estiaje. Esto sugiere que la disminución del caudal durante el estiaje favorece un aumento significativo en la productividad algal en estos puntos.

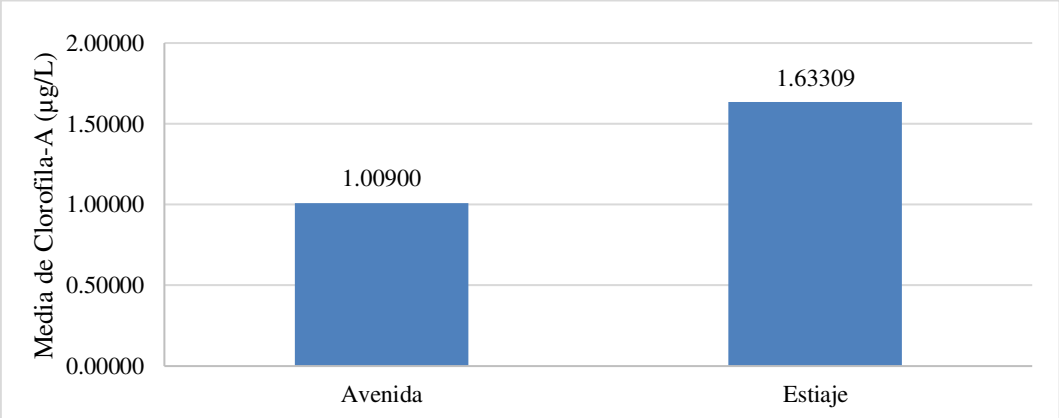
Por otro lado, puntos como EPgra03 y EPgra04 mantienen una alta productividad algal en ambas épocas, con incrementos leves entre avenida y estiaje. En EPgra03, los valores pasan de 1.879 µg/L a 1.927 µg/L, y en EPgra04, de 2.911 µg/L a 3.106 µg/L, indicando una estabilidad en las condiciones de crecimiento algal.

Los datos muestran que la época de estiaje favorece un aumento en la concentración de clorofila-*A* en la mayoría de los puntos de muestreo, reflejando una mayor actividad biológica y productividad algal. Este patrón podría estar asociado con una menor dilución de nutrientes y condiciones ambientales más estables durante la temporada seca.

Tabla 31. *Análisis descriptivo clorofila-A en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida.*

Clorofila-*A* (µg/L)	**N**	**Media**	**Desviación estándar**	**Error estándar**	**95% de intervalo de confianza para la media**		**Mínimo**	**Máximo**
					Límite inferior	**Límite superior**		
Avenida	11	1.01	1.22	0.37	0.19	1.83	0.01	3.11
Estiaje	11	1.63	1.26	0.38	0.79	2.48	0.05	4.34
Total	22	1.32	1.25	0.27	0.77	1.88	0.01	4.34

Figura 77. *Media de clorofila-A en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*



La Tabla 31 proporciona un análisis descriptivo de la concentración de clorofila-*A* en el embalse Pasto Grande durante las épocas de avenida y estiaje. En promedio, la concentración de clorofila-*A* es mayor en estiaje (1.63 µg/L) que en avenida (1.01 µg/L). La desviación estándar es similar en ambas épocas (1.22 en avenida y 1.26 en estiaje), indicando una variabilidad comparable. Los valores de clorofila-*A* oscilan entre un mínimo de 0.01 µg/L y un máximo de 4.34 µg/L, con valores superiores en estiaje.

El intervalo de confianza del 95% para la media muestra un rango de 0.19 a 1.83 µg/L en avenida y de 0.79 a 2.48 µg/L en estiaje, lo que sugiere que la concentración de clorofila-*A* podría ser mayor durante el estiaje. Esto podría estar relacionado con factores ambientales, como una menor dilución de nutrientes y condiciones más estables, que favorecen el crecimiento de microalgas en esta época.

Tabla 32. *Asociación entre la concentración de clorofila-A y concentración de metales pesados en las épocas de estiaje y avenida mediante la correlación de Pearson*

Metales pesados mg/L		**Clorofila-*A* (µg/L)**		
		Total	**Avenida**	**Estiaje**
Arsénico Total	Correlación de Pearson	-0.266	-0.250	-0.408
	Sig. (bilateral)	0.231	0.459	0.213
Mercurio	Correlación de Pearson	-0.034	0.095	-0.177
	Sig. (bilateral)	0.879	0.781	0.603
Cadmio	Correlación de Pearson	-0.274	-0.237	-0.426
	Sig. (bilateral)	0.272	0.572	0.219
Plomo	Correlación de Pearson	-0.530*	-0.657*	-0.559
	Sig. (bilateral)	0.013	0.039	0.074
Cobre	Correlación de Pearson	0.196	0.342	0.144
	Sig. (bilateral)	0.406	0.368	0.673
Zinc	Correlación de Pearson	-0.439*	-0.427	-0.503
	Sig. (bilateral)	0.041	0.191	0.115
Manganeso	Correlación de Pearson	-0.447*	-0.551	-0.395

	Sig. (bilateral)	0.042	0.099	0.230
Cobalto	Correlación de Pearson	0.873	1000**	0.958
	Sig. (bilateral)	0.054		0.186
Selenio	Correlación de Pearson	-0.957	.b	-1000**
	Sig. (bilateral)	0.187		
Talio	Correlación de Pearson	-0.623*	-0.647	-0.596
	Sig. (bilateral)	0.013	0.116	0.119
Níquel	Correlación de Pearson	.c	.b	.b
	Sig. (bilateral)			
Oro	Correlación de Pearson	-0.496	0.588	-0.458
	Sig. (bilateral)	0.145	0.412	0.361
Bismuto	Correlación de Pearson	0.029	-0.158	0.005
	Sig. (bilateral)	0.909	0.685	0.990
Cromo (VI)	Correlación de Pearson	.c	.b	.b
	Sig. (bilateral)			
Estaño	Correlación de Pearson	0.060	0.424	0.216
	Sig. (bilateral)	0.910	0.721	0.861

La Tabla 32 muestra la correlación entre la concentración de clorofila-*A* y varios metales pesados, analizada en general, así como en las épocas de avenida y estiaje. Las correlaciones de Pearson y sus valores de significancia permiten evaluar la relación entre la productividad de clorofila-*A* y la concentración de cada metal.

El mercurio muestra correlaciones muy débiles y no significativas con la clorofila-*A* en todas las condiciones. En el análisis total, la correlación es casi nula (-0.034, p = 0.879), lo que sugiere que no hay una relación apreciable entre las concentraciones de mercurio y los niveles de clorofila-*A*. Durante la época de avenida, la correlación es positiva pero muy baja (0.095, p = 0.781), mientras que en estiaje la relación es negativa y débil (-0.177, p = 0.603). Estos resultados indican que el mercurio no tiene un impacto relevante en la clorofila-*A* en las condiciones evaluadas. El arsénico muestra una correlación negativa, especialmente en estiaje (-0.408), aunque sin significancia estadística. Esto podría sugerir una tendencia a disminuir en ambientes de mayor clorofila-*A*, aunque no es concluyente. De forma similar, el cadmio presenta una correlación negativa, especialmente en estiaje (-0.426), sin alcanzar significancia.

Para el plomo, se observa una correlación negativa significativa en general (-0.530, p = 0.013) y en avenida (-0.657, p = 0.039), lo cual indica que en ambientes con mayor clorofila-*A*, la concentración de plomo tiende a ser menor. El zinc y el manganeso también muestran correlaciones negativas significativas en general (-0.439 y -0.447, respectivamente), sugiriendo una reducción de estos metales en presencia de mayor clorofila-*A*. El talio presenta una correlación negativa significativa con la clorofila-*A* en general (-0.623, p = 0.013), indicando que su concentración puede disminuir en condiciones de alta productividad algal. Otros metales, como el cobalto y el selenio, presentan correlaciones fuertes en algunos casos, pero carecen de significancia o no tienen valores concluyentes.

El mercurio muestra una fuerte relación positiva con la clorofila-*A*, mientras que el plomo, zinc, manganeso, y talio muestran relaciones negativas, sugiriendo que la presencia de ciertos metales pesados podría disminuir en ambientes con mayor actividad biológica.

Tabla 33. *Abundancia de taxones de microalgas en relación a los parámetros fisicoquímicos mediante la correlación de Pearson en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*

Parámetros Físicoquímicos		**Abundancia de taxones de Microalgas**		
		Total	**Avenida**	**Estiaje**
pH	Correlación de Pearson	0.139	0.185	0.107
	Sig. (bilateral)	0.560	0.608	0.768
Salinidad (ppt)	Correlación de Pearson	0.677**	0.686*	0.691*
	Sig. (bilateral)	0.001	0.028	0.027
Conductividad eléctrica (µS/cm)	Correlación de Pearson	0.598**	0.603	0.600
	Sig. (bilateral)	0.005	0.065	0.067
Oxígeno disuelto ((mg/L)	Correlación de Pearson	0.126	-0.146	0.365
	Sig. (bilateral)	0.597	0.687	0.299
Sólidos totales disueltos (mg/L)	Correlación de Pearson	0.545*	0.567	0.584
	Sig. (bilateral)	0.013	0.088	0.076
Temperatura (°C)	Correlación de Pearson	0.660**	0.674*	0.638*
	Sig. (bilateral)	0.002	0.033	0.047

La Tabla 33 revela correlaciones entre la abundancia de taxones de microalgas y varios parámetros fisicoquímicos. La salinidad muestra una correlación positiva y significativa con la abundancia de taxones de microalgas en general (0.677, p = 0.001) y en ambas épocas (avenida y estiaje), lo que sugiere que niveles más altos de salinidad están asociados con mayor crecimiento de microalgas. La conductividad eléctrica también presenta una correlación positiva significativa en el total (0.598, p = 0.005), indicando que concentraciones iónicas más altas pueden favorecer la proliferación algal. Los sólidos totales disueltos y la temperatura muestran correlaciones positivas significativas con la abundancia de taxones de microalgas, particularmente en el total de datos, lo cual indica que estas condiciones, especialmente temperaturas más altas, promueven la actividad algal.

Por otro lado, el pH y el oxígeno disuelto no presentan correlaciones significativas, sugiriendo una influencia limitada en la proliferación de microalgas en este entorno. En conclusión, los factores fisicoquímicos como salinidad, conductividad, sólidos disueltos y temperatura están positivamente asociados con la abundancia de taxones de microalgas, especialmente en condiciones de alta salinidad y temperaturas elevadas, favoreciendo el crecimiento algal en el embalse

Tabla 34. *Abundancia de taxones de microalgas en relación a la concentración de metales pesados mediante la correlación de Pearson en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en las épocas de estiaje y avenida*

Metales pesados mg/L		**Abundancia de taxones de Microalgas**		
		Total	**Avenida**	**Estiaje**
Arsénico Total	Correlación de Pearson	0.074	0.126	0.017
	Sig. (bilateral)	0.756	0.729	0.962
Mercurio	Correlación de Pearson	0.258	0.211	0.294
	Sig. (bilateral)	0.272	0.559	0.409
Cadmio	Correlación de Pearson	0.329	0.473	0.216
	Sig. (bilateral)	0.214	0.283	0.577
Plomo	Correlación de Pearson	-0.358	-0.312	-0.414
	Sig. (bilateral)	0.132	0.413	0.235
Cobre	Correlación de Pearson	0.416	0.371	0.457
	Sig. (bilateral)	0.086	0.366	0.184

Zinc	Correlación de Pearson	0.322	0.336	0.303
	Sig. (bilateral)	0.167	0.342	0.395
Manganeso	Correlación de Pearson	-0.061	0.014	-0.137
	Sig. (bilateral)	0.799	0.970	0.707
Cobalto	Correlación de Pearson	0.913*	1000**	0.991
	Sig. (bilateral)	0.030		0.087
Selenio	Correlación de Pearson	.c	.b	.a
	Sig. (bilateral)			.
Talio	Correlación de Pearson	-0.459	-0.548	-0.364
	Sig. (bilateral)	0.114	0.260	0.423
Níquel	Correlación de Pearson	.c	.b	.a
	Sig. (bilateral)			.
Oro	Correlación de Pearson	0.472	0.716	0.403
	Sig. (bilateral)	0.238	0.492	0.501
Bismuto	Correlación de Pearson	0.234	0.615	0.049
	Sig. (bilateral)	0.383	0.105	0.907
Cromo (VI)	Correlación de Pearson	.c	.b	.a
	Sig. (bilateral)			.
Estaño	Correlación de Pearson	-0.653	-0.577	-0.703
	Sig. (bilateral)	0.160	0.608	0.504

La Tabla 34 analiza la relación entre la abundancia de taxones de microalgas y la concentración de metales pesados en el embalse Pasto Grande, utilizando el coeficiente de correlación de Pearson en los datos totales y en épocas de avenida y estiaje.

En el caso del mercurio, las correlaciones son también débiles y no significativas, pero levemente positivas en todos los contextos. En el análisis total, la correlación es de 0.258 (p = 0.272), mientras que en avenida y estiaje las correlaciones son 0.211 (p = 0.559) y 0.294 (p = 0.409), respectivamente. Esto sugiere que un aumento en las concentraciones de mercurio podría estar ligeramente asociado con mayores abundancias de taxones de microalgas, aunque esta relación no es estadísticamente relevante.

El cobalto tiene una correlación positiva alta con la abundancia de taxones de microalgas en el total (0.913, p = 0.030) y una correlación perfecta en avenida (1.000), indicando una relación fuerte y significativa. Esto sugiere que la presencia

de cobalto podría estar relacionada con un aumento en la proliferación de microalgas.

Metales como el cadmio y el zinc presentan correlaciones positivas moderadas, aunque no alcanzan significancia estadística, lo cual indica una posible pero no concluyente relación con la abundancia de taxones de microalgas. El cobre también muestra una relación positiva (0.416 en total), aunque sin significancia.

En contraste, el plomo y el talio presentan correlaciones negativas con la abundancia de taxones de microalgas en el total (-0.358 y -0.459, respectivamente) y en ambas épocas, sin llegar a ser significativas. Este patrón sugiere una posible disminución de la abundancia de taxones de microalgas en presencia de estos metales, aunque no es concluyente.

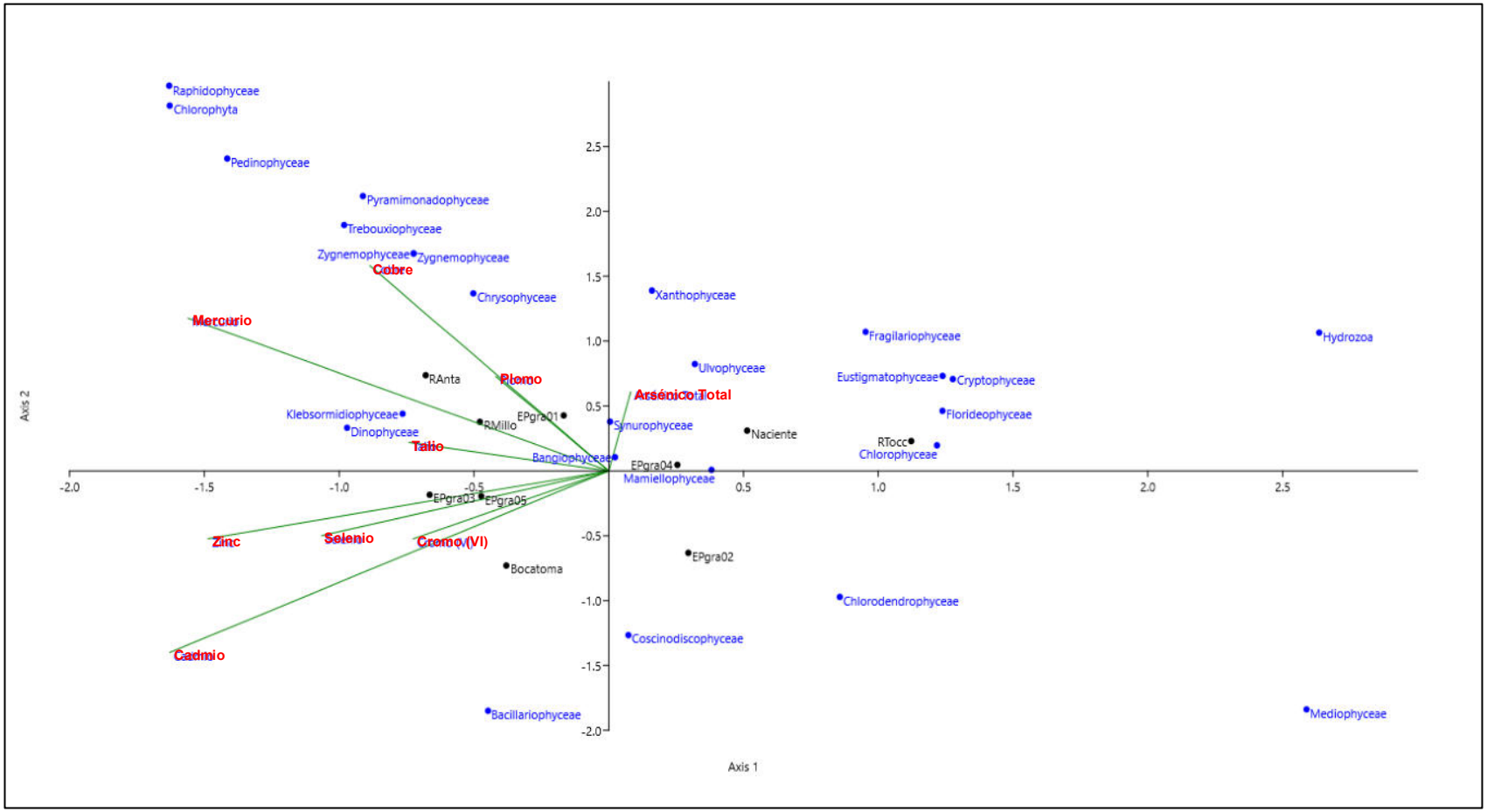
Finalmente, el estaño muestra una correlación negativa en el total (-0.653), indicando que su presencia podría estar inversamente relacionada con la abundancia de taxones de microalgas, aunque sin alcanzar significancia estadística.

El mercurio y el cobalto tienen las correlaciones positivas más destacadas con la abundancia de taxones de microalgas, especialmente el cobalto. Otros metales, como el plomo y el talio, sugieren una relación negativa, aunque sin ser concluyentes.

Análisis de correspondencia canónica.

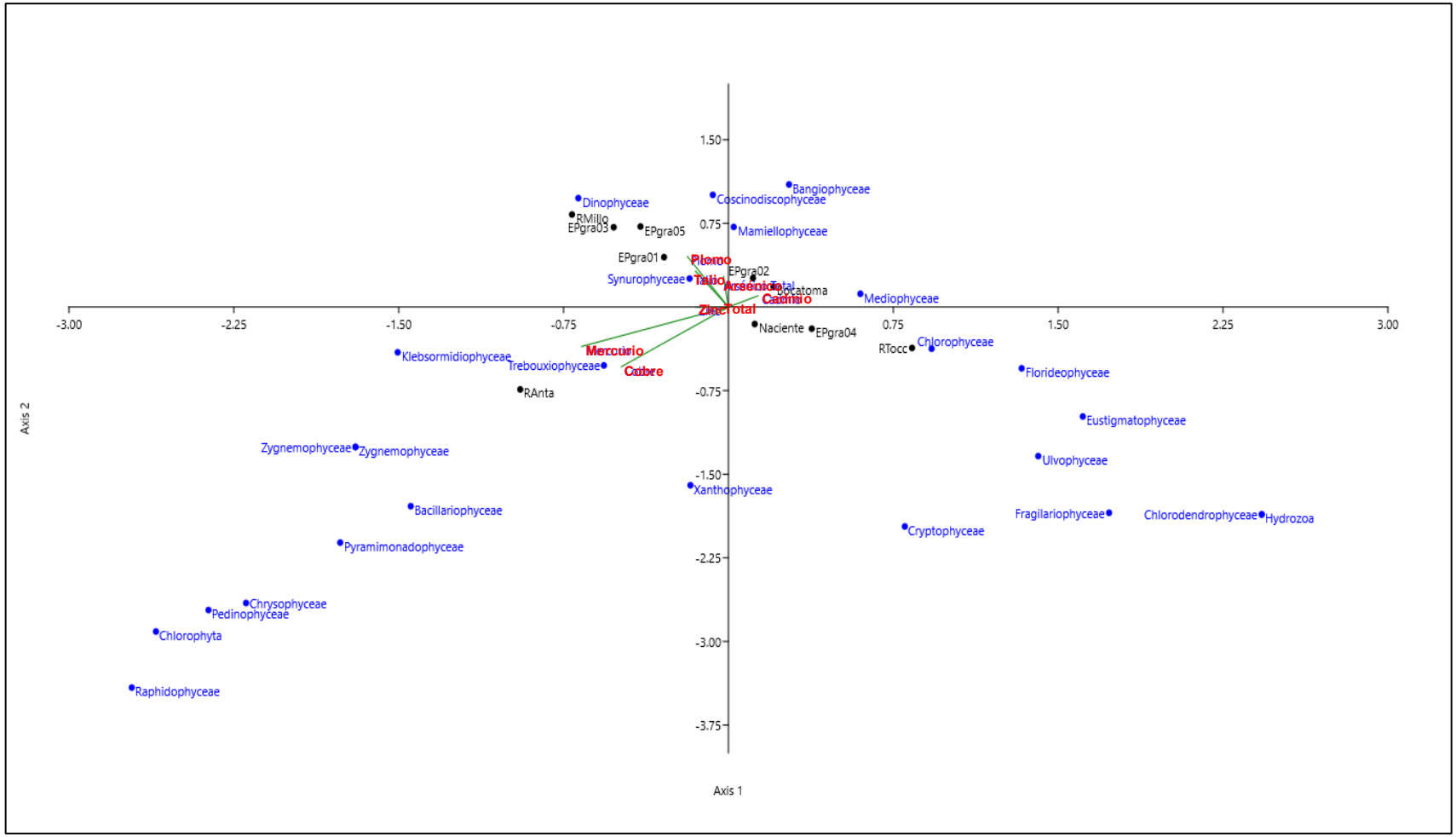
El análisis de correspondencia canónica (CCA) en PAST permitió evaluar la relación entre la abundancia de taxones de microalgas, la concentración de metales pesados y los puntos de muestreo en el embalse Pasto Grande. Dado que todas las microalgas contienen clorofila-*A*, su diversidad y abundancia reflejan la influencia de los metales pesados en la estructura de la comunidad microalgal, proporcionando una visión más integral de la dinámica ecológica del embalse.

Figura 78. *Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) entre las microalgas del taxón clase con los metales pesados en época de estiaje*



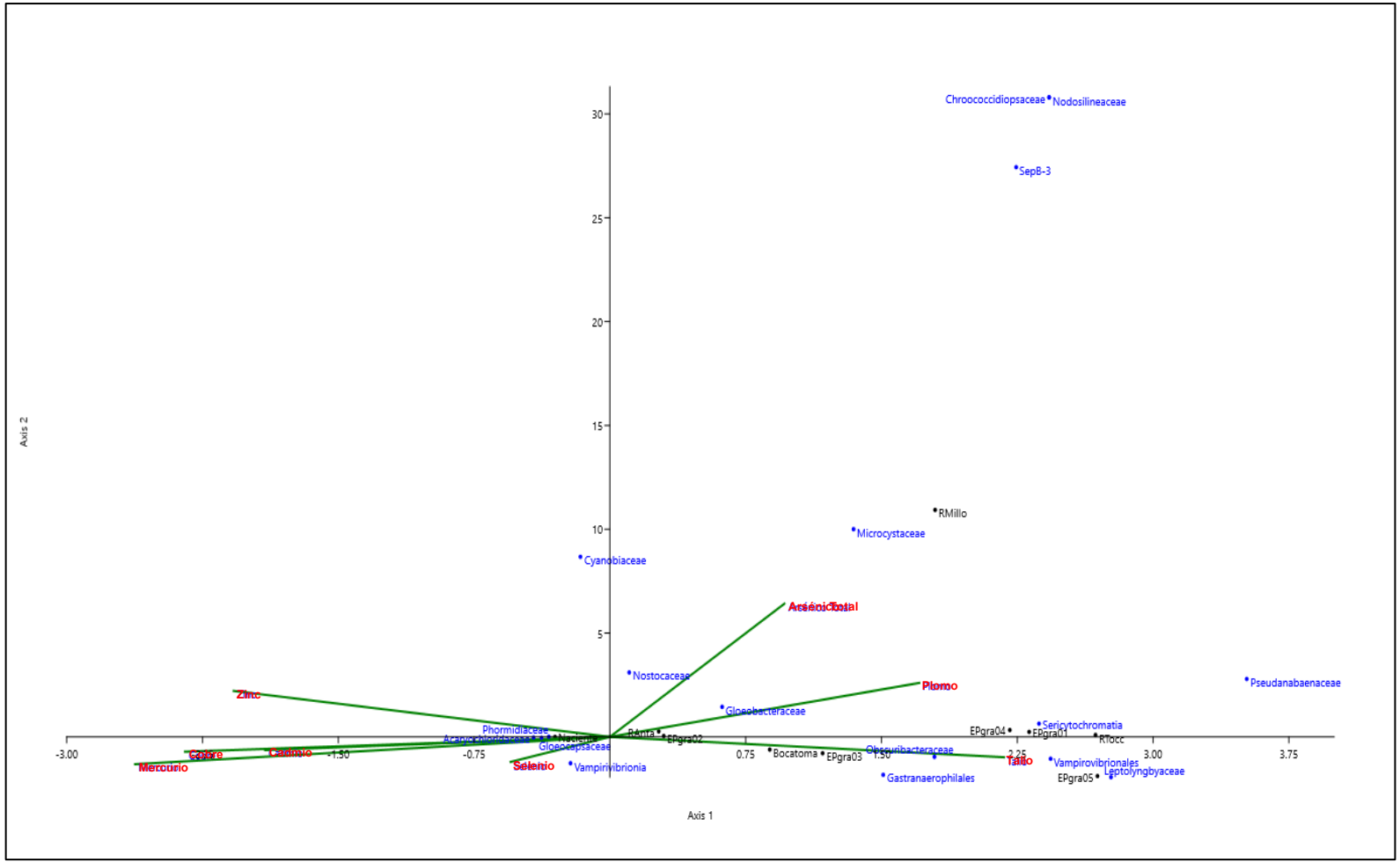
El análisis de correspondencia canónica (CCA) en la Figura 78 muestra la relación entre las distintas clases de microalgas, los sitios de muestreo y la concentración de metales pesados. Las flechas verdes representan la influencia de metales como Mercurio, Plomo, Arsénico Total, Talio, Zinc, Selenio, Cromo (VI) y Cadmio sobre la distribución de las microalgas en los diferentes puntos de muestreo. Se observa que las clases de microalgas *Klebsormidiophyceae*, *Dinophyceae* y *Trebouxiophyceae* están estrechamente asociadas con niveles elevados de metales como Cobre y Plomo, lo que sugiere una posible tolerancia o acumulación de estos elementos. Asimismo, *Bacillariophyceae* y *Coscinodiscophyceae* aparecen en la parte inferior del gráfico, cercanas a las concentraciones de Cadmio y Cromo (VI), lo que podría indicar su resistencia o sensibilidad a estos metales. Por otro lado, *Chlorodendrophyceae* y *Mediophyceae* se encuentran separadas del resto de las microalgas en el eje 1, lo que sugiere que su distribución responde a otros factores distintos a la contaminación por metales pesados. También se observa que *Fragilariophyceae*, *Cryptophyceae* y *Florideophyceae* están más dispersas en la parte derecha del gráfico, lo que podría estar relacionado con diferentes niveles de tolerancia o requerimientos ecológicos específicos. En términos generales, el gráfico evidencia la influencia de la contaminación por metales pesados en la distribución de las clases de microalgas, destacando grupos con mayor tolerancia que podrían servir como bioindicadores de contaminación en ecosistemas acuáticos.

Figura 79. *Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) entre las microalgas del taxón clase con los metales pesados en época de avenida*



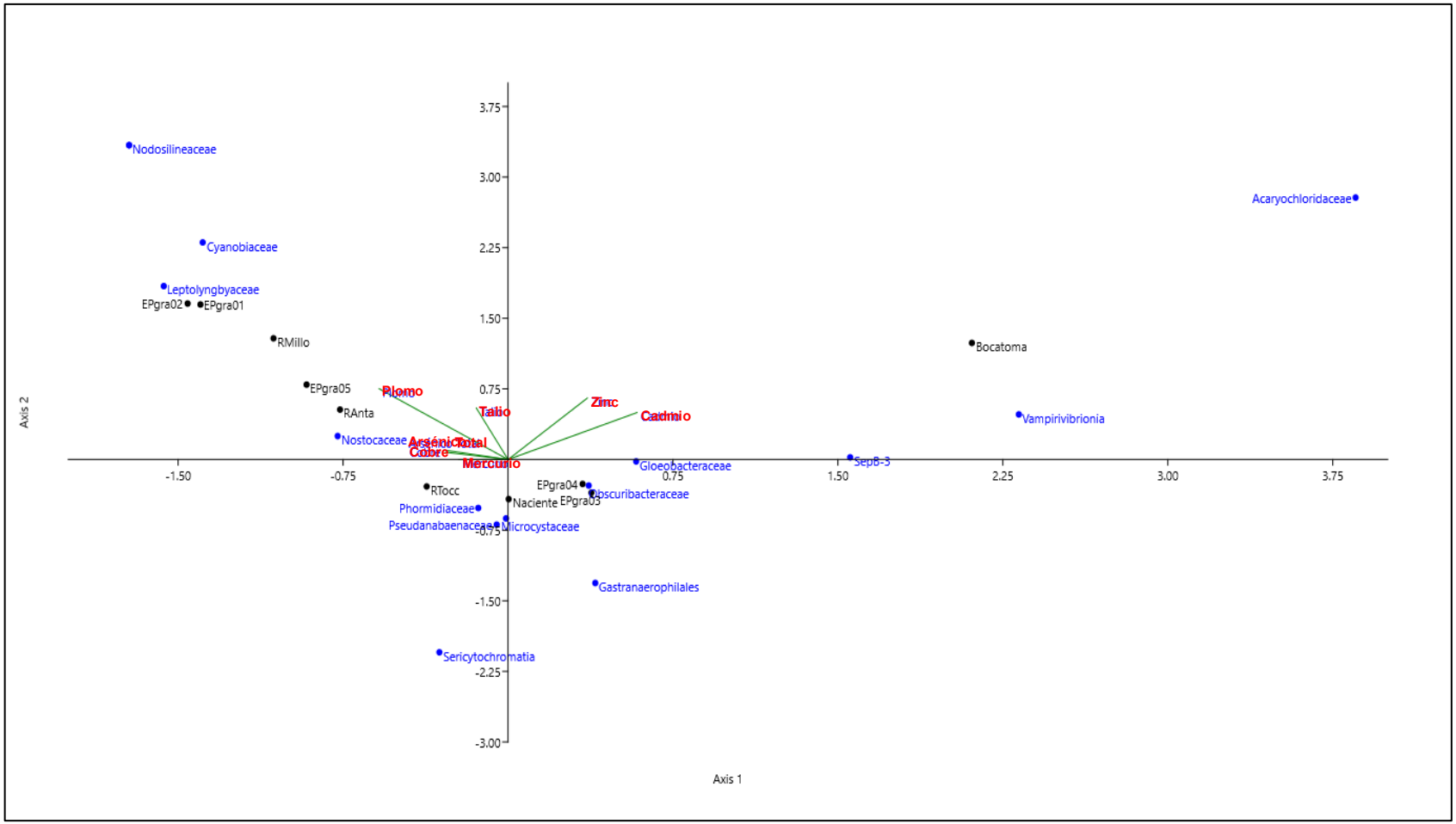
El análisis de correspondencia canónica (CCA) presentado en la Figura 79 muestra la relación entre las clases de microalgas, los sitios de muestreo y la presencia de metales pesados en el ecosistema estudiado. Las flechas verdes representan las variables ambientales (Plomo, Talio, Arsénico, Cadmio, Mercurio, Cobre y Zinc), donde su dirección indica la influencia de cada metal en la distribución de las clases de microalgas y su longitud refleja la magnitud de dicha influencia. Se observa que los sitios *EPgra01*, *EPgra02*, *Bocatoma* y *EPgra05* están fuertemente asociados a la presencia de Plomo, Talio, Arsénico y Cadmio, lo que sugiere que estas áreas tienen una mayor carga de estos contaminantes y podrían albergar clases con mayor tolerancia a ellos, como *Synurophyceae* y *Chlorophyceae*, que aparecen cercanas a estos metales. Por otro lado, *RAnta* y *RMillojahuira* muestran una relación con Mercurio y Cobre, sugiriendo que estas zonas tienen una composición química diferente y que clases de microalgas como *Treubouxiophyceae* y *Klebsormidiophyceae* podrían estar adaptadas a estas condiciones. En contraste, clases como *Cryptophyceae*, *Chlorodendrophyceae* y *Hydrozoa* se encuentran alejadas del centro, indicando una menor influencia de los metales pesados en su distribución. Además, la separación de ciertos grupos de microalgas, como *Xanthophyceae* y *Bacillariophyceae*, sugiere que pueden estar respondiendo a otras variables ambientales no representadas en este análisis. En términos generales, el gráfico refleja cómo la composición de las clases de microalgas está estructurada en función de la contaminación por metales pesados en cada sitio, permitiendo identificar clases bioindicadoras de contaminación y potenciales mecanismos de tolerancia o exclusión ecológica en respuesta a estos factores ambientales.

Figura 80. *Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) entre las cianobacterias del taxón familia con los metales pesados en época de estiaje*



El análisis de correspondencia canónica (CCA) en la Figura 80 muestra la relación entre las familias de cianobacterias, los sitios de muestreo y la concentración de metales pesados. Las flechas verdes representan la influencia de los metales como Mercurio, Cadmio, Zinc, Selenio, Arsénico Total y Plomo sobre la distribución de las cianobacterias. Se observa que los sitios *EPgra02*, *Bocatoma* y *EPgra03* están estrechamente relacionados con la presencia de Plomo y Arsénico Total, sugiriendo que familias como *Nostocaceae* y *Gloeobacteraceae* pueden ser bioindicadoras de estos contaminantes o tener cierto grado de tolerancia. Por otro lado, *EPgra05*, *EPgra01* y *EPgra04* se agrupan en el extremo derecho del eje 1, mostrando una posible asociación con Talio y otras condiciones ambientales específicas. El eje 2 resalta la separación de *Cyanobiaceae* y *Microcystaceae*, ubicadas en la parte superior, lo que indica que pueden estar influenciadas por factores distintos a los metales analizados. En contraste, *Phormidiaceae* y *Gloeopsidaceae* están cercanas a Selenio y Zinc, lo que sugiere una posible tolerancia a estos elementos. Además, *Mercurio* se encuentra en la zona extrema izquierda con escasa presencia de cianobacterias, lo que puede indicar un fuerte efecto tóxico que limita su proliferación. En términos generales, el gráfico muestra cómo la distribución de las familias de cianobacterias está determinada en gran medida por la contaminación con metales pesados, permitiendo identificar familias que podrían ser indicadoras ecológicas y reflejar el grado de impacto ambiental en la zona de estudio.

Figura 81. *Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) entre las cianobacterias del taxón familia con los metales pesados en época de avenida*



El análisis de correspondencia canónica (CCA) en la Figura 81 muestra la distribución de las familias de cianobacterias en relación con los sitios de muestreo y las concentraciones de metales pesados. Las flechas verdes indican la influencia de metales como Plomo, Arsénico Total, Cobre, Talio, Mercurio, Zinc y Cadmio sobre la distribución de las cianobacterias en los distintos sitios. Se observa que *Nostocaceae* y *Pseudanabaenaceae* están estrechamente asociadas con niveles elevados de Arsénico Total y Cobre, lo que sugiere una posible tolerancia o bioacumulación de estos metales. Por otro lado, *Leptolyngbyaceae* y *Cyanobiaceae* están ubicadas en la parte superior izquierda, cercanas a los sitios *EPgra02* y *EPgra01*, indicando que su presencia podría estar influenciada por otros factores ambientales además de los metales pesados. En contraste, *Acaroychloridaceae* se encuentra en el extremo derecho del eje 1, lo que sugiere una distribución diferenciada y potencialmente menos afectada por los metales analizados. La presencia de *Gloeobacteraceae* cerca del eje central y su asociación con Cadmio y Zinc sugiere una posible resistencia a estos metales. Finalmente, la separación de *Sericytochromatia* y *Gastranaerophilales* en la parte inferior del gráfico indica que estas familias pueden estar influenciadas por factores diferentes a los considerados en este análisis. En términos generales, el gráfico evidencia cómo la contaminación por metales pesados juega un papel clave en la distribución de las familias de cianobacterias, destacando algunas familias con mayor tolerancia o potencial uso como bioindicadores.

4.2 Discusión

4.2.1 Analizar la asociación entre la diversidad filogenética de microalgas y presencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida.

Durante las épocas de estiaje y avenida, se observan diferencias claras en la abundancia relativa de las microalgas por clase. En la época de avenida, *Chlorophyceae* y *Dinophyceae* dominan la comunidad de microalgas, lo que podría reflejar un entorno acuático con ciertas concentraciones de nutrientes, promoviendo el crecimiento de estas clases, especialmente de las cianobacterias que pertenecen a las familias *Phormidiaceae* y *Leptolyngbyaceae*, las cuales son comúnmente asociadas con la proliferación de cianotoxinas. Este patrón es consistente con

estudios previos como el de Sadegh et al., (2021) y Shchapov et al., (2024) que analizaron las relaciones entre las variables limnológicas y biológicas, así como también determinados niveles de nutrientes, como nitrógeno y fósforo que favorecían la proliferación de cianobacterias productoras de toxinas en cuerpos de agua. En contraste, en la época de estiaje, aunque la clase *Chlorophyceae* sigue siendo dominante, se observa una disminución en su proporción en comparación con la época de avenida, lo que sugiere que el estrés ambiental asociado a las bajas precipitaciones o la alteración del caudal de agua podría estar afectando la capacidad de proliferación de estos taxones microalgales. Esto coincide con lo descrito por Borrego-Ramos et al., (2023) y X. Liu et al., (2025), quienes atribuyen el predominio de diatomeas en épocas secas a su mayor capacidad de tolerancia al estrés ambiental, como temperaturas elevadas y baja disponibilidad hídrica. En este caso, el patrón observado no contradice los hallazgos previos, pero sí plantea una interpretación alternativa: la dominancia de taxones resistentes durante la época de estiaje podría actuar como un mecanismo de regulación natural frente a posibles floraciones tóxicas. Asimismo, la abundancia de cianobacterias también mostró fuerte variabilidad estacional. En avenida, familias como *Phormidiaceae* y *Microcystaceae* tuvieron mayor representación, lo cual ha sido previamente documentado como un indicador de riesgo potencial por cianotoxinas (Paerl & Otten, 2013). Sin embargo, la sola presencia de estos taxones no debe ser interpretada como sinónimo de toxicidad, ya que múltiples estudios, como el de Hudnell, (2008) han demostrado que la expresión de genes responsables de la producción de toxinas es altamente dependiente de condiciones fisiológicas específicas, no siempre presentes incluso en contextos de alta biomasa cianobacteriana. Esta característica se vuelve notoria en los puntos de muestreo donde, a pesar de detectar abundantes cianobacterias, no se identificaron taxones claramente productores de cianotoxinas. En estiaje, en cambio, se registró un incremento en la diversidad de cianobacterias, destacando familias como *Leptolyngbyaceae* y *Obscuribacteraceae*. Esta composición sugiere una posible adaptación de estas cianobacterias a condiciones de estrés hídrico, tal como lo demuestran Magonono et al., (2018) y Blank & Hinman, (2016), quienes evidencian la capacidad fisiológica de ciertos taxones para persistir en ambientes salinos, con baja disponibilidad de agua y alta radiación solar. La presencia de estos grupos durante el estiaje puede ser interpretada como un indicador de resiliencia ecológica,

pero también como una advertencia, ya que, bajo condiciones adecuadas, estas familias podrían manifestar toxicidad. Si bien no se observaron niveles generalizados de cianotoxinas en las muestras, el hallazgo de taxones potencialmente productores en puntos específicos, como el caso del Naciente en estiaje, resalta la necesidad de establecer sistemas de monitoreo preventivo. Este enfoque está respaldado por Gobler, (2020), quien propone que los programas de vigilancia deben considerar no solo la cantidad, sino también la calidad filogenética de las comunidades microalgales y cianobacterianas, especialmente durante temporadas críticas como el verano o el estiaje. En conjunto, los resultados permiten validar la hipótesis del estudio, en tanto se demuestra que es posible analizar la asociación entre la diversidad filogenética y la presencia de taxones productores de cianotoxinas, aunque dicha relación no sea lineal ni uniforme. Las evidencias sugieren que más allá de la abundancia, es la identidad filogenética y las condiciones ambientales las que definen el riesgo potencial de toxicidad. En este sentido, la metagenómica se posiciona como una herramienta robusta y pertinente para la gestión ambiental del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios, permitiendo no solo caracterizar la biodiversidad presente, sino también anticipar escenarios de riesgo para la salud pública y la biodiversidad acuática.

4.2.2 Comparar las concentraciones de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios con los Estándares de Calidad Ambiental durante las épocas de estiaje y avenida

Los resultados obtenidos evidencian que varias concentraciones de metales pesados superaron los límites establecidos por los ECA, en especial durante la época de estiaje, cuando el caudal es reducido. Este patrón sugiere una mayor concentración de contaminantes debido a la disminución del volumen de agua, lo que dificulta la dilución natural de los metales. Asimismo, se observaron diferencias significativas entre los puntos de muestreo, lo que indica una distribución espacial heterogénea de la contaminación. En cuanto al arsénico, aunque su concentración se mantuvo mayormente dentro de los parámetros aceptables, su incremento en ciertas zonas durante el estiaje coincide con lo observado por Zulaicha, (2024), quien identificó que en condiciones de evaporación intensa y bajo caudal, los elementos traza tienden a concentrarse en cuerpos de agua artificiales. Esta

acumulación representa un riesgo potencial en el largo plazo, considerando su persistencia y toxicidad acumulativa. Por otro lado, el cadmio y el plomo mostraron patrones de comportamiento similares en cuanto a su variación estacional, con valores superiores en época seca. Este resultado se relaciona estrechamente con lo mencionado por Liang et al., (2024), quienes hallaron que en ríos de zonas mineras altoandinas, la disminución del caudal favorece la reactivación de sedimentos contaminados. Además, la presencia constante de estos metales en varios puntos de muestreo indica una fuente continua de contaminación, lo que podría deberse a actividades agrícolas con uso de fertilizantes fosfatados, como señala Ugochukwu et al., (2022), además de descargas no reguladas provenientes de pasivos mineros. Respecto al cobre, los valores observados superan los límites permisibles en algunas zonas, especialmente en estiaje. Esto concuerda con Pan et al., (2024), quienes describen que, en sistemas acuáticos andinos, la lixiviación de minerales sulfúricos en ambientes ácidos intensifica la movilidad del cobre. La interacción entre el pH y este metal es crítica, ya que en valores ácidos su toxicidad sobre los organismos acuáticos aumenta significativamente, lo que también ha sido documentado por Baby et al., (2011). En este mismo sentido, el estudio desarrollado por el Gobierno Regional de Moquegua & CONSORCIO V-5, (2012) evidenció que la acidez del agua en el embalse Pasto Grande se debía a la oxidación de compuestos sulfuroso en los cerros producto de la deglaciación, lo que reducía el pH y favorecía la disolución de metales en el sistema hídrico. Estos hallazgos respaldan la relación observada en la presente investigación entre el descenso del pH y el incremento en la concentración y toxicidad de los metales pesados como el cadmio, cobre y zinc. El mercurio, en cambio, se mantuvo en niveles elevados durante ambas estaciones en varios puntos. Este comportamiento evidencia una posible fuente crónica de contaminación que, de acuerdo con Zhao et al., (2024), podría estar asociada a procesos de biomagnificación y liberación desde sedimentos anóxicos. En sistemas como el de Pasto Grande, donde existe una alta carga de material suspendido y condiciones variables de oxígeno disuelto, el mercurio puede transformarse en metilmercurio, la forma más tóxica y bioacumulativa, lo que incrementa el riesgo ecológico. El talio y el selenio también superaron los límites en ciertas áreas, lo que resulta preocupante considerando la escasez de estudios sobre su presencia en cuerpos de agua altoandinos. F. Sun et al., (2022) explican que estos elementos, aunque menos monitoreados, poseen alta toxicidad y pueden

ingresar fácilmente a las cadenas tróficas. En particular, la correlación positiva observada entre el talio y el oxígeno disuelto, similar a lo reportado por Zhuang & Song, (2021), podría estar relacionada con su comportamiento redox, lo que sugiere que en condiciones de oxigenación elevada se favorece su solubilidad. Finalmente, el zinc, aunque considerado un micronutriente esencial, también superó los valores permitidos en diversos puntos. Esto se alinea con los hallazgos de Bordin et al., (2024), quienes demostraron que incluso concentraciones moderadamente elevadas de zinc pueden afectar la reproducción y el desarrollo de organismos acuáticos sensibles. Este patrón se relaciona con la baja alcalinidad del agua en ciertas estaciones, lo cual facilita su biodisponibilidad. El análisis de correlación entre los metales pesados y los parámetros fisicoquímicos refuerza las observaciones anteriores. El descenso del pH observado en puntos como RPata, RAnta y RMillo coincide con las concentraciones elevadas de metales como cadmio, cobre y zinc. Esta relación, ya documentada por Baby et al., (2011), resalta que la acidificación del agua no solo promueve la solubilidad de los metales, sino que también incrementa su toxicidad. A pesar de que algunas correlaciones no resultaron estadísticamente significativas, los patrones observados permiten inferir una fuerte influencia de las condiciones fisicoquímicas sobre la movilidad y comportamiento de los metales. En síntesis, la comparación con los ECA ha revelado que el sistema hídrico del embalse Pasto Grande y sus tributarios presenta signos de estrés ambiental derivados de la acumulación de metales pesados, especialmente durante el estiaje. Los patrones detectados no solo coinciden con investigaciones previas realizadas en zonas altoandinas, sino que también advierten sobre la necesidad de realizar un monitoreo constante, considerando las condiciones estacionales y fisicoquímicas que agravan la contaminación. Frente a ello, se hace urgente identificar las fuentes específicas de estos metales, implementar medidas de mitigación adecuadas y fortalecer las políticas de protección ambiental en la cuenca.

4.2.3 Determinar la asociación entre las concentraciones de clorofila A y metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida

Si bien se observaron ciertas tendencias, la correlación entre clorofila-*A* y metales pesados fue débil, lo que sugiere una relación compleja y multifactorial. Este hallazgo es congruente con lo planteado por Niampradit et al., (2024), quienes indican que los efectos de los metales pesados sobre las microalgas dependen no solo de la concentración del contaminante, sino también de la clase algal, la disponibilidad del metal y las condiciones ambientales. El patrón de mayor concentración de clorofila-*A* durante el estiaje coincide con lo descrito por Furtado et al., (2024) y Burford et al., (2012), quienes afirman que la reducción del caudal en la época seca puede provocar una menor dilución de nutrientes, favoreciendo condiciones de estabilidad física y química que permiten el desarrollo de las microalgas. Este fenómeno también ha sido reportado por Hajong & Ramanujam, (2018), quienes observaron que los ambientes con escasa movilidad hídrica tienden a acumular nutrientes, lo cual intensifica la productividad primaria. Sin embargo, aunque tales condiciones podrían favorecer el crecimiento algal, no se identificó una relación directa entre la concentración de metales pesados y el aumento de la clorofila A. En cuanto al mercurio, un metal conocido por su alta toxicidad, los datos obtenidos no revelaron una correlación significativa con la productividad algal. Gojkovic et al., (2023) explican que esta falta de relación puede deberse a la afinidad del mercurio por los sedimentos, reduciendo su biodisponibilidad para los organismos fotosintéticos. Además, como sostienen Das et al., (2023), el mercurio ejerce sus efectos más tóxicos en forma de metilmercurio, el cual puede ingresar a niveles tróficos superiores, sin necesariamente impactar directamente a las microalgas. Respecto al plomo y al cadmio, sí se identificaron ligeras tendencias que sugieren un efecto inhibitorio sobre la concentración de clorofila-*A* en ciertos puntos de muestreo, lo cual guarda relación con lo descrito por L. J. Xiao et al., (2021) y Godlewska et al., (2023), quienes documentan que ambos metales pueden interferir con la fotosíntesis algal. Estos autores resaltan que la alteración estructural de las células microalgales, inducida por metales pesados, puede impactar negativamente la tasa de crecimiento y la productividad primaria. Del mismo modo, Deyab et al., (2024) sostienen que la toxicidad metálica puede obstaculizar la

síntesis de clorofila, afectando la eficiencia fotosintética. A pesar de ello, en el presente estudio estas correlaciones fueron débiles, lo que refuerza la noción de que factores como la disponibilidad de nutrientes, la temperatura y el pH tienen un peso comparable o incluso mayor en la regulación de la productividad algal. En este contexto, el estudio del Gobierno Regional de Moquegua & CONSORCIO V-5, (2012) demostró que la acidificación del agua en Pasto Grande, producto de la oxidación de sulfuros en los cerros, reducía el pH y favorecía la disolución de metales. Este proceso, al igual que lo observado en la presente investigación, puede influir indirectamente en la productividad algal al modificar la biodisponibilidad de nutrientes y la interacción de los metales con las comunidades microalgales. Asimismo, si bien no se detectaron relaciones estadísticamente fuertes entre la abundancia de taxones de microalgas y los metales pesados, estudios como el de Saidon & Szab, (2024) advierten sobre los efectos acumulativos de estos contaminantes, los cuales pueden reducir la biodiversidad algal y modificar la estructura de las comunidades. En esa línea, Sanseverino et al., (2022) indican que el plomo puede inducir desequilibrios en las poblaciones algales, favoreciendo a clases más resistentes y desplazando a las más sensibles, lo cual podría explicar ciertos patrones observados en puntos como EPgra01 y Bocatoma. Estas dinámicas no solo son relevantes desde una perspectiva ecológica, sino también para el manejo y recuperación de cuerpos de agua expuestos a contaminantes metálicos. En conjunto, los resultados respaldan parcialmente la hipótesis planteada, al mostrar que si bien es posible identificar una asociación entre metales pesados y clorofila-*A*, dicha relación no es uniforme ni fuerte en todos los casos. Esto concuerda con la literatura que enfatiza la necesidad de considerar múltiples variables para comprender la dinámica algal en ecosistemas acuáticos impactados por la contaminación.

V. CONCLUSIONES

1. La diversidad filogenética de microalgas varía significativamente en la época de estiaje y avenida, evidenciando mayor diversidad en estiaje con predominio de los taxones *Bacillariophyceae* y *Trebouxiophyceae* y un marcado predominio de los taxones *Chlorophyceae* y *Dinophyceae* en avenida. Además, la coexistencia de diatomeas y cianobacterias, potencialmente productoras de cianotoxinas, confirma que la posible presencia de toxinas depende de la interacción entre la composición microalgal y las condiciones ambientales (ingreso excesivo de nitrógeno y fósforo, temperaturas elevadas, alta radiación solar y bajo flujo hídrico), por lo cual no se evidenció floraciones algales en el embalse Pasto Grande.
2. Durante el estiaje las concentraciones de metales pesados (cadmio, mercurio, plomo y zinc) superan los límites establecidos por los Estándares de Calidad Ambiental, principalmente debido a condiciones de pH ácido que facilitan su solubilidad y movilidad. Estos niveles elevados evidencian que la contaminación del embalse Pasto Grande tiene tanto un origen natural, asociado a procesos geoquímicos propios de la cuenca, como también origen antropogénico relacionado a actividades humanas aledañas a la zona.
3. El leve incremento de clorofila-*A* en el embalse Pasto Grande durante la época de estiaje, está asociado a la mayor estabilidad de las condiciones ambientales y al menor flujo de agua, que favorecen la retención de nutrientes y la productividad microalgal. La débil correlación observada entre la concentración de clorofila-*A* y los niveles de metales pesados bajo las condiciones actuales, no ejercen un efecto limitante directo sobre la productividad microalgal.
4. Finalmente, se concluye en el presente estudio que el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios evidencia una dinámica compleja en la composición de taxones microalgales y la calidad del agua, donde factores ambientales, estacionales y antropogénicos interactúan para influir en la diversidad filogenética microalgal y la concentración de metales pesados en este ecosistema.

VI. RECOMENDACIONES

Dado que se evidenció una variación significativa en la diversidad filogenética de microalgas entre las épocas de estiaje y avenida, se recomienda para el primer objetivo específico profundizar en estudios que identifiquen con precisión los taxones potencialmente productores de cianotoxinas mediante herramientas de biología molecular y análisis toxicológicos. Se sugiere fomentar investigaciones que evalúen la influencia de factores abióticos, como temperatura, nutrientes y radiación solar, sobre la composición y potencial toxicidad de las comunidades algales, aspectos que no pudieron ser completamente abordados en este estudio.

Considerando que las concentraciones de cadmio, mercurio, plomo y zinc superaron los Estándares de Calidad Ambiental en varios puntos durante el estiaje, se recomienda para el segundo objetivo específico desarrollar estudios orientados a identificar con mayor precisión las fuentes de contaminación, diferenciando las de origen natural de las antropogénicas. Asimismo, se sugiere implementar acciones piloto de remediación ambiental en los puntos críticos identificados (como RPata, RAnta y RMillo), utilizando tecnologías de neutralización de pH o tratamientos de reducción de metales. Además, sería pertinente revisar la pertinencia de los actuales estándares ambientales en relación con las condiciones hidrogeográficas de la región, de modo que las normativas reflejen mejor la realidad ecológica local.

A pesar de no encontrarse una correlación significativa entre la clorofila-*A* y las concentraciones de metales pesados, se recomienda para el tercer objetivo específico continuar con el monitoreo a largo plazo de estos parámetros para detectar posibles efectos acumulativos. Paralelamente, se deben realizar estudios que exploren la dinámica de nutrientes esenciales como el nitrógeno y el fósforo, especialmente durante la época de estiaje, cuando se observó un leve aumento en la productividad algal. Asimismo, es fundamental investigar la bioacumulación de metales en organismos acuáticos superiores y el efecto de estos contaminantes en la red trófica, así como fomentar investigaciones sobre la resistencia microalgal a condiciones de contaminación crónica. Finalmente, ampliar el número de puntos de muestreo y comparar los resultados con otras cuencas mineras permitirá contextualizar los hallazgos de esta investigación.

En conjunto, y considerando los hallazgos obtenidos, se recomienda establecer una línea de base más robusta sobre la composición microalgal y la calidad del agua en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios, integrando estudios multidisciplinarios que incluyan análisis genómicos, fisicoquímicos y ecológicos. Esta información será clave para desarrollar estrategias efectivas de monitoreo, prevención y remediación en ecosistemas afectados por la actividad minera y el cambio climático. Además, se alienta a futuras investigaciones a profundizar en los aspectos que no pudieron ser abordados en el presente estudio, con el fin de contribuir a una gestión ambiental sostenible y científicamente informada de los cuerpos de agua de la región Moquegua.

Por último, profundizar estudios acerca de la resistencia de determinados taxones de microalgas a ciertos metales pesados para su uso como potenciales biorremediadores.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acharya, K., Blackburn, A., Mohammed, J., & Tamiru, A. (2020). Metagenomic water quality monitoring with a portable laboAcharya, K., Blackburn, A., Mohammed, J., & Tamiru, A. (2020). Metagenomic water quality monitoring with a portable laboratory. Water Research, January.ratory. *Water Research*, *January*.

Ahmad, T., Gupta, G., Sharma, A., Kaur, B., El-, M. A., Nasser, M., & Id, A. (2021). *Metagenomic analysis exploring taxonomic and functional diversity of bacterial communities of a Himalayan urban fresh water lake*. 1–19. https://doi.org/doi.org/10.1371/journal.pone.0248116

Ahmad, T., Singh, R. S., Gupta, G., Sharma, A., & Kaur, B. (2019). Metagenomics in the Search for Industrial Enzymes. In *Advances in Enzyme Technology, First Edition*. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64114-4.00015-7

Akaçin, İ., Ersoy, Ş., Doluca, O., & Güngörmüşler, M. (2022). Comparing the significance of the utilization of next generation and third generation sequencing technologies in microbial metagenomics. *Microbiological Research*, *264*(July), 0–2. https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127154

Alexander, A. C., Chambers, P. A., & Jeffries, D. S. (2017). Science of the Total Environment Episodic acidi fi cation of 5 rivers in Canada ' s oil sands during snowmelt : A 25-year record. *Science of the Total Environment*, *599–600*, 739–749. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.207

Alotaibi, M. O., Mohammed, A. E., & Eltom, K. H. (2022). Metagenomic analysis of bacterial communities of Wadi Namar Lake, Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *29*(5), 3749–3758. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.001

Amrane, S., & Lagier, J. (2018). *Metagenomic and clinical microbiology*. *9*(July), 1–6. https://doi.org/10.1016/j.humic.2018.06.001

Andrev, L. (2023). *Limnology : Understanding the Earth ' s Freshwater Ecosystems Poultry , Fisheries & Wildlife Sciences*. 1–2. https://doi.org/10.35248/2375-446X.23.11.243

Arias, J., & Covinos, M. (2021). Diseño y metodología de la investigación. In *Enfoques Consulting EIRL*. https://repositorio.concytec.gob.pe/handle/20.500.12390/2260

Autoridad Nacional del Agua (ANA). (2016). *Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales.pdf*.

Baby, J., Raj, J., Biby, E., Sankarganesh, P., Jeevitha, M., Ajisha, S., & Rajan, S. (2011). Toxic effect of heavy metals on aquatic environment. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *4*(4), 939–952. https://doi.org/10.4314/ijbcs.v4i4.62976

Backer, L. C., & Miller, M. (2016). Sentinel animals in a one health approach to harmful cyanobacterial and algal blooms. *Veterinary Sciences*, *3*(2). https://doi.org/10.3390/vetsci3020008

Baud, A., Smol, J. P., Meyer-jacob, C., Paterson, M., Francus, P., & Gregory-eaves, I. (2023). The impacts of whole-lake acidification and eutrophication on the accumulation of lead in sediments from manipulated lakes in the Experimental Lakes Area (IISD-ELA) ☆. *Environmental Pollution*, *317*(October 2022), 120829. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120829

bbe Moldaenke. (2023). *AlgaeTorch, Instrumento práctico para una rápida medida*. https://www.bbe-moldaenke.de/es/productos/clorofila/detalles/algaetorch.html

Betiku, O. C., Sarjeant, K. C., Ngatia, L. W., Aghimien, M. O., Odewumi, C. O., & Latinwo, L. M. (2021). Evaluation of microbial diversity of three recreational water bodies using 16S rRNA metagenomic approach. *Science of the Total Environment*, *771*. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144773

Bhattacharjee, T., Konwar, A., Boruah, J. S., Chowdhury, D., & Majumdar, G. (2023). A sustainable approach for heavy metal remediation from water using carbon dot based composites: A review. *Journal of Hazardous Materials Advances*, *10*(October 2022), 100295. https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2023.100295

Bioresearch, & GD Technologies. (n.d.). *Glosario de términos genéticos*. 24. https://webs.um.es/jalozate/recursos-docentes/Areas/General/Ayudas_docentes/Glosario/Glosario/43.htm

Blank, C. E., & Hinman, N. W. (2016). Cyanobacterial and algal growth on chitin as a source of nitrogen; ecological, evolutionary, and biotechnological implications. *Algal Research*, *15*, 152–163. https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.02.014

Bomilla Roso, G., Souza, V., & Eguiartea, L. E. (2008). *METAGENÓMICA, GENÓMICA Y ECOLOGÍA MOLECULAR: LA NUEVA ECOLOGÍA EN EL BICENTENARIO DE DARWIN*. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43211943005

Bordin, E. R., Ramsdorf, W. A., Lotti Domingos, L. M., de Souza Miranda, L. P., Mattoso Filho, N. P., & Cestari, M. M. (2024). Ecotoxicological effects of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) on aquatic organisms: Current research and emerging trends. *Journal of Environmental Management*, *349*(October 2023), 119396. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119396

Borrego-Ramos, M., Rimet, F., Bécares, E., & Blanco, S. (2023). Environmental drivers of genetic variability in common diatom genera: Implications for shallow lake biomonitoring. *Ecological Indicators*, *154*(August). https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.110898

Briland, R. D., Stone, J. P., Manubolu, M., Lee, J., & Ludsin, S. A. (2020).

Cyanobacterial blooms modify food web structure and interactions in western Lake Erie. *Harmful Algae*, *92*(March 2019), 101586. https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.03.004

Brooks, B. W., Lazorchak, J. M., Howard, M. D. A., Johnson, M. V. V., Morton, S. L., Perkins, D. A. K., Reavie, E. D., Scott, G. I., Smith, S. A., & Steevens, J. A. (2016). Are harmful algal blooms becoming the greatest inland water quality threat to public health and aquatic ecosystems? *Environmental Toxicology and Chemistry*, *35*(1), 6–13. https://doi.org/10.1002/etc.3220

Brooks, B. W., Lazorchak, J. M., Howard, M. D. A., Johnson, M. V. V., Morton, S. L., Perkins, D. A. K., Reavie, E. D., Scott, G. I., Smith, S. A., & Steevens, J. A. (2017). In some places, in some cases, and at some times, harmful algal blooms are the greatest threat to inland water quality. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *36*(5), 1125–1127. https://doi.org/10.1002/etc.3801

Burford, M. A., Webster, I. T., Revill, A. T., Kenyon, R. A., Whittle, M., & Curwen, G. (2012). Controls on phytoplankton productivity in a wet-dry tropical estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *113*, 141–151. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2012.07.017

Carrasco Díaz, S. (2006). *Metodología de la investigación científica*. 239.

Carril, M., San Martin, R., & Domínguez, E. (2008). Palladium and copper-catalysed arylation reactions in the presence of water, with a focus on carbon–heteroatom bond formation. *Chemical Society Reviews*, *37*(4), 639–647. https://doi.org/10.1039/b709565c

Chen, L., Zhao, J., Zhang, Z., Shen, Z., Dong, W., Ma, R., Chen, J., Niu, L., Chen, S., Wu, D., Liu, J., & Zhou, A. (2022). Lake eutrophication in northeast China induced by the recession of the East Asian summer monsoon. *Quaternary Science Reviews*, *281*, 107448. https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2022.107448

Chow, V., Maidment, D. R., & Mays, L. W. (1998). *Applied Hydrology*.

Corcoran, D. (2019). *Practicos de Bioestadística 2*. https://derek-corcoran-barrios.github.io/AyduantiaStats/_book/AyduantiaStats.pdf

Custodio, M., Huaraca-meza, F., Cruz-solano, H. De, Peñaloza, R., & Alvarado-ibañez, J. C. (2021). Scientia Agropecuaria Bacterial composition in maca (Lepidium meyenii Walp) crop soils analyzed by metagenomics : a study in the central Andes of Peru Composición bacteriana en suelos de cultivo de maca (Lepidium meyenii Walp). *Scientia Agropecuaria*, *12*(2), 175–183.

Das, B. K., Kumari, K., Kumar, S., & Kush, A. (2023). *Impacts of Mercury Toxicity in Aquatic Ecosystem : A Review IMPACTS OF MERCURY TOXICITY IN AQUATIC ECOSYSTEM : A REVIEW*. *July*. https://doi.org/10.48047/ecb/2023.12.si10.00174

Del Giudice, D., Fang, S., Scavia, D., Davis, T. W., Evans, M. A., & Obenour, D.

R. (2021). Elucidating controls on cyanobacteria bloom timing and intensity via Bayesian mechanistic modeling. *Science of the Total Environment*, *755*, 142487. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142487

Deyab, M. A., El-adl, M. F., Khafaga, M. M., & Ahmed, S. E. A. (2024). *Microalgal Distribution in Relation to Water Quality at North Damietta ,*. *14*(2), 52–65. https://doi.org/10.21608/SJDFS.2024.290594.1169

Dolšak, N., & Prakash, A. (2018). The politics of climate change adaptation. *Annual Review of Environment and Resources*, *43*, 317–341. https://doi.org/10.1146/annurev-environ-102017-025739

Du, C., Yang, F., Li, X., Liao, H., Li, Z., Gao, J., & Zhang, L. (2022). Metagenomic analysis of microbial community structure and distribution of resistance genes in Daihai Lake, China. *Environmental Pollution*, *302*(September 2021), 119065. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119065

Duan, X., Zhang, C., Struewing, I., Li, X., Allen, J., & Lu, J. (2022). Cyanotoxin-encoding genes as powerful predictors of cyanotoxin production during harmful cyanobacterial blooms in an inland freshwater lake: Evaluating a novel early-warning system. *Science of the Total Environment*, *830*, 154568. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154568

Duan, Y., Chen, X., Huang, Y., Zhang, Y., Wang, P., Duan, X., Qin, X., Zou, Y., Deng, Z., & Zhao, Q. (2023). Potential risk of eutrophication in the deepest lake of Southwest China : Insights from phosphorus enrichment in bottom water. *Journal of Contaminant Hydrology*, *253*(May 2022), 104127. https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2022.104127

Duka, M. A., Shintani, T., & Yokoyama, K. (2021). Thermal stratification responses of a monomictic reservoir under different seasons and operation schemes. *Science of the Total Environment*, *767*, 144423. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144423

Esdaile, L. J., & Chalker, J. M. (2018). *The Mercury Problem in Artisanal and Small-Scale Gold Mining*. 6905–6916. https://doi.org/10.1002/chem.201704840

Faria, C. S., Pedron, T., & Batista, B. L. (2020). *Chemosphere Isolation and characterization of bacteria from a brazilian gold mining area with a capacity of arsenic bioaccumulation*. *240*. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124871

Folke, C., Österblom, H., Jouffray, J., Lambin, E., Adger, W. N., Scheffer, M., Crona, B., Nyström, M., Anderies, J., Carpenter, S., Iii, S. C., Dauriach, A., Galaz, V., Gordon, L., Kautsky, N., Levin, S., & Walker, B. (2019). *ORE Open Research Exeter*.

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

Fournier, I. B., Lovejoy, C., & Vincent, W. F. (2021). Changes in the Community Structure of Under-Ice and Open-Water Microbiomes in Urban Lakes Exposed to Road Salts. *Frontiers in Microbiology*, *12*(March), 1–18. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.660719

Fritsch, R. J., & Krause, I. (2003). Electrophoresis. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*, *14*(5), 101–102. https://doi.org/10.1142/9781783266739_0003

Fuentes-López, J. M., Olías, M., León, R., Basallote, M. D., Macías, F., Moreno-González, R., & Cánovas, C. R. (2022). Stream-pit lake interactions in an abandoned mining area affected by acid drainage (Iberian Pyrite Belt). *Science of the Total Environment*, *833*(January). https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155224

Furtado, J. A., Cavalcanti-Lima, L. F., Santos, V. H. M. dos, Serejo, J. H. F., Pereira, L. C. C., Carvalho-Neta, R. N. F., & Tchaicka, L. (2024). Multimetric trophic status and harmful algal species in a harbor area of the Amazon Macrotidal Mangrove Coast. *Ecohydrology and Hydrobiology*, *November 2023*. https://doi.org/10.1016/j.ecohyd.2024.10.002

Gallo Corredor, J. A., Humberto Pérez, E., Figueroa, R., & Figueroa Casas, A. (2021). Water quality of streams associated with artisanal gold mining; Suárez, Department of Cauca, Colombia. *Heliyon*, *7*(6). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07047

Glodowska, M., Stopelli, E., Schneider, M., Lightfoot, A., Rathi, B., Straub, D., Patzner, M., Duyen, V. T., Berg, M., Kleindienst, S., & Kappler, A. (2020). *Role of in-situ natural organic matter in mobilizing As during microbial reduction of Fe III -mineral-bearing aquifer sediments from Hanoi (Vietnam)*. 1–34.

Gobierno Regional de Moquegua, & CONSORCIO V-5. (2012). *INFORME FINAL DEL ESTUDIO: "Mejoramiento de la calidad de aguas de embalse Pasto Grande del Distrito de Carumas, Provincia Mariscal Nieto, Región Moquegua": Vol. TOMO 1* (pp. 11–12). https://www.pastogrande.gob.pe/wp-content/uploads/2021/09/Tomo-1-.pdf

Gobler, C. J. (2020). Climate Change and Harmful Algal Blooms : Insights and perspective. *Harmful Algae*, *91*(December 2019), 101731. https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101731

Godlewska, M., Balk, H., Izydorczyk, K., Kaczkowski, Z., Mankiewicz-Boczek, J., & Ye, S. (2023). Rapid in situ assessment of high-resolution spatial and temporal distribution of cyanobacterial blooms using fishery echosounder. *Science of the Total Environment*, *857*(October 2022). https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159492

Gojkovic, Z., Simansky, S., Sanabria, A., & Ivana, M. (2023). *Interaction of Naturally Occurring Phytoplankton with the Biogeochemical Cycling of Mercury in Aquatic Environments and Its Effects on Global Hg Pollution and*

Public Health.

Gonçalves, F. J. M., Branco, B., Isabel, J., & Luísa, J. (2021). *Challenges to water quality assessment in Europe – Is there scope for improvement of the current Water Framework Directive bioassessment scheme in rivers ? 121*. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107030

Goodchild-Michelman, I. M., Church, G. M., Schubert, M. G., & Tang, T. C. (2023). Light and carbon: Synthetic biology toward new cyanobacteria-based living biomaterials. *Materials Today Bio*, *19*(January), 100583. https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100583

Grattan, L. M., Holobaugh, S., & Morris, J. G. (2016). Harmful algal blooms and public health. *Harmful Algae*, *57*, 2–8. https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.05.003

Gupta, S., Graham, D. W., Sreekrishnan, T. R., & Ziauddin, S. (2022). Effects of heavy metals pollution on the co-selection of metal and antibiotic resistance in urban rivers in UK and India ☆. *Environmental Pollution*, *306*(January), 119326. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119326

Hajong, P., & Ramanujam, P. (2018). Seasonal variation in algal diversity and productivity in Dachi lake , Meghalaya. *J. Algal Biomass Utln*, *9*(2), 9–24.

Heidari, F., Riahi, H., Aghamiri, M. R., Zakeri, F., Shariatmadari, Z., & Hauer, T. (2018). 226Ra, 238U and Cd adsorption kinetics and binding capacity of two cyanobacterial strains isolated from highly radioactive springs and optimal conditions for maximal removal effects in contaminated water. *International Journal of Phytoremediation*, *20*(4), 369–377. https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1393392

Heisler, J., Glibert, P. M., Burkholder, J. M., Anderson, D. M., Cochlan, W., Dennison, W. C., Dortch, Q., Gobler, C. J., Heil, C. A., Humphries, E., Lewitus, A., Magnien, R., Marshall, H. G., Sellner, K., Stockwell, D. A., Stoecker, D. K., & Suddleson, M. (2008). Eutrophication and harmful algal blooms: A scientific consensus. *Harmful Algae*, *8*(1), 3–13. https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.08.006

Hernández Lalinde, J. D., Espinoza Castro, F., Rodríguez, J. E., Chacón Rangel, J. G., Toloza Sierra, C. A., Arenas Torrado, M. K., Carrillo Sierra, S. M., & Bermúdez Pirela, V. J. (2018). Sobre el uso adecuado del coeficiente de correlación de Pearson. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, *37*(5), 586–601. https://www.redalyc.org/articulo.oa?%0Ahttps://www.redalyc.org/journal/559/55963207025/55963207025.pdf

Heydari, S., Kabood, T., Asaad, S., Akbar, H., & Tasheh, H. (2019). Investigating the effects of climate change on stream flows of Urmia Lake basin in Iran. *Modeling Earth Systems and Environment*, *0123456789*. https://doi.org/10.1007/s40808-019-00681-0

Hinojosa-Reyes, L., & Hern, A. (2020). *Applied Geochemistry Mobility and speciation of mercury in soils from a mining zone in Villa Hidalgo , SLP , Mexico : A preliminary risk assessment*. *122*(August). https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2020.104746

Hirons, M. (2020). How the Sustainable Development Goals risk undermining efforts to address environmental and social issues in the small-scale mining sector. *Environmental Science and Policy*, *114*(April), 321–328. https://doi.org/10.1016/j.envsci.2020.08.022

Hudnell, H. K. (2008). Cyanobacterial harmful algal blooms: State of the science and research needs. In *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs*. https://doi.org/10.1007/978-0-387-75865-7

Invitrogen. (2020a). Qubit 1X dsDNA assays : simplified workflow and improved performance. *Nota Técnica*, 1–3.

Invitrogen. (2020b). *Qubit ™ 1X dsDNA HS Assay Kits Product information*. 1–10.

Iqhrammullah, M., Chiari, W., Hudaa, S., Irhamni, I., Fahrurrozi, & Akbar, S. A. (2024). Microalgal—bacterial interactions: Research trend and updated review. *Heliyon*, *10*(15), e35324. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35324

Iyyanki V. Muralikrishna, V. M. (2017). *Environmental Management*. 1–4. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811989-1.00001-4

Jakomin Rudez, L. M. (2016). *Guía Destinada a Evualuación De Regiones Montañosas Y / O Serranas De La Alta Cuenca*.

Khan Academy. (n.d.). *Electroforesis en gel*. https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/gene-expression-and-regulation/biotechnology/a/gel-electrophoresis

Kim, M., Lee, S., & Kim, J. (2020). *Assessment of Fraction and Mobility of Arsenic in Soil Near the Mine Waste Dam*. 1–13.

Kisand, V., Valente, A., Lahm, A., Tanet, G., & Lettieri, T. (2012). Phylogenetic and functional metagenomic profiling for assessing microbial biodiversity in environmental monitoring. *PLoS ONE*, *7*(8), 1–14. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043630

Klein, J., Käyhkö, J., Räsänen, A., Groundstroem, F., & Eilu, P. (2022). Climate risk perception, management, and adaptation in the Nordic mining sector. *Extractive Industries and Society*, *10*(May). https://doi.org/10.1016/j.exis.2022.101092

Krishna Samal, D. P., Sukla, L. B., Pattanaik, A., & Pradhan, D. (2020). Role of microalgae in treatment of acid mine drainage and recovery of valuable metals. *Materials Today: Proceedings*, *30*, 346–350. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.02.165

Kubickova, B., Babica, P., Hilscherová, K., & Šindlerová, L. (2019). Effects of cyanobacterial toxins on the human gastrointestinal tract and the mucosal innate immune system. *Environmental Sciences Europe*, *31*(1), 1–27. https://doi.org/10.1186/s12302-019-0212-2

Kumar, M., Goswami, R., Kumar, A., & Srivastava, M. (2020). Scenario , perspectives and mechanism of arsenic and fl uoride Co- occurrence in the groundwater : A review. *Chemosphere*, *249*(336), 126126. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126126

Kumar, N., Hans, S., Verma, R., & Srivastava, A. (2020). Acclimatization of microalgae Arthrospira platensis for treatment of heavy metals in Yamuna River. *Water Science and Engineering*, *13*(3), 214–222. https://doi.org/10.1016/j.wse.2020.09.005

Leong, Y. K., & Chang, J. S. (2020). Bioremediation of heavy metals using microalgae: Recent advances and mechanisms. *Bioresource Technology*, *303*(January), 122886. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122886

Li, S., Wu, J., Huo, Y., Zhao, X., & Xue, L. (2021). Profiling multiple heavy metal contamination and bacterial communities surrounding an iron tailing pond in Northwest China. *Science of the Total Environment*, *752*(88), 141827. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141827

Li, Y., Shen, R., Liu, X., Su, H., Wu, F., & Chen, F. (2022). Impacts of nutrient reduction on temporal β-diversity of rotifers: A 19-year limnology case study on Lake Wuli, China. *Water Research*, *216*(March), 118364. https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118364

Liang, H. Y., Zhang, Y. H., Du, S. L., Cao, J. Le, Liu, Y. F., Zhao, H., & Ding, T. T. (2024). Heavy metals in sediments of the river-lake system in the Dianchi basin, China: Their pollution, sources, and risks. *Science of the Total Environment*, *957*(8), 177652. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.177652

Liu, B., Yao, J., Chen, Z., Ma, B., Li, H., Wancheng, P., Liu, J., Wang, D., & Duran, R. (2022). Biogeography, assembly processes and species coexistence patterns of microbial communities in metalloids-laden soils around mining and smelting sites. *Journal of Hazardous Materials*, *425*(December 2021). https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127945

Liu, L., Liu, G., Zhou, J., & Jin, R. (2021). Interaction between hexavalent chromium and biologically formed iron mineral-biochar composites: Kinetics, products and mechanisms. *Journal of Hazardous Materials*, *405*(July 2020), 124246. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124246

Liu, P., Wei, J., Yang, K., Massey, I. Y., Guo, J., Zhang, C., & Yang, F. (2018). Isolation, molecular identification, and characterization of a unique toxic cyanobacterium Microcystis sp. found in Hunan Province, China. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, *81*(21), 1142–1149. https://doi.org/10.1080/15287394.2018.1532716

Liu, X., & Millero, F. J. (2002). The solubility of iron in seawater. *Marine Chemistry*, *77*(1), 43–54. https://doi.org/10.1016/S0304-4203(01)00074-3

Liu, X., Zhao, Y., Yu, X., Song, Y., Li, Y., Yang, G., Li, Y., Zhu, B., & Pan, K. (2025). Seasonal changes of species- and guild-based benthic diatom communities in the transitional water zone of the Yellow River Delta. *Marine Environmental Research*, *203*(July 2024). https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2024.106843

MACROGEN. (2020). *Secuenciamiento del metagenoma (NGS)*.

Magonono, M., Oberholster, P. J., Shonhai, A., Makumire, S., & Gumbo, J. R. (2018). *The Presence of Toxic and Non-Toxic Cyanobacteria in the Sediments of the Limpopo River Basin : Implications for Human Health*. 1–23. https://doi.org/10.3390/toxins10070269

Maguvu, T. E., Bezuidenhout, C. C., Kritzinger, R., Tsholo, K., Plaatjie, M., Molale-tom, L. G., Mienie, C. M., & Id, R. D. C. (2020). *Combining physicochemical properties and microbiome data to evaluate the water quality of South African drinking water production plants*. 1–21. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237335

Maji, C., Biswas, S., Sarkar, P. K., Patra, P. H., & Bandyopadhyay, S. (2020). *Evaluation of ameliorative effect of two selected plant drugs on experimentally induced arsenic toxicity in sheep*.

Maliqi, E., Jusufi, K., & Singh, S. K. (2020). Assessment and Spatial Mapping of Groundwater Quality Parameters Using Metal Pollution Indices, Graphical Methods and Geoinformatics. *Analytical Chemistry Letters*, *10*(2), 152–180. https://doi.org/10.1080/22297928.2020.1764384

Mant, R. C., Jones, D. L., Reynolds, B., Ormerod, S. J., & Pullin, A. S. (2013). A systematic review of the effectiveness of liming to mitigate impacts of river acidi fi cation on fi sh and macro-invertebrates. *Environmental Pollution*, *179*, 285–293. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.04.019

Ministerio del Ambiente (MINAM). (2019). *Ley Marco Sobre Cambio Climático. Ley N° 307*.

Ministerio del Ambiente (MINAM). (2021). *Plan Nacional de Adaptación al Cambio Climático del Perú: un insumo para la actualización de la Estrategia Nacional ante el Cambio Climático. R.M. N°096.*

Molist, E. P. (2018). *Microbial communities driving emerging contaminant removal. Impact of treated wastewater on the ecosystem*. https://www.tdx.cat/handle/10803/650400

Munoz, M., Nieto-Sandoval, J., Cirés, S., de Pedro, Z. M., Quesada, A., & Casas, J. A. (2019). Degradation of widespread cyanotoxins with high impact in drinking water (microcystins, cylindrospermopsin, anatoxin-a and saxitoxin) by CWPO. *Water Research*, *163*. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114853

Nabout, J. C., da Silva Rocha, B., Carneiro, F. M., & Sant'Anna, C. L. (2013). How many species of Cyanobacteria are there? Using a discovery curve to predict the species number. *Biodiversity and Conservation*, *22*(12), 2907–2918. https://doi.org/10.1007/s10531-013-0561-x

Naciones Unidas. (2020). *AGUA*. https://www.un.org/es/global-issues/water

Nakayama, S. M. M., Ikenaka, Y., Muzandu, K., Choongo, K., Oroszlany, B., Teraoka, H., Mizuno, N., & Ishizuka, M. (2010). Heavy metal accumulation in lake sediments, fish (Oreochromis niloticus and Serranochromis thumbergi), and crayfish (Cherax quadricarinatus) in lake itezhi-tezhi and lake Kariba, Zambia. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *59*(2), 291–300. https://doi.org/10.1007/s00244-010-9483-8

National Research Council. (2000). *Estuarine Science: A Synthetic Approach to Research and Practice*.

Naughton, S., Kavanagh, S., Lynch, M., & Rowan, N. J. (2020). Synchronizing use of sophisticated wet-laboratory and in-field handheld technologies for real-time monitoring of key microalgae, bacteria and physicochemical parameters influencing efficacy of water quality in a freshwater aquaculture recirculation system. In *Aquaculture* (Vol. 526). https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735377

Ngara, T. R., & Zhang, H. (2018). Recent Advances in Function-based Metagenomic Screening. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, *16*(6), 405–415. https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.01.002

Niampradit, S., Kiangkoo, N., Mingkhwan, R., Kliengchuay, W., Worakhunpiset, S., Limpananont, Y., Hongsibsong, S., Inthorn, D., & Tantrakarnapa, K. (2024). Occurrence , distribution , and ecological risk assessment of heavy metals in Chao Phraya. *Scientific Reports*, 1–11. https://doi.org/10.1038/s41598-024-59133-0

Niegowska, M., Sanseverino, I., Navarro, A., & Lettieri, T. (2021). Knowledge gaps in the assessment of antimicrobial resistance in surface waters. *FEMS Microbiology Ecology*, *97*(11), 1–17. https://doi.org/10.1093/femsec/fiab140

O'Neil, J. M., Davis, T. W., Burford, M. A., & Gobler, C. J. (2012). The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae*, *14*, 313–334. https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.10.027

Odell, S. D., Bebbington, A., & Frey, K. E. (2018). Mining and climate change: A review and framework for analysis. *Extractive Industries and Society*, *5*(1), 201–214. https://doi.org/10.1016/j.exis.2017.12.004

Osei-Owusu, J., Heve, W. K., Duker, R. Q., Aidoo, O. F., Larbi, L., Edusei, G., Opoku, M. J., Akolaa, R. A., Eshun, F., Apau, J., & Ninsin, K. D. (2023). Assessments of microbial and heavy metal contaminations in water supply systems at the University of Environment and Sustainable Development in Ghana. *Sustainable Chemistry for the Environment*, *2*(June), 100015.

https://doi.org/10.1016/j.scenv.2023.100015

Paerl, H. W., & Otten, T. G. (2013). Harmful Cyanobacterial Blooms: Causes, Consequences, and Controls. *Microbial Ecology*, *65*(4), 995–1010. https://doi.org/10.1007/s00248-012-0159-y

Pan, W., Kang, Y., Liu, H., Liao, Z., & Wang, S. (2024). Study on the bio-passivation of copper sulfide tailings combined with solid waste to inhibit acidic mine drainage. *Journal of Water Process Engineering*, *61*(January), 105253. https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.105253

Panksep, K., Tamm, M., Mantzouki, E., Rantala-Ylinen, A., Laugaste, R., Sivonen, K., Tammeorg, O., & Kisand, V. (2020). Using microcystin gene copies to determine potentially-toxic blooms, example from a shallow eutrophic lake peipsi. *Toxins*, *12*(4), 1–21. https://doi.org/10.3390/toxins12040211

Payne, R. J., Lara, E., Gu, Y., Huang, X., & Wang, H. (2013). *Ecology of testate amoebae in peatlands of central China and development of a transfer function for paleohydrological reconstruction*. https://doi.org/10.1007/s10933-013-9726-6

Pearson, L., Mihali, T., Moffitt, M., Kellmann, R., & Neilan, B. (2010). On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin. In *Marine Drugs* (Vol. 8, Issue 5). https://doi.org/10.3390/md8051650

Perlatti, F., Pimentel, E., Pontes, D., Oliveira, D., Ruiz, F., Otero, L., Os, T., Usp, E., & Av, P. (2021). *Chemosphere Copper release from waste rocks in an abandoned mine (NE , Brazil) and its impacts on ecosystem environmental quality*. *262*. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127843

QIAGEN. (2022). *DNeasy ® PowerWater ® Kit*. *July*, 7–8.

Qin, B., Zhou, J., Elser, J. J., Gardner, W. S., Deng, J., & Brookes, J. D. (2020). *Water Depth Underpins the Relative Roles and Fates of Nitrogen and Phosphorus in Lakes*. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b05858

Rojas, M. V. R., Alonso, D. P., Dropa, M., Razzolini, M. T. P., de Carvalho, D. P., Ribeiro, K. A. N., Ribolla, P. E. M., & Sallum, M. A. M. (2022). Next-Generation High-Throughput Sequencing to Evaluate Bacterial Communities in Freshwater Ecosystem in Hydroelectric Reservoirs. *Microorganisms*, *10*(7), 1–15. https://doi.org/10.3390/microorganisms10071398

Saalidong, B. M., Aram, S. A., Otu, S., & Lartey, P. O. (2022). *Examining the dynamics of the relationship between water pH and other water quality parameters in ground and surface water systems*. 1–17. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262117

Sadegh, A. S., Sidoumou, Z., Dia, M., Pinchetti, J. L. G., & Bouaïcha, N. (2021). Impacts of phosphorus loads on the water quality and the proliferation of harmful cyanobacteria in Foum-Gleita Reservoir (Mauritania). *Annales de Limnologie*, *57*. https://doi.org/10.1051/limn/2020029

Safina, C., Haak, C. R., & Duckworth, A. (2023). Fish Conservation. *Reference Module in Life Sciences*. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822562-2.00042-6

Saidon, N. B., & Szab, R. (2024). *Trophic transfer and biomagnification potential of environmental contaminants (heavy metals) in aquatic ecosystems ☆*. *340*(October 2023). https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122815

Saleem, F., Azim, M. K., Mustafa, A., Kori, J. A., & Saad, M. (2019). *Ecological Informatics Metagenomic pro fi ling of fresh water lakes at di ff erent altitudes in Pakistan*. *51*(March), 73–81. https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2019.02.013

Sánchez Carlessi, H., & Reyes Meza, C. (2015). *Metodología y diseños en la investigación científica*.

Sanseverino, I., Pretto, P., António, D. C., Lahm, A., Facca, C., Loos, R., Skejo, H., Beghi, A., Pandolfi, F., Genoni, P., & Lettieri, T. (2022). Metagenomics Analysis to Investigate the Microbial Communities and Their Functional Profile During Cyanobacterial Blooms in Lake Varese. *Microbial Ecology*, *83*(4), 850–868. https://doi.org/10.1007/s00248-021-01914-5

Schmelkes, Corina; Elizondo Schmelkes, N. (2012). *Manual para la presentacion de anteproyectos e informes de investigación (tesis)* (Tercera ed). http://www.sancristoballibros.com/libro/manual-para-la-presentacion-de-anteproyectos-e-informes-de-investigacion_35832

Sernaque Aguilar, Y. A., Cornejo La Torre, M., Regard, J. P., & Mialhe Matonnier, E. L. (2019). Caracterización molecular de bacterias cultivables y no cultivables procedentes de pozas de lixiviación con cianuro. *Revista Peruana de Biología*, *26*(2), 275–282. https://doi.org/10.15381/rpb.v26i2.16383

Sharma, P., Kumar, S., & Pandey, A. (2021). Bioremediated techniques for remediation of metal pollutants using metagenomics approaches: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *9*(4), 105684. https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105684

Shchapov, K., Todd Howell, E., George, T., & Sharma, S. (2024). Cyanobacteria in cold waters: A study of nearshore cyanobacteria assemblages in Lake Superior. *Journal of Great Lakes Research*, *August*. https://doi.org/10.1016/j.jglr.2024.102425

She, Z., Wang, J., He, C., Jiang, Z., Pan, X., Wang, M., Ma, D., Shi, Q., & Yue, Z. (2023). Molecular insights into the impacts of acid mine drainage on dissolved organic matter dynamics in pit lakes. *Science of the Total Environment*, *888*(May), 164097. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164097

Shi, J., Wang, L., Yang, Y., & Huang, T. (2022). A case study of thermal and chemical stratification in a drinking water reservoir. *Science of the Total Environment*, *848*(13), 157787. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157787

Singh, E., Kumar, A., Mishra, R., You, S., Singh, L., Kumar, S., & Kumar, R.

(2021). Pyrolysis of waste biomass and plastics for production of biochar and its use for removal of heavy metals from aqueous solution. *Bioresource Technology*, *320*(PA), 124278. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124278

Sivarajah, B., Simmatis, B., Favot, E. J., Palmer, M. J., & Smol, J. P. (2021). Eutrophication and climatic changes lead to unprecedented cyanobacterial blooms in a Canadian sub-Arctic landscape. *Harmful Algae*, *105*, 1–10. https://doi.org/10.1016/j.hal.2021.102036

Solomon, S., Kachiprath, B., Jayanath, G., Sajeevan, T. P., Singh, I. S. B., & Philip, R. (2016). High-quality metagenomic DNA from marine sediment samples for genomic studies through a preprocessing approach High-quality metagenomic DNA from marine sediment samples for genomic studies through a preprocessing approach. *3 Biotech*, *August*. https://doi.org/10.1007/s13205-016-0482-y

Su, Y., Gan, L., Li, Y., Fan, Z., Xie, C., Liu, Y., Liao, Y., Ding, R., Liu, G., Wu, J., Chen, G., Sun, J., Zhu, W., & Ma, J. (2022). A novel indicator for defining plain urban river network cyanobacterial blooms: resource use efficiency. *Heliyon*, *8*(10), e10601. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10601

Sun, F., Tao, Y., Liao, H., Wu, F., Giesy, J. P., & Yang, J. (2022). Pollution levels and risk assessment of thallium in Chinese surface water and sediments. *Science of the Total Environment*, *851*(August), 158363. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158363

Sun, J., Cheng, J., Yang, Z., Li, K., Zhou, J., & Cen, K. (2015). Microstructures and functional groups of Nannochloropsis sp. cells with arsenic adsorption and lipid accumulation. *Bioresource Technology*, *194*, 305–311. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.041

Thermo Fisher Scientific. (2016). *NanoDrop One Guía del usuario*. https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/3091-NanoDrop-One-User-Guide-v1.3-sw-SPANISH.pdf

Thermo Fisher Scientific. (2018). Quantify chlorophyll a and chlorophyll b with a custom method. *Application Note*, *Figure 1*, 1–4.

Trace2O. (2021). *Metalyser® Field Pro HM3000*. http://www.ansam.mx/wp-content/uploads/2014/05/Rápido-análisis-en-campo-para-metales-pesados-hm-3000.pdf%5Cnhttp://www.trace2o.com/es/shop/metalyser-field-pro-hm3000/

Tran, D. M., Huynh, T. U., Nguyen, T. H., Do, T. O., Nguyen, Q. V., & Nguyen, A. D. (2022). Metagenomic next-generation sequencing of the microbiome dataset from the surface water sample collected from Serepok River in Yok Don National Park, Vietnam. *Data in Brief*, *45*, 4–9. https://doi.org/10.1016/j.dib.2022.108614

Ugochukwu, U. C., Chukwuone, N., Jidere, C., Ezeudu, B., Ikpo, C., & Ozor, J. (2022). Heavy metal contamination of soil, sediment and water due to galena

mining in Ebonyi State Nigeria: Economic costs of pollution based on exposure health risks. *Journal of Environmental Management*, *321*(August), 115864. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115864

UN Environment Programme. (2020). *Decade on ecosystem restoration 2021-2030*. https://www.decadeonrestoration.org/

Valdovinos, C., & Fierro, P. (2021). Freshwater Invertebrates, Endangered. *Reference Module in Life Sciences*. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822562-2.00027-X

Valenzuela González, F., Casillas Hernández, R., Villalpando, E., & Vargas Albores, F. (2015). *The 16S rRNA gene in the study of marine microbial communities* (p. 17). https://doi.org/https://doi.org/10.7773/cm.v41i4.2492

Valerio, G., Pilotti, M., Lau, M. P., & Hupfer, M. (2019). Oxycline oscillations induced by internal waves in deep Lake Iseo. *Hydrology and Earth System Sciences*, *23*(3), 1763–1777. https://doi.org/10.5194/hess-23-1763-2019

Vieira, A. F., Moura, M., & Silva, L. (2021). Soil metagenomics in grasslands and forests – A review and bibliometric analysis. *Applied Soil Ecology*, *167*(December 2020), 104047. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104047

Vörösmarty, C. J., Vo, C. J., & Green, P. (2012). *Global Water Resources : Vulnerability from Climate Change and Population Growth*. *284*(2000). https://doi.org/10.1126/science.289.5477.284

Vu, H. P., Nguyen, L. N., Zdarta, J., Nga, T. T. V., & Nghiem, L. D. (2020). Blue-Green Algae in Surface Water: Problems and Opportunities. *Current Pollution Reports*, *6*(2), 105–122. https://doi.org/10.1007/s40726-020-00140-w

Wang, G., Hu, X., Zhu, Y., Jiang, H., & Wang, H. (2018). Historical accumulation and ecological risk assessment of heavy metals in sediments of a drinking water lake. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*(25), 24882–24894. https://doi.org/10.1007/s11356-018-2539-4

Wang, P., Yuan, Q., Wang, X., Hu, B., & Wang, C. (2023). Metagenomic insight into the distribution of metal resistance genes within cascade reservoir waters : Synergic impacts of geographic variation and anthropogenic pollution. *Environmental Research*, *216*(P3), 114682. https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114682

Xiao, L. J., Lei, L. M., Peng, L., Lin, Q. Q., & Naselli-Flores, L. (2021). Iron operates as an important factor promoting year-round diazotrophic cyanobacteria blooms in eutrophic reservoirs in the tropics. *Ecological Indicators*, *125*, 107446. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107446

Xiao, X., Li, W., Jin, M., Zhang, L., Qin, L., & Geng, W. (2023). Responses and tolerance mechanisms of microalgae to heavy metal stress: A review. *Marine Environmental Research*, *183*(October 2022), 105805. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2022.105805

Yan, L., Xu, Z., Hu, Y., Wang, Y., Zhou, F., Gao, X., Zhu, Y., & Chen, D. (2022). Cyanobacteria bloom hazard function and preliminary application in lake taihu, China. *Chemosphere*, *307*(P4), 136122. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136122

Zhang, R., Liu, W., Liu, Y., Zhang, H., Zhao, Z., & Zou, L. (2021). Impact of water quality variations on the microbial metagenome across coastal waters in Shenzhen, south China. *Ocean and Coastal Management*, *208*. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2021.105612

Zhang, Y., Whalen, J. K., Cai, C., Shan, K., & Zhou, H. (2023). Harmful cyanobacteria-diatom/dinoflagellate blooms and their cyanotoxins in freshwaters: A nonnegligible chronic health and ecological hazard. *Water Research*, *233*(April 2022), 119807. https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.119807

Zhao, Y., Zhao, S., Shi, X., Lu, J., Cui, Z., Zhang, F., Zhang, H., Zhang, J., & Han, Y. (2024). Distribution of mercury and methylmercury in ice-water-sediments in lakes during the freezing period under the influence of ice cover. *Environmental Pollution*, *363*(P2), 125183. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.125183

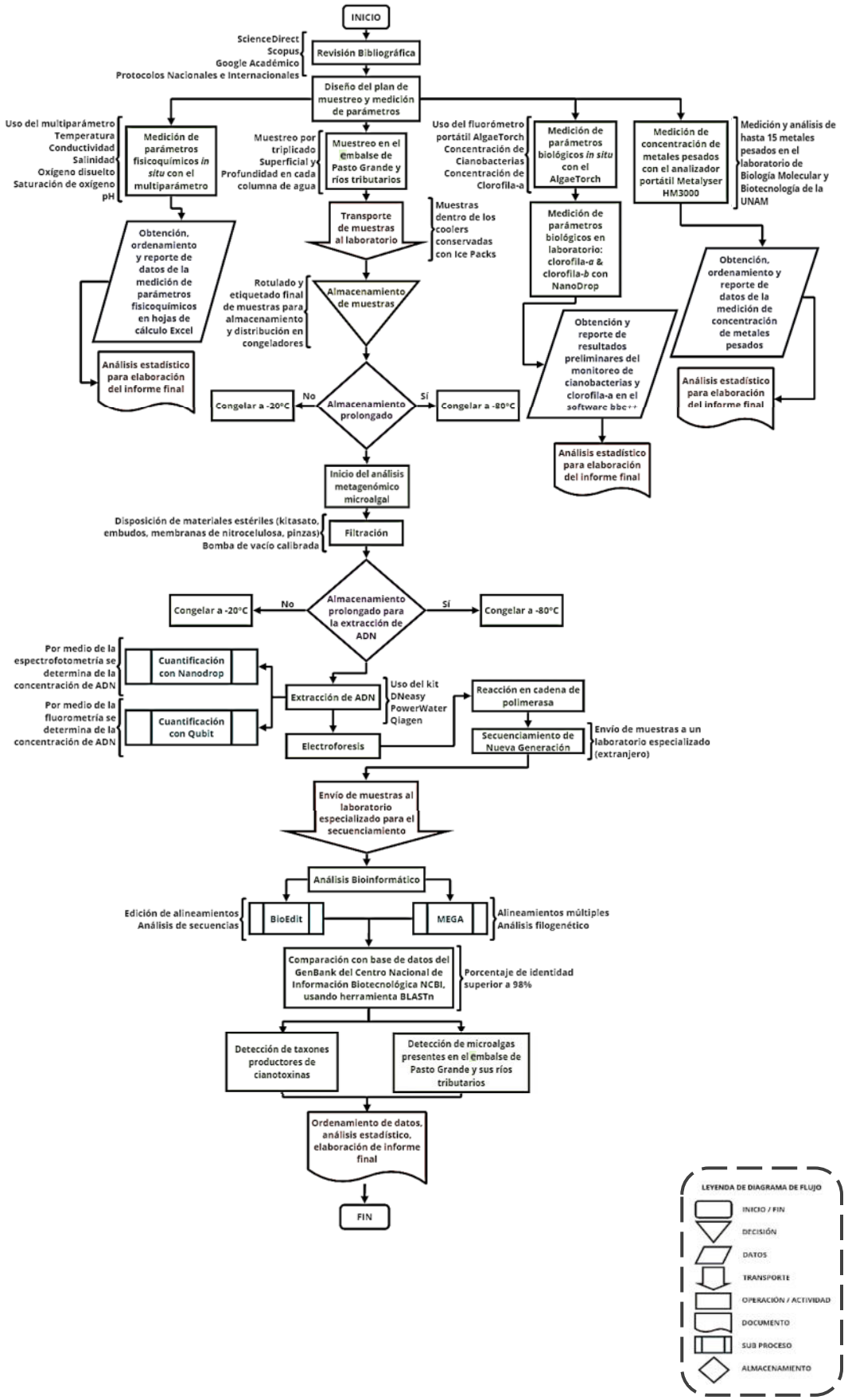
Zhou, Q., Yang, N., Li, Y., Ren, B., Ding, X., Bian, H., & Yao, X. (2020). Total concentrations and sources of heavy metal pollution in global river and lake water bodies from 1972 to 2017. *Global Ecology and Conservation*, *22*, e00925. https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e00925

Zhuang, W., & Song, J. (2021). Thallium in aquatic environments and the factors controlling Tl behavior. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*(27), 35472–35487. https://doi.org/10.1007/s11356-021-14388-2

Zulaicha, A. S. (2024). To appear in : Received Date : Accepted Date : Study of Water Pollution Parameters in The Dry and Rainy Seasons on The Pollution Index of The Mesuji River , Lampung , Indonesia . *Results in Chemistry*, 101906. https://doi.org/10.1016/j.rechem.2024.101906

VIII. ANEXOS

Anexo 1. *Diagrama de flujo del proyecto de investigación*

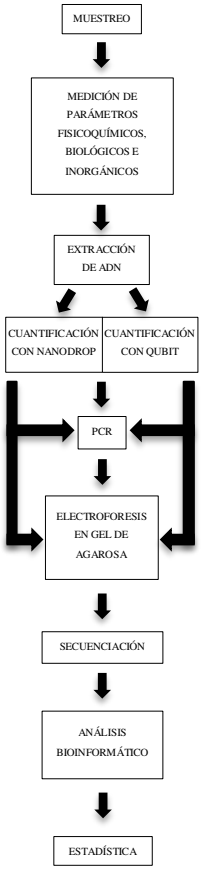


Anexo 2. *Matriz de consistencia del proyecto de investigación*

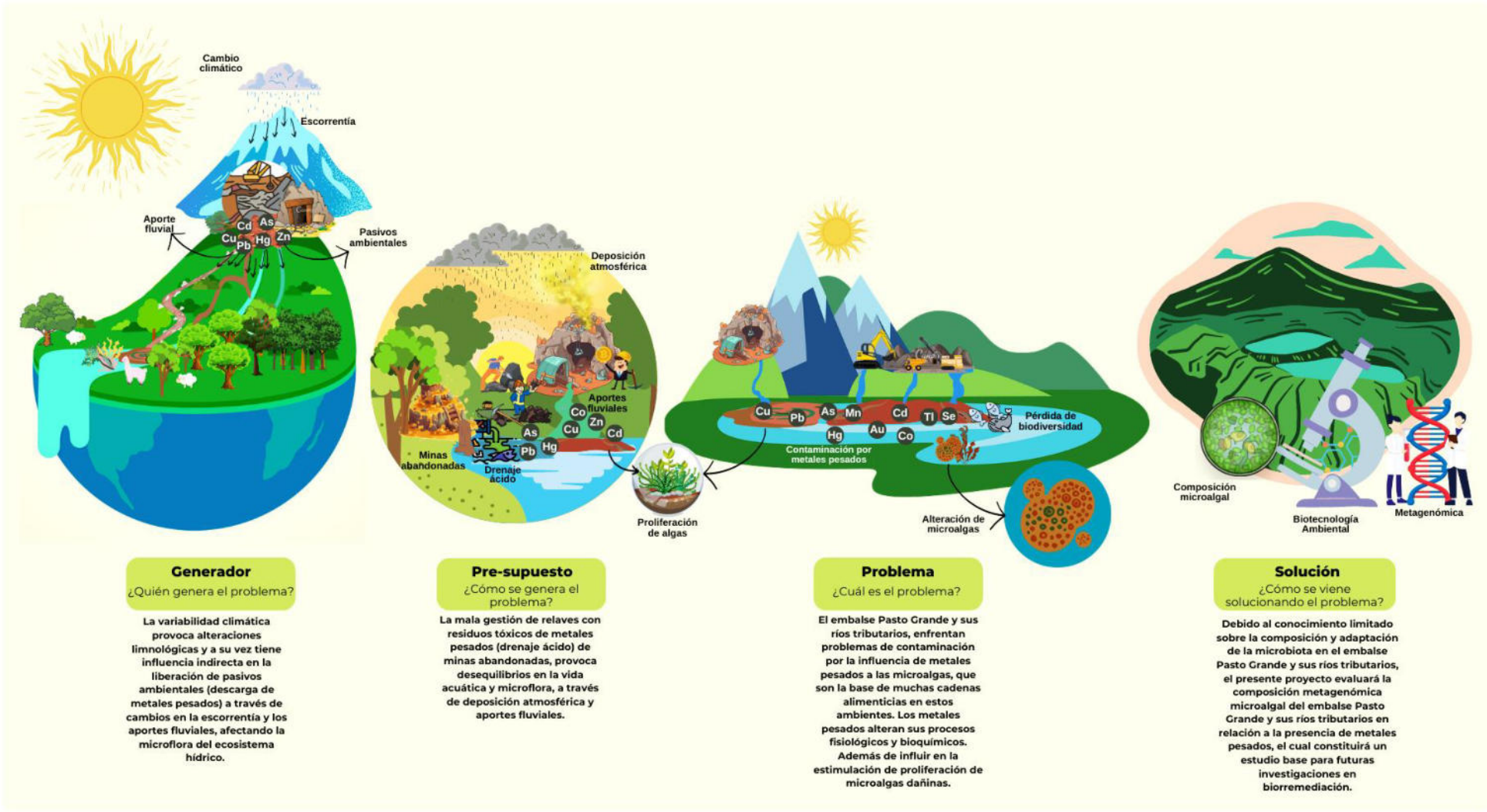
Tabla 35. *Matriz de consistencia del proyecto de investigación*

Matriz de consistencia

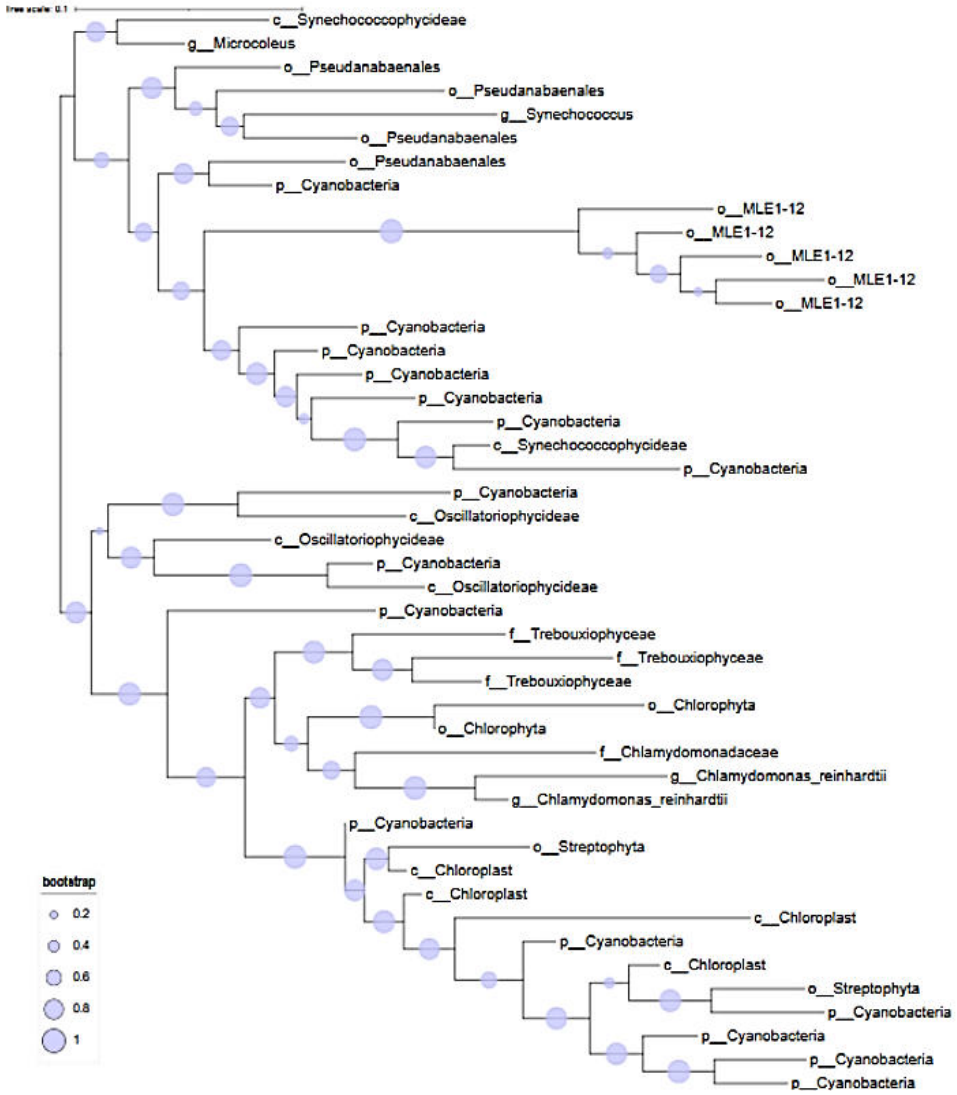
Metagenómica microalgal del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en relación a la concentración de metales pesados durante épocas de estiaje y avenida, Moquegua – 2023

Planteamiento del problema	Objetivos	Nivel, tipo y diseño de investigación	Población y muestra	Metodología	Variables	Dimensiones	Indicadores	Instrumentos	Análisis de datos y estadística
Interrogante General ¿De qué manera influyen los metales pesados en la composición metagenómica microalgal del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios, durante las épocas de estiaje y avenida, Moquegua – 2023? **Interrogantes Específicas** ¿Cuál es la asociación entre la diversidad filogenética de microalgas y presencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida? ¿Cómo se contrastan las concentraciones de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios con los Estándares de Calidad Ambiental durante las épocas de estiaje y avenida? ¿Cuál es la asociación entre las concentraciones de clorofila *A* y metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida?	**Objetivo General** Evaluar la composición metagenómica de microalgas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios con relación a la concentración de metales pesados durante las épocas de estiaje y avenida, Moquegua – 2023. **Objetivos Específicos** Analizar la asociación entre la diversidad filogenética de microalgas y presencia de taxones productores de cianotoxinas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida. Comparar las concentraciones de metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios con los Estándares de Calidad Ambiental durante las épocas de estiaje y avenida. Determinar la asociación entre las concentraciones de clorofila *A* y metales pesados en el embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios durante las épocas de estiaje y avenida.	**Nivel de Investigación** Explicativo Exploratorio **Tipo de investigación** Básica Debido a que el objetivo de este proyecto se basa en aumentar el conocimiento científico sobre el tema tratado **Tipo de investigación según el enfoque** Cuantitativo **Diseño de investigación** No experimental	**Población** El agua del embalse Pasto Grande y de sus ríos tributarios: Millojahuira, Antajarane, Patara y Tocco. **Muestra** La recolección de muestras se realizará en época de avenida y estiaje, se tomarán muestras puntuales de 3 puntos (inicio, intermedio y final) que luego se homogenizarán en una sola muestra de los 4 ríos tributarios respectivamente, y 5 muestras dentro del embalse Pasto Grande, dando un total de 18 muestras. El muestreo se realizará por triplicado.		**Variable Independiente** Características limnológicas del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios **Variable Dependiente** Metagenómica microalgal	Parámetros fisicoquímicos Parámetro biológico Parámetros inorgánicos Presencia de microalgas Espectrofotometría UV-VIS Fluorometría Caracterización de ADN Amplificación de fragmentos de ADN Análisis Metagenómico	pH Conductividad (CE) Salinidad (S) Oxígeno Disuelto (OD) Sólidos Totales Disueltos (TDS) Temperatura (WT) Concentración de clorofila – *A* 15 parámetros detectados con el equipo analizador portátil de metales pesados Concentración de microalgas verdeazuladas por medición de fluorescencia en respuesta a seis LED de tres longitudes de onda diferentes: 470, 525 y 610 nm Cuantificación de ADN ambiental Concentración y tamaño de ADN ambiental Reacción en cadena de polimerasa (PCR) Diversidad de microalgas Taxones productores de cianotoxinas	Multiparámetro Fluorómetro portátil NanoDrop One^{C} METALYSER HM 3000 FIELD PRO Fluorómetro portátil NanoDrop One^{C} Qubit 4 Sistema de electroforesis en gel de agarosa y fotodocumentador Termociclador Tecnología de secuenciación Illumina Banco genético BLAST NCBI	- Estadística descriptiva - Coeficiente de correlación de Pearson - MEGA - BioEdit

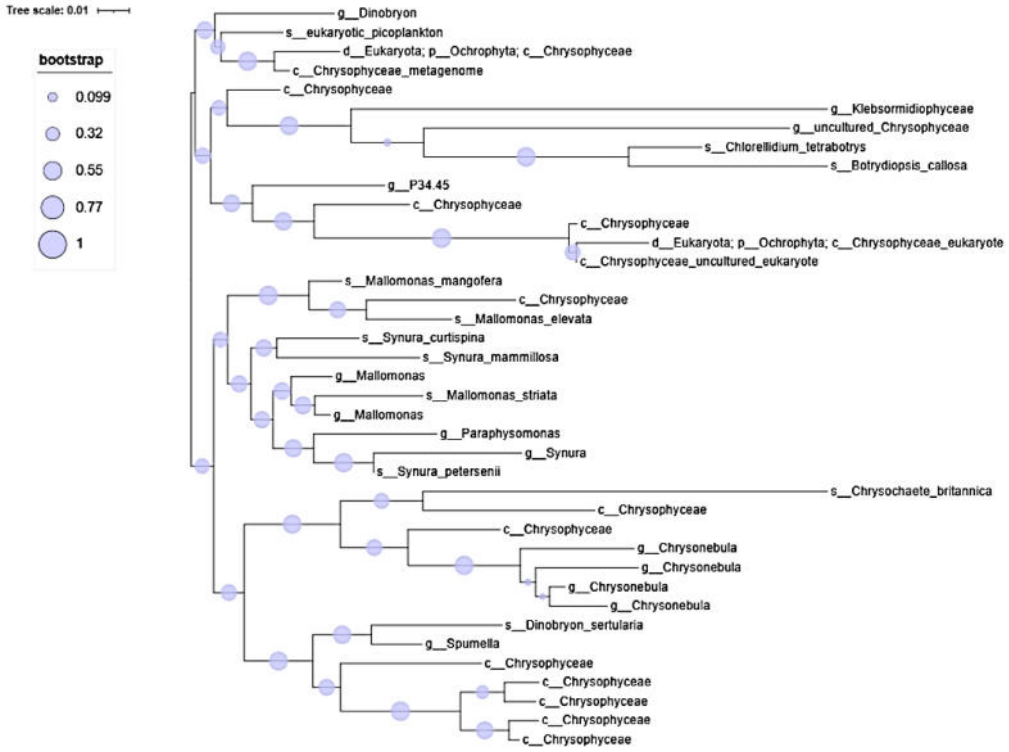
Anexo 3. *Infografía de la descripción problemática*



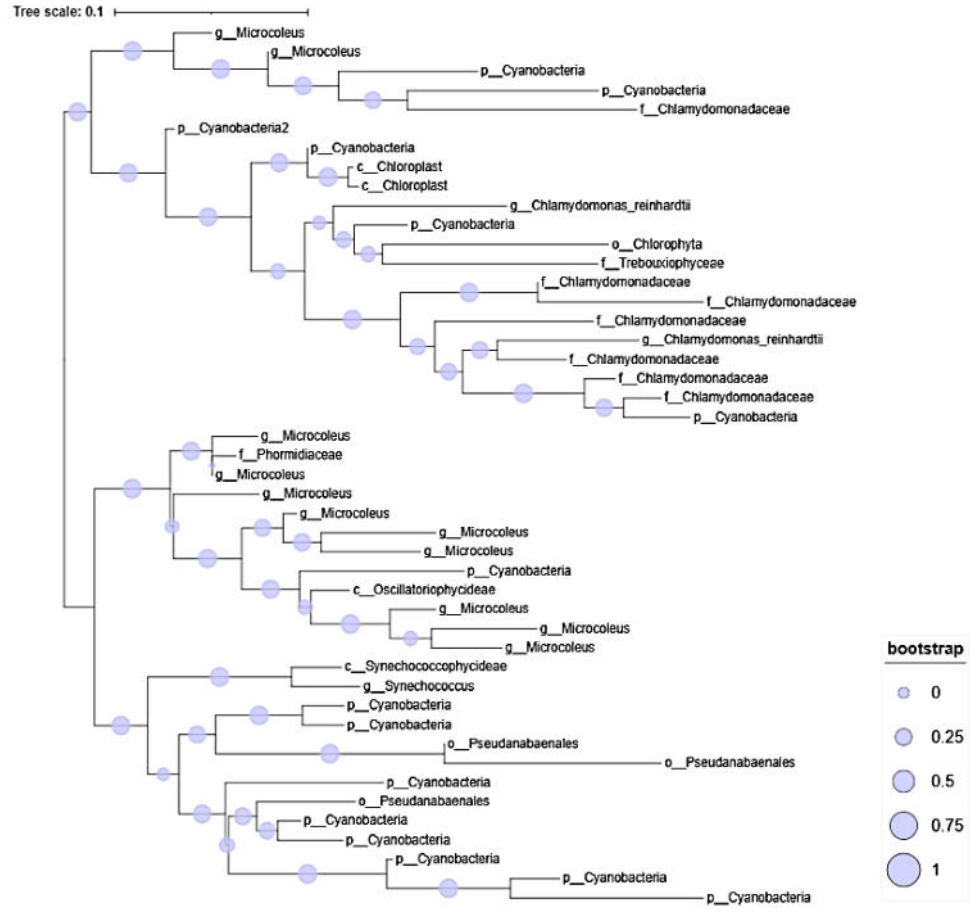
Anexo 4. *Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en río Millojahuira*



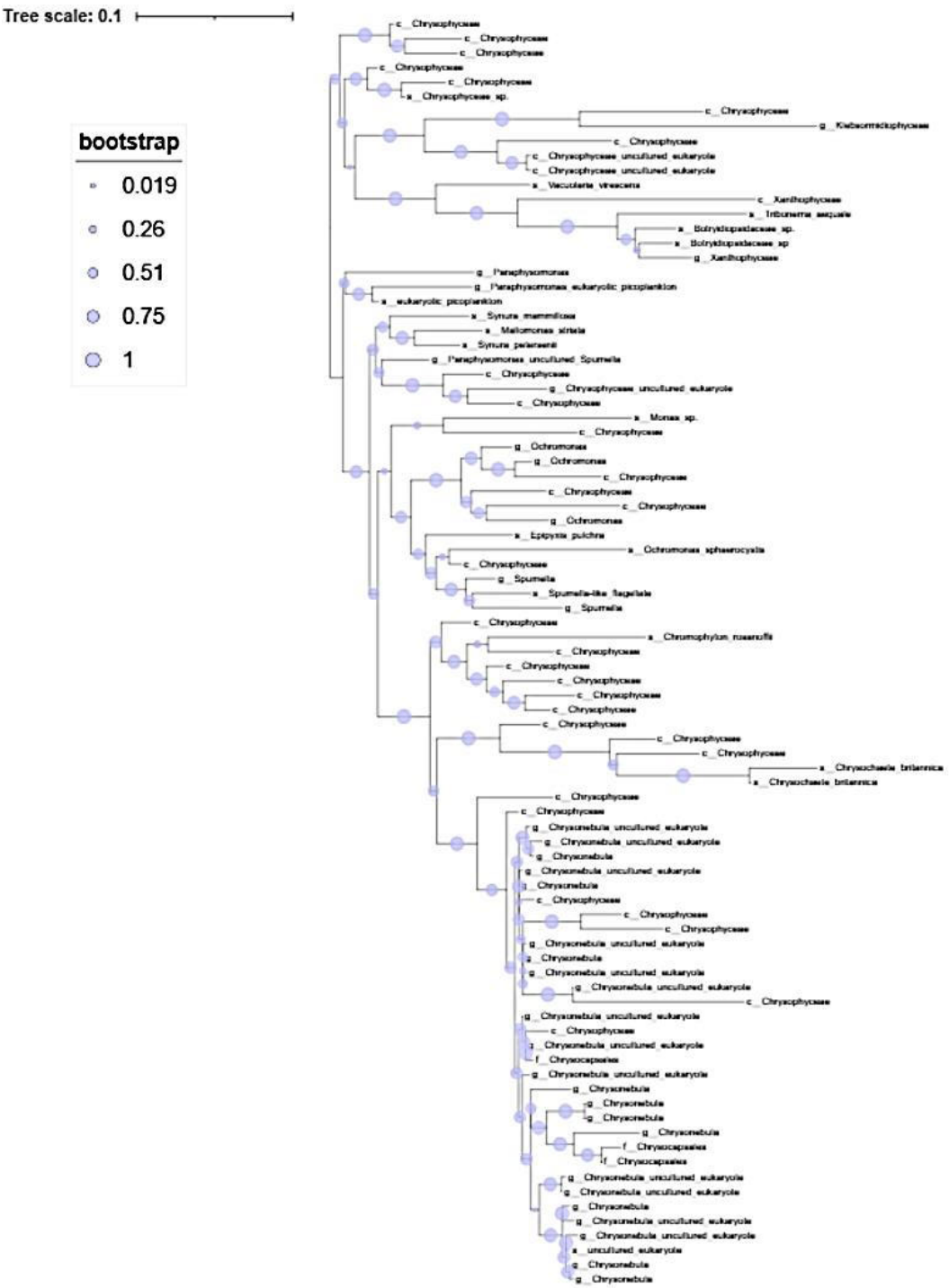
Anexo 5. *Árbol filogenético de taxones de microalgas en río Tocco*



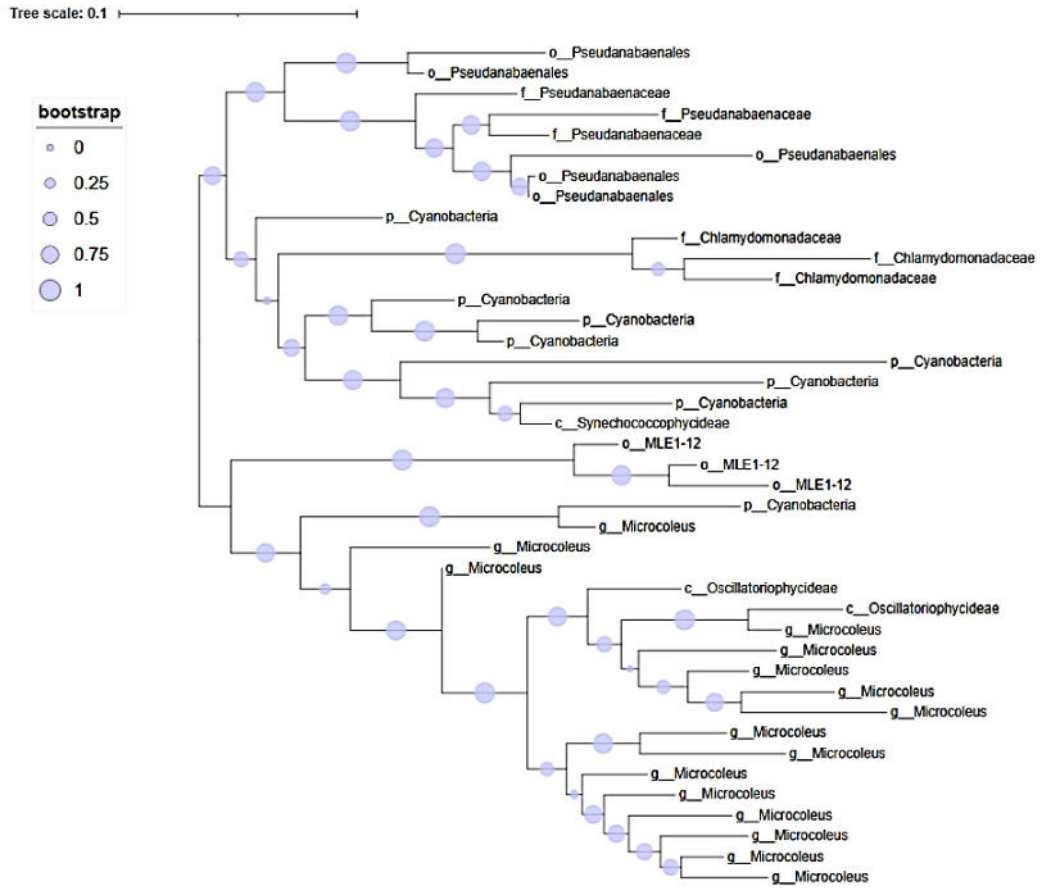
Anexo 6. *Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en río Antajarane*



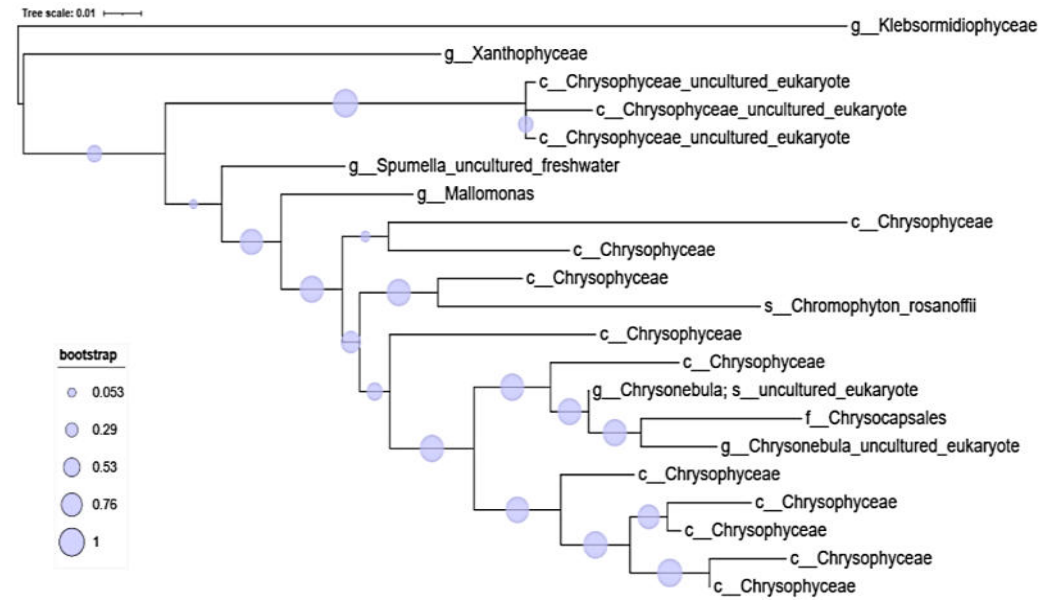
Anexo 7. *Árbol filogenético de taxones de microalgas en río Antajarane*



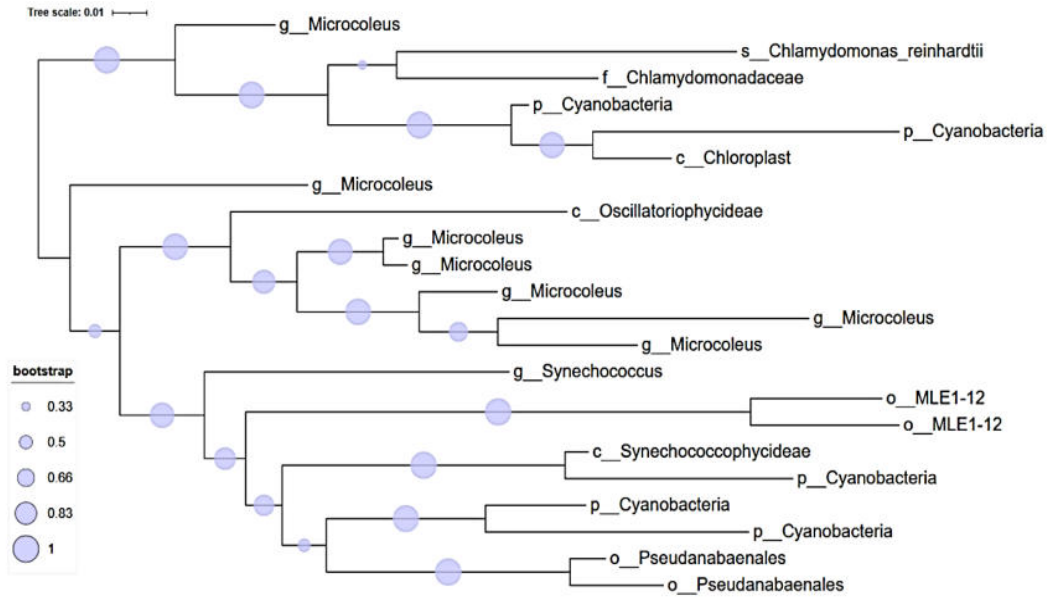
Anexo 8. *Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en EPgra01*



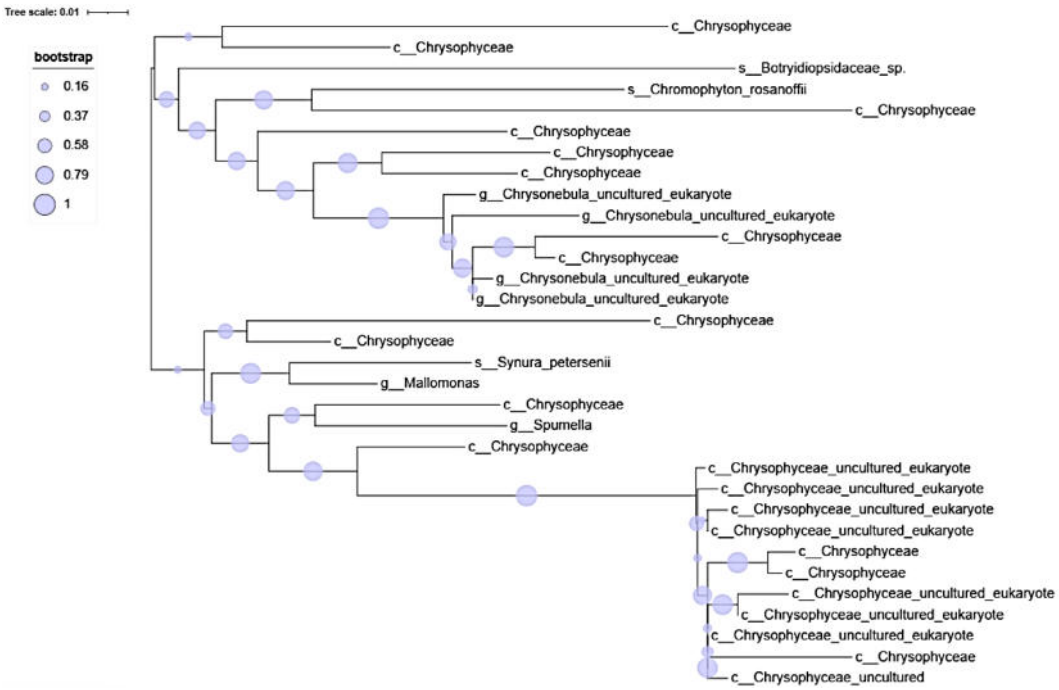
Anexo 9. Árbol filogenético de taxones de microalgas en EPgra01



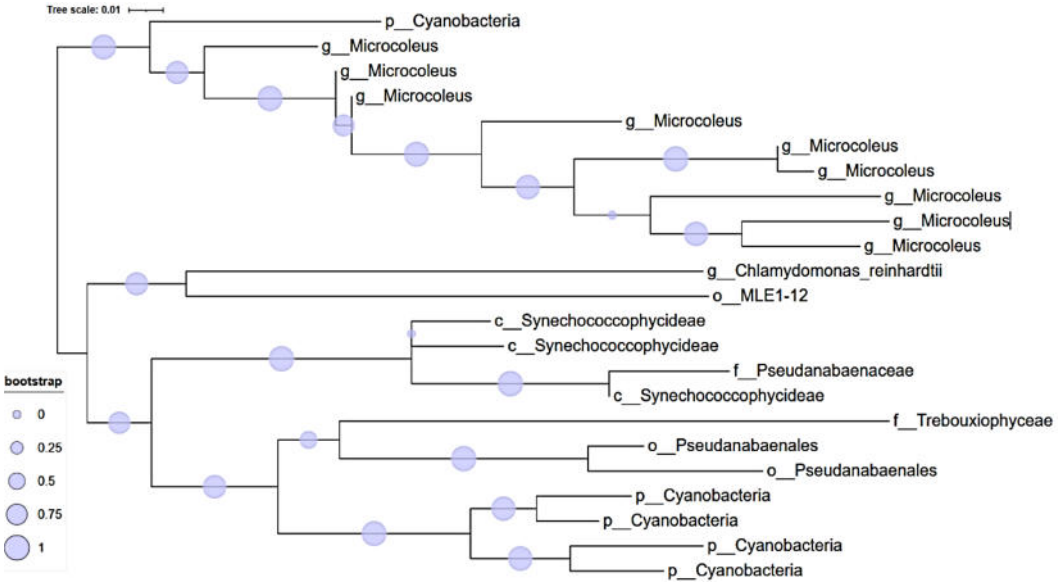
Anexo 10. *Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en EPgra02*



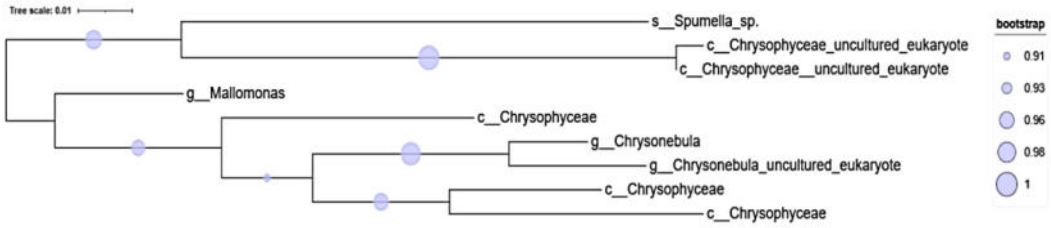
Anexo 11. *Árbol filogenético de taxones de microalgas en EPgra02*



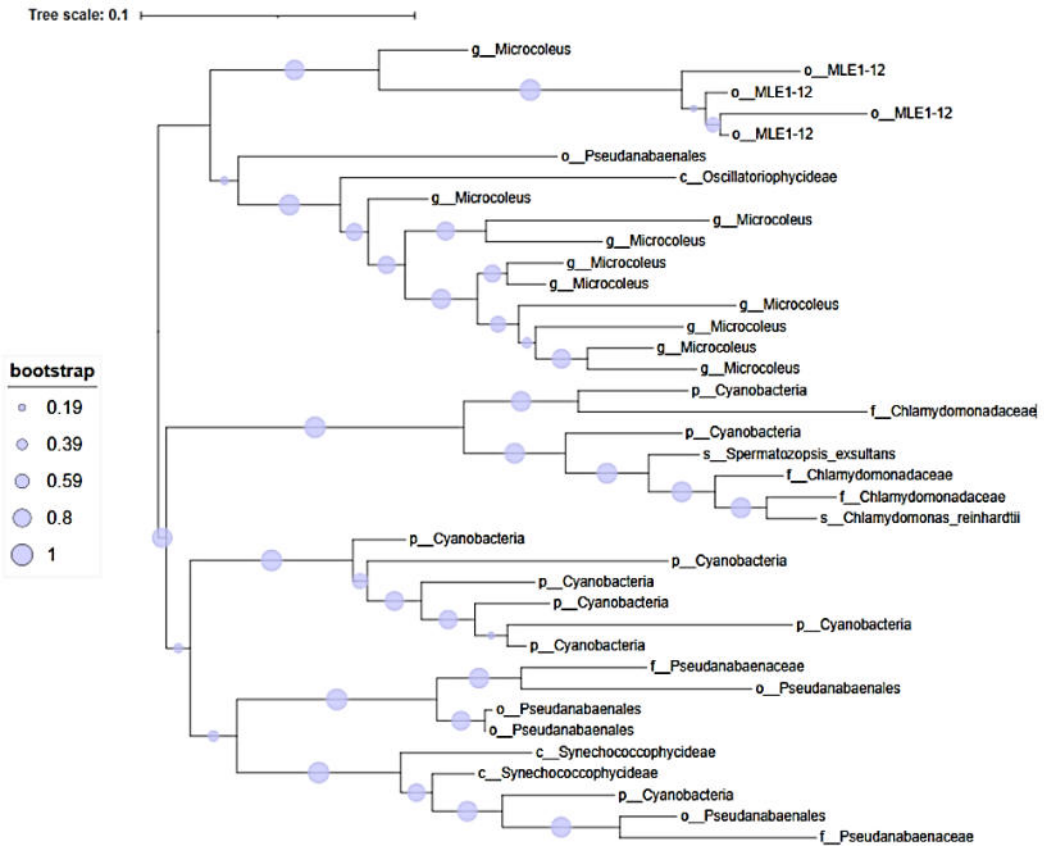
Anexo 12. *Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en EPgra03*



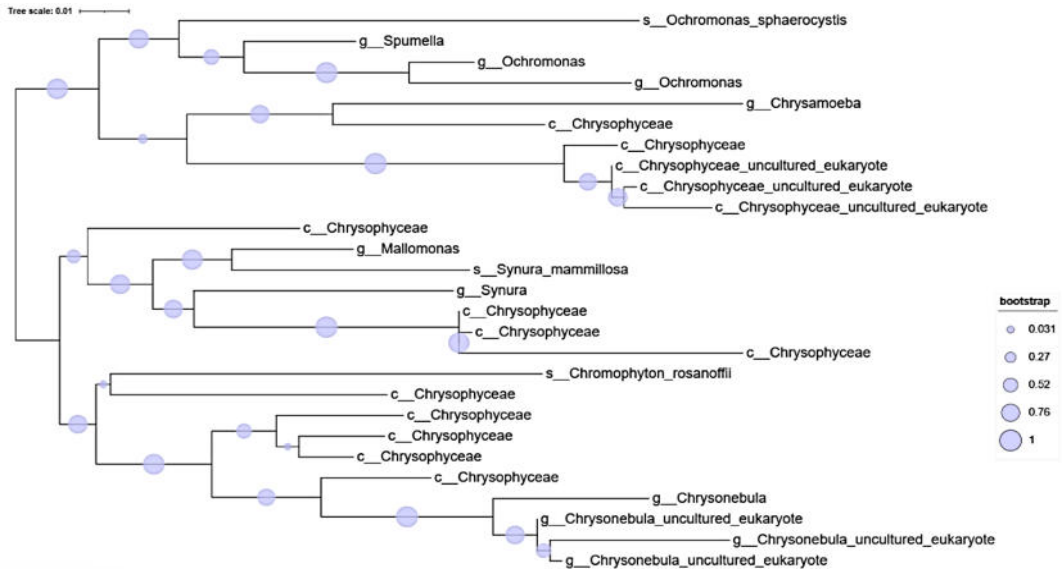
Anexo 13. *Árbol filogenético de taxones de microalgas en EPgra03*



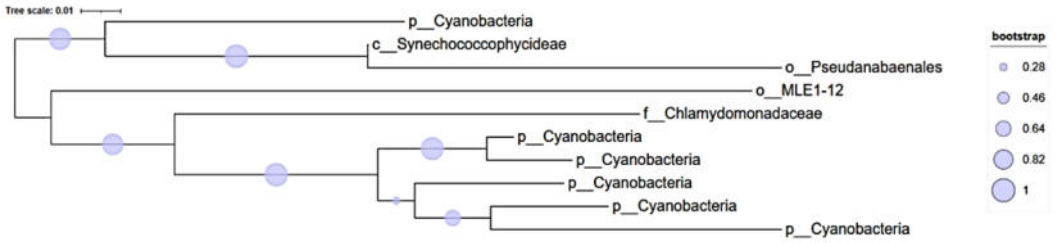
Anexo 14. *Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en EPgra04*



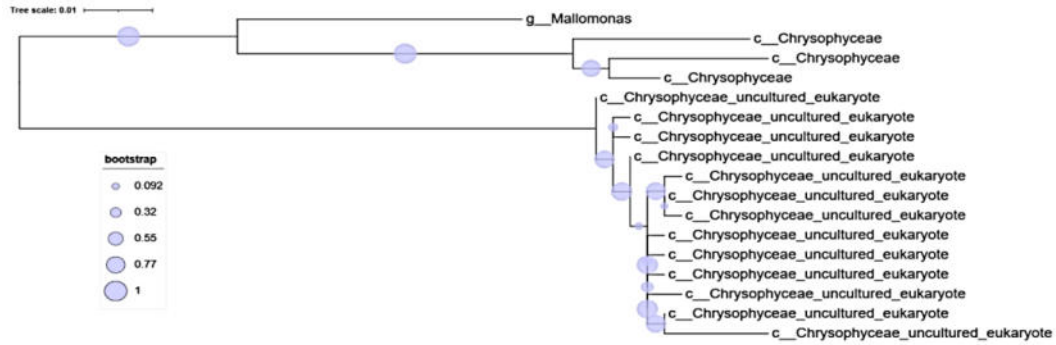
Anexo 15. *Árbol filogenético de taxones de microalgas en EPgra04*



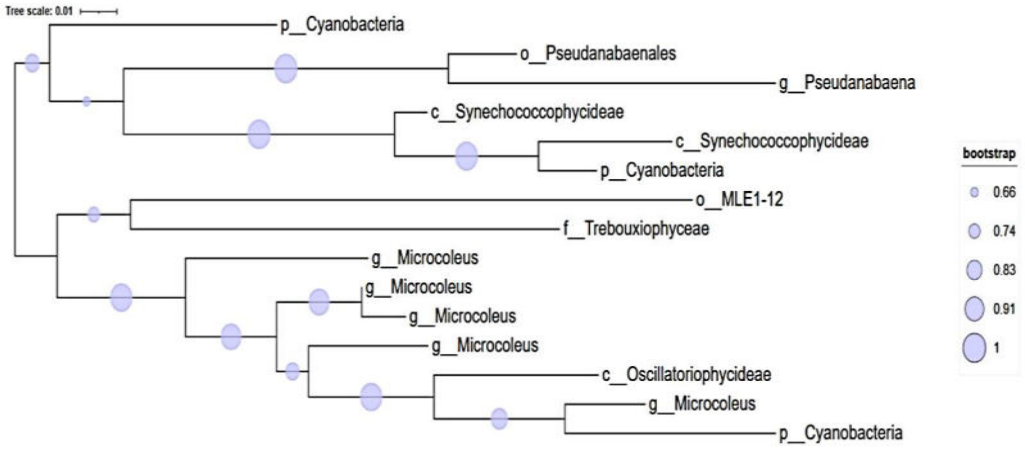
Anexo 16. *Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en EPgra05*



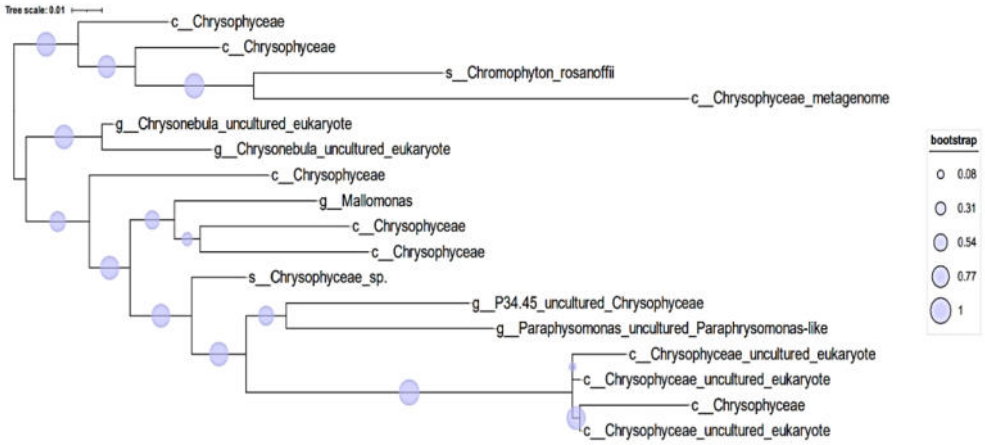
Anexo 17. *Árbol filogenético de taxones de microalgas en EPgra05*



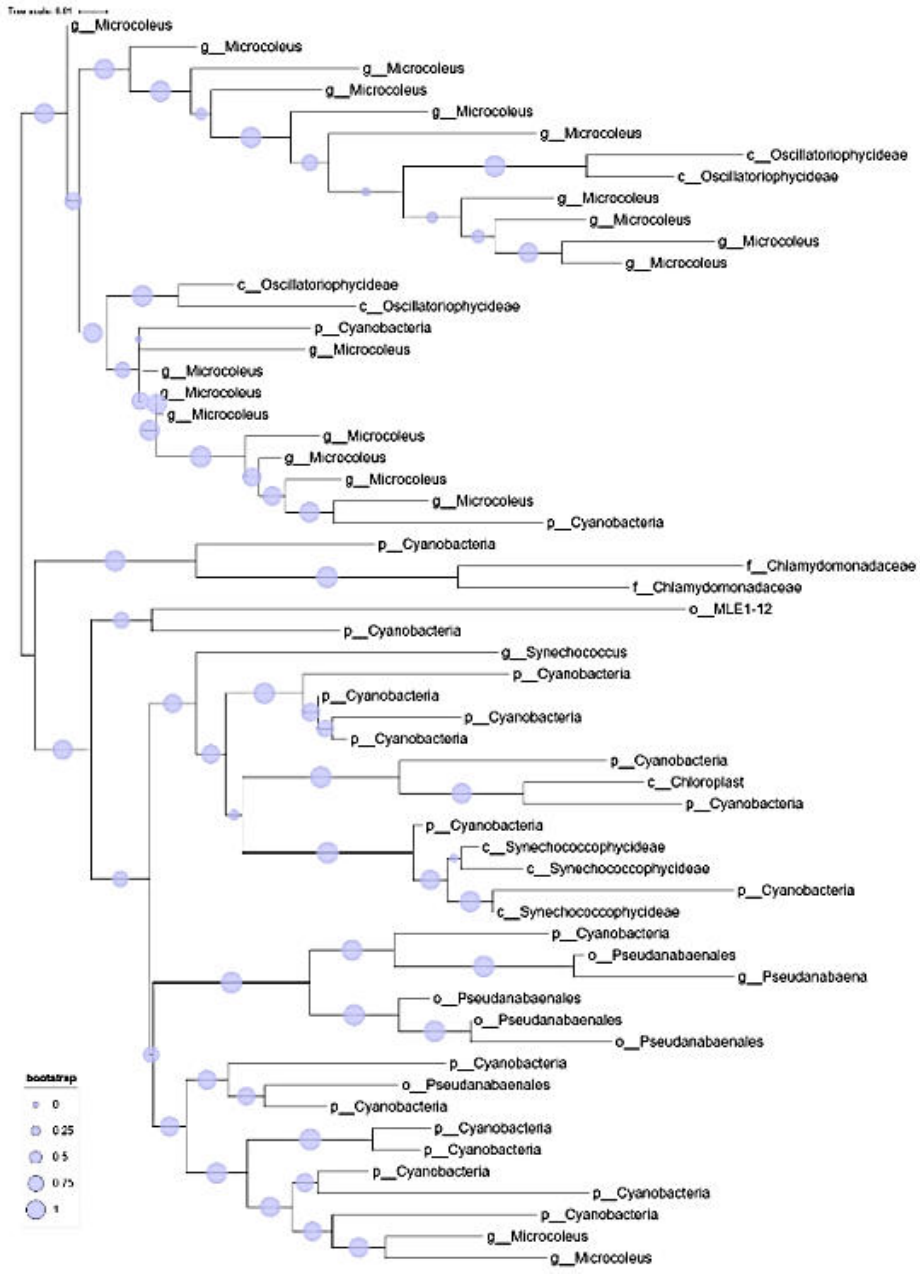
Anexo 18. *Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en Bocatoma*



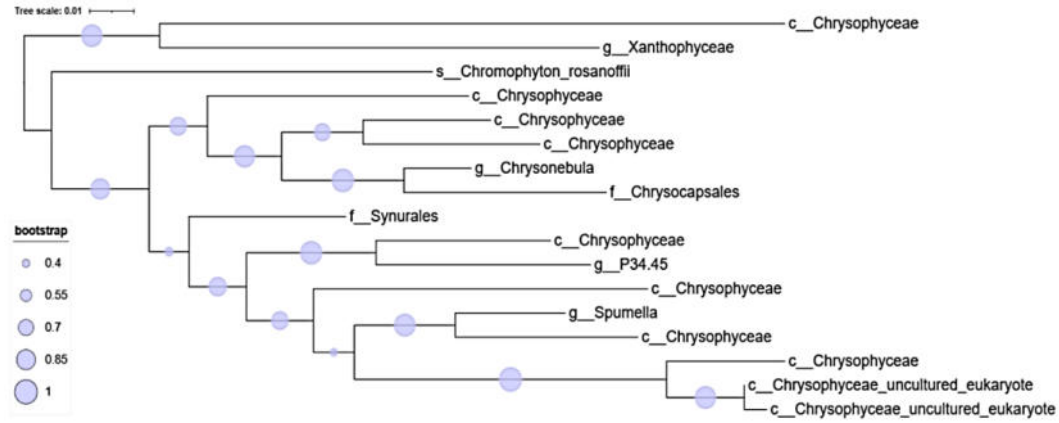
Anexo 19. *Árbol filogenético de taxones de microalgas en Bocatoma*



Anexo 20. *Árbol filogenético de taxones de cianobacterias en Naciente*



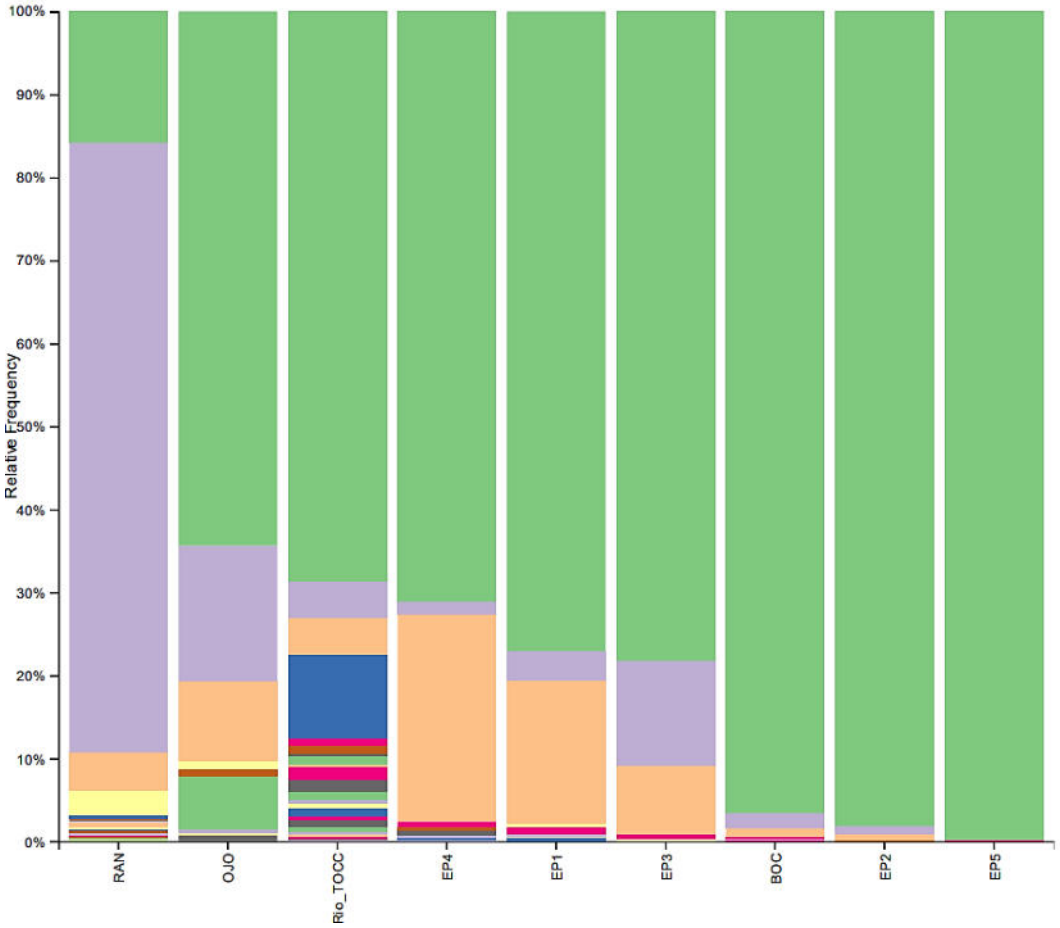
Anexo 21. *Árbol filogenético de taxones de microalgas en Naciente*



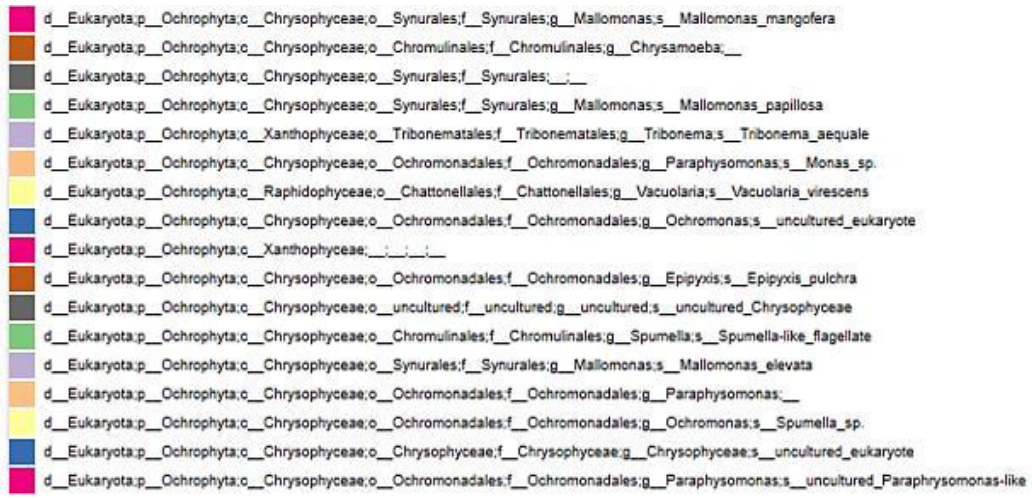
Anexo 22. *Árbol filogenético de taxones de cianobacterias de todas las muestras*



Anexo 23. *Árbol filogenético de taxones de microalgas de todas las muestras*



d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__uncultured;f__uncultured;g__uncultured;s__uncultured_eukaryote
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Chrysocapsales;f__Chrysocapsales;g__Chrysonebula;s__uncultured_eukaryote
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;__;__;__;__
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Chrysocapsales;f__Chrysocapsales;__;__
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Synurales;f__Synurales;g__Synura;s__Synura_petersenii
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Synurales;f__Synurales;g__Mallomonas;__
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Chromulinales;f__Chromulinales;g__Spumella;__
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Synurales;f__Synurales;g__Synura;s__Synura_mammillosa
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__P34.45;f__P34.45;g__P34.45;s__uncultured_Chrysophyceae
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Chrysophyceae;f__Chrysophyceae;g__Chrysophyceae;s__Chromophyton_rosanoffii
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Chromulinales;f__Chromulinales;g__Chrysochaete;s__Chrysochaete_britannica
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Chrysocapsales;f__Chrysocapsales;g__Chrysonebula;__
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Ochromonadales;f__Ochromonadales;g__Ochromonas;s__Ochromonas_sphaerocystis
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Synurales;f__Synurales;g__Synura;s__Synura_curtispina
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Xanthophyceae;o__Xanthophyceae;f__Xanthophyceae;g__Xanthophyceae;s__Botryidiopsidaceae_sp.
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Ochromonadales;f__Ochromonadales;g__Dinobryon;s__Dinobryon_sertularia
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Synurales;f__Synurales;g__Mallomonas;s__Mallomonas_striata
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Ochromonadales;f__Ochromonadales;g__Paraphysomonas;s__eukaryotic_picoplankton
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Ochromonadales;f__Ochromonadales;g__Ochromonas;__
d__Eukaryota;p__Klebsormidiophyceae;c__Klebsormidiophyceae;o__Klebsormidiophyceae;f__Klebsormidiophyceae;g__Klebsormidiophyceae;__
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__uncultured;f__uncultured;g__uncultured;s__metagenome
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Ochromonadales;f__Ochromonadales;g__Paraphysomonas;s__uncultured_Spumella
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__uncultured;f__uncultured;g__uncultured;s__Chrysophyceae_sp.
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Xanthophyceae;o__Mischococcales;f__Mischococcales;g__Chlorellidium;s__Chlorellidium_tetrabotrys
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Xanthophyceae;o__Mischococcales;f__Mischococcales;g__Botrydiopsis;s__Botrydiopsis_calliosa
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Synurales;f__Synurales;g__Synura;__
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Ochromonadales;f__Ochromonadales;g__Dinobryon;__
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Xanthophyceae;o__Xanthophyceae;f__Xanthophyceae;g__Xanthophyceae;__
d__Eukaryota;p__Ochrophyta;c__Chrysophyceae;o__Chromulinales;f__Chromulinales;g__Spumella;s__uncultured_freshwater



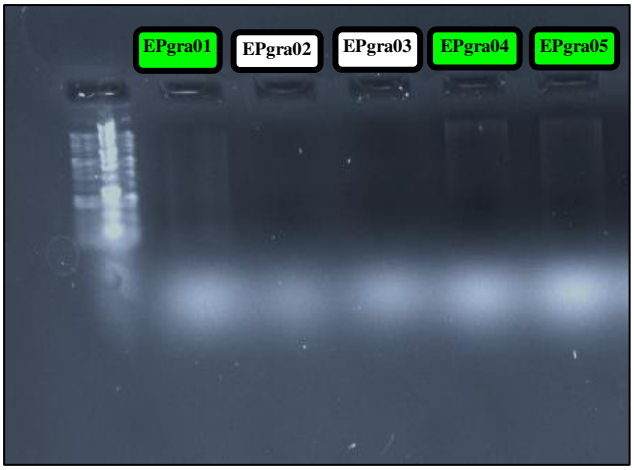
Anexo 24. *Cuantificación de ADN ambiental con el espectrofotómetro NanoDrop*

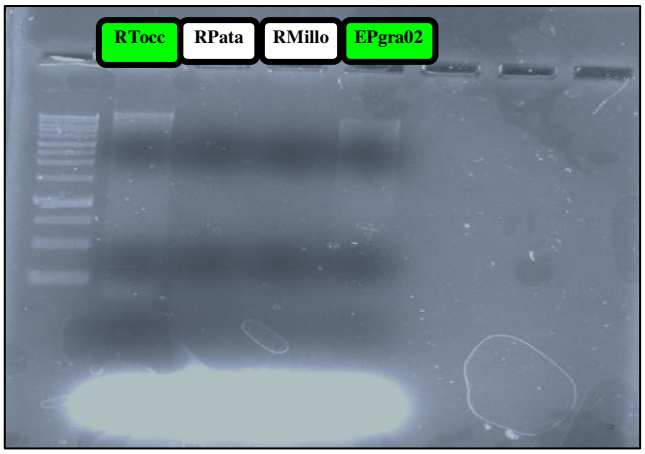
Cuantificación NanoDrop								
Nombre de muestra	**Ácido nucleico (ng/uL)**	**A260 / A280**	**A260 / A230**	**A260**	**A280**	**Factor de ácido nucleico**	**Corrección de línea base (nm)**	**Absorbancia de línea base**
Río Millo	65,509	1,898	0,873	1,310	0,690	50,00	340	0,240
Río Anta	124,382	1,789	0,950	2,488	1,391	50,00	340	0,870
Río Tocc	68,371	1,712	0,739	1,367	0,799	50,00	340	0,555
Bocatoma	111,669	1,995	1,143	2,233	1,120	50,00	340	0,438
EPgra 01	51,687	2,040	0,875	1,034	0,507	50,00	340	0,123
EPgra 02	33,167	1,830	0,578	0,663	0,362	50,00	340	0,200
EPgra 03	107,859	1,970	1,146	2,157	1,095	50,00	340	0,826
EPgra 04	117,257	1,728	0,880	2,345	1,357	50,00	340	0,939
EPgra 05	126,634	1,996	1,204	2,533	1,269	50,00	340	0,622
Ojo de Agua	65,612	1,989	0,944	1,312	0,660	50,00	340	0,158

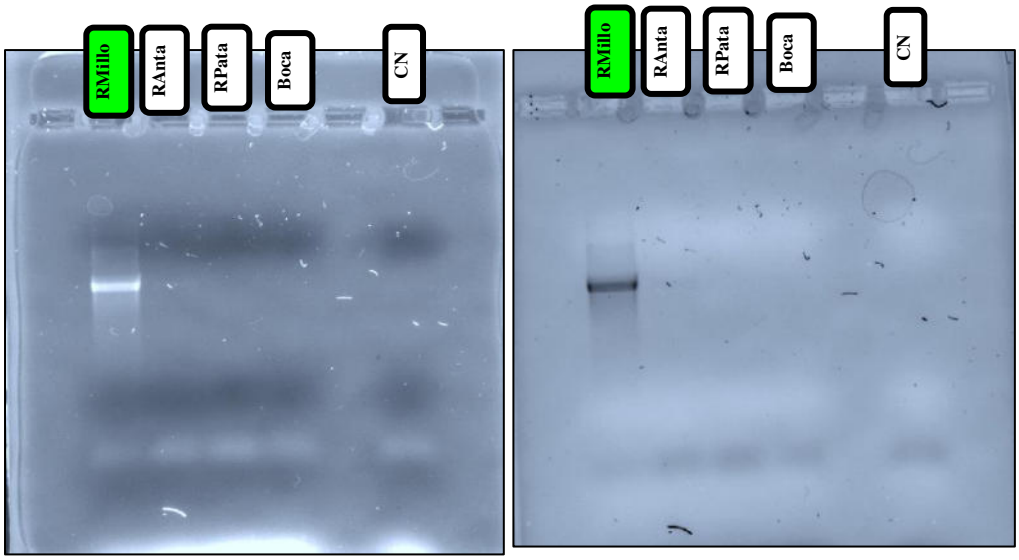
Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

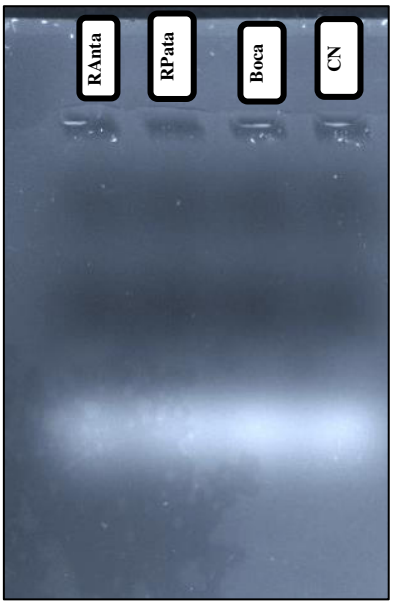
Anexo 25. *Capturas de imagen de gel de agarosa del ADN metagenómico según los puntos de muestreo*

CAPTURA DE IMÁGENES EN GEL DE LAS MUESTRAS AMBIENTALES

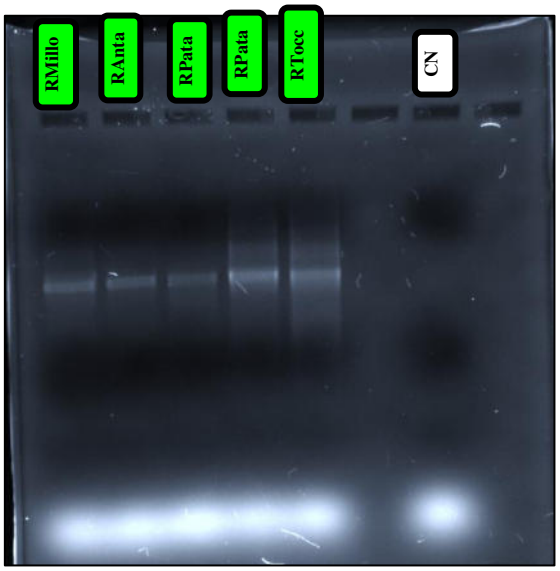


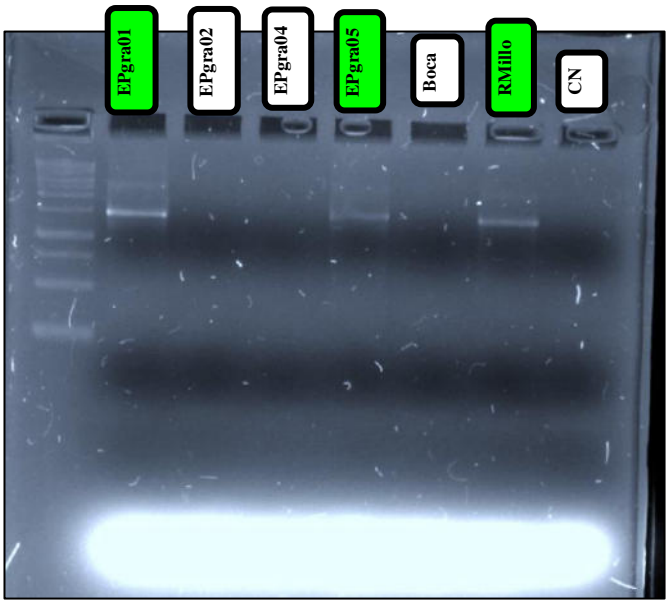


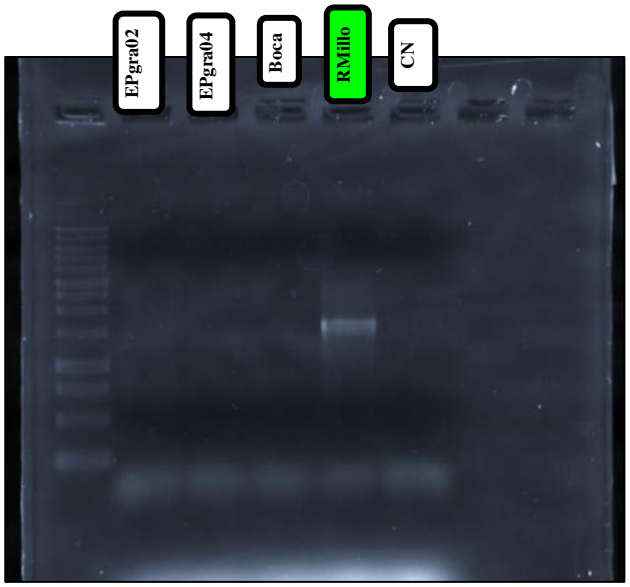



RAnta
RPata
Boca
CN

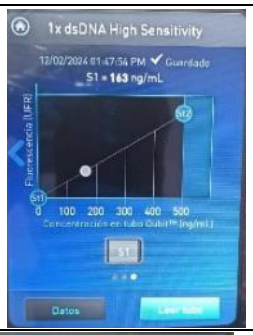
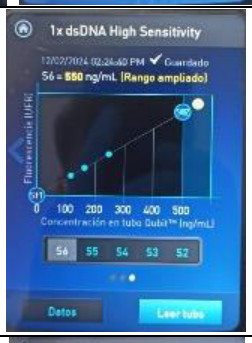
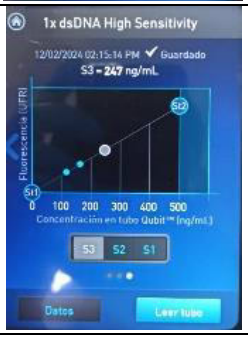

OJO
RAnta
RPata
RPata
Boca

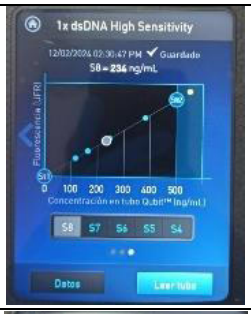

RMillo
RAnta
RPata
RPata
RTocc
CN


EPgra01
EPgra02
EPgra04
EPgra05
Boca
RMillo
CN


EPgra02
EPgra04
Boca
RMillo
CN

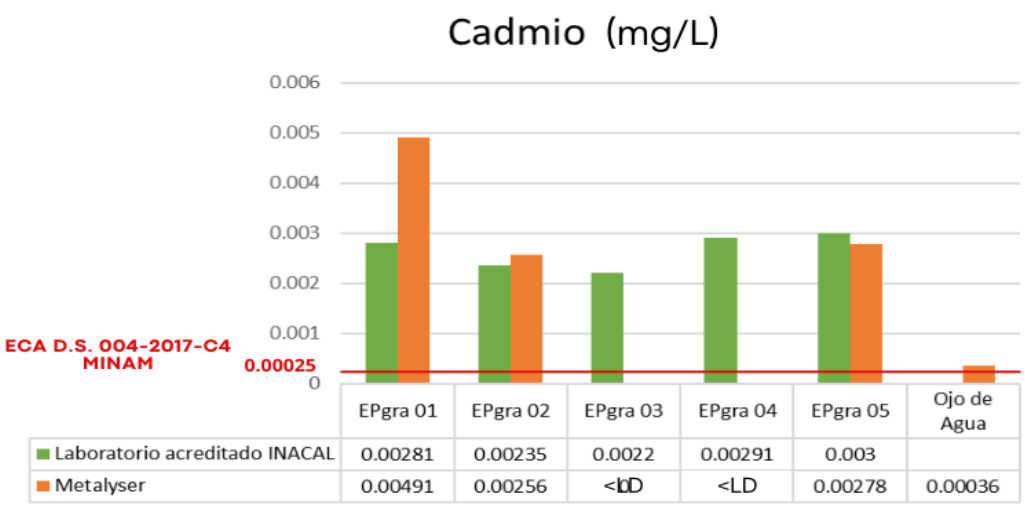
Anexo 26. *Cuantificación de ADN metagenómico mediante el fluorómetro Qubit*

Cuantificación Qubit				
N°	**Nombre de muestra**	**Concentración ng/uL**	**Gráfico**	**Concentración ng/uL**
1	RMillo			16.3
2	RAnta			38.1
3	RTocc			16.3
4	Bocatoma			55.0
5	EPgra01			24.7

	EPgra02			14.0
7	EPgra03			26.9
8	EPgra04			23.4
9	EPgra05			53.0
10	Naciente			11.7

Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

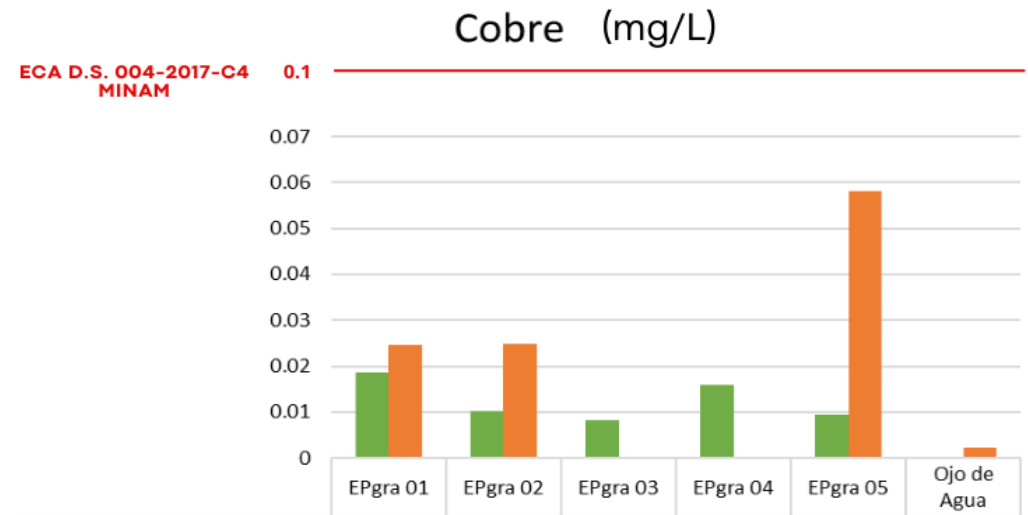
Anexo 27. *Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Cadmio, puntos del embalse y punto blanco*



	EPgra 01	EPgra 02	EPgra 03	EPgra 04	EPgra 05	Ojo de Agua
Laboratorio acreditado INACAL	0.00281	0.00235	0.0022	0.00291	0.003	
Metalyser	0.00491	0.00256	<LD	<LD	0.00278	0.00036

Nota: Gráfico comparativo entre el principio analítico de voltamperometría de redisolución anódica y catódica del Metalyser HM3000 y el método de Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) del Laboratorio Acreditado por el INACAL.

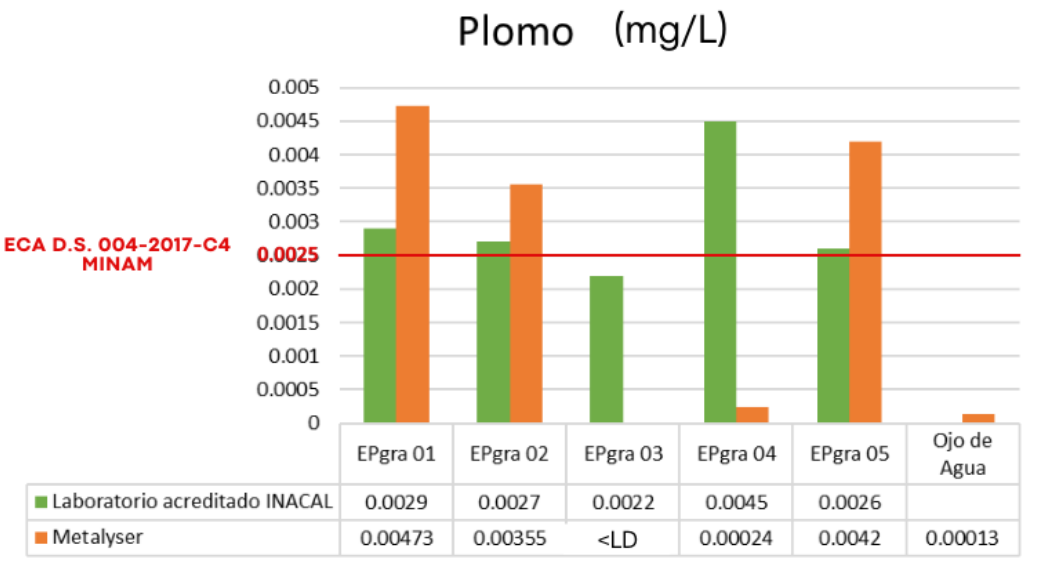
Anexo 28. *Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Cobre, puntos del embalse y punto blanco*



	EPgra 01	EPgra 02	EPgra 03	EPgra 04	EPgra 05	Ojo de Agua
Laboratorio acreditado INACAL	0.01866	0.01032	0.00821	0.01602	0.00945	
Metalyser	0.02468	0.02481	<LD	<LD	0.05821	0.00233

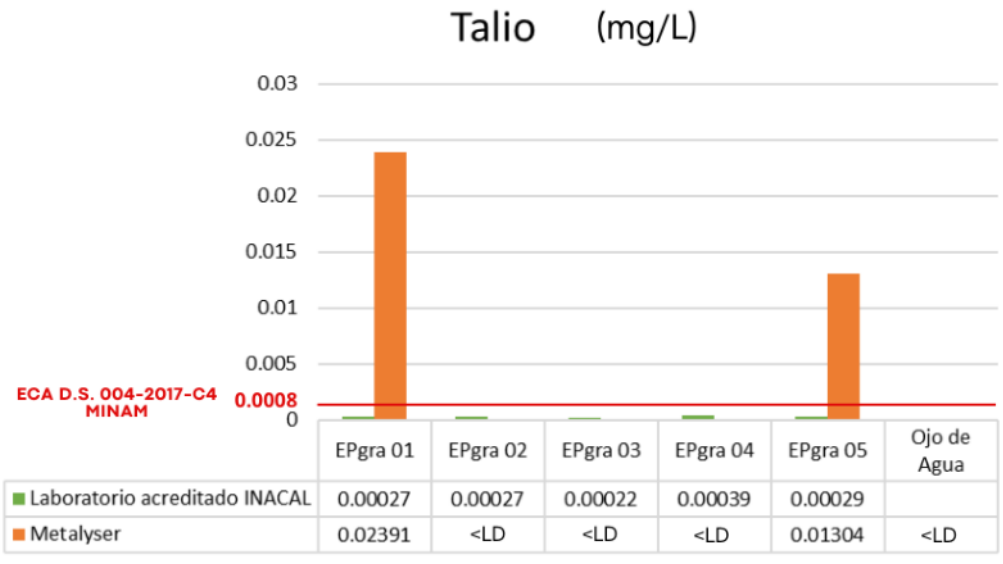
Nota: Gráfico comparativo entre el principio analítico de voltamperometría de redisolución anódica y catódica del Metalyser HM3000 y el método de Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) del Laboratorio Acreditado por el INACAL.

Anexo 29. *Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Plomo, puntos del embalse y punto blanco*



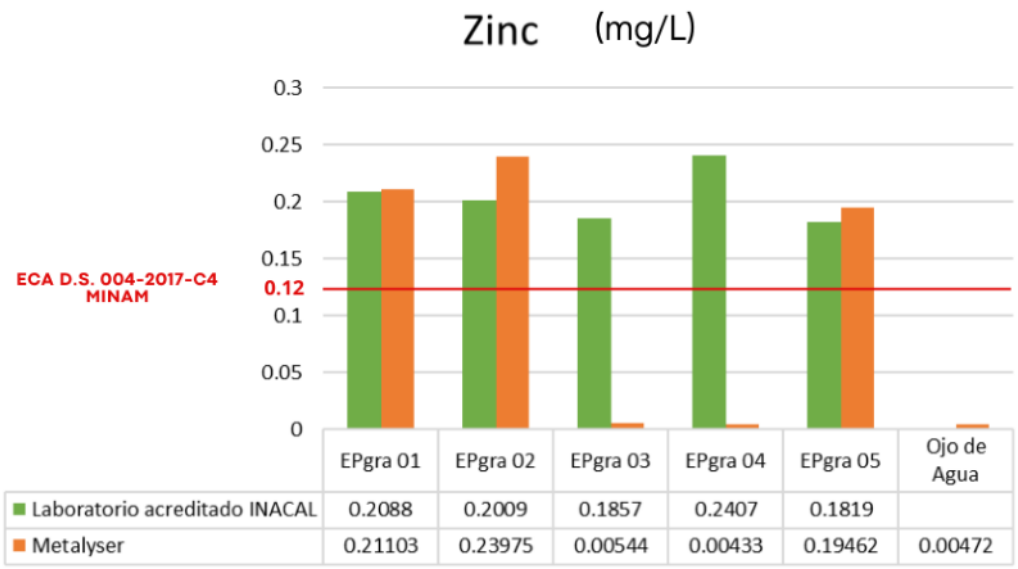
Nota: Gráfico comparativo entre el principio analítico de voltamperometría de redisolución anódica y catódica del Metalyser HM3000 y el método de Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) del Laboratorio Acreditado por el INACAL.

Anexo 30. *Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Talio, puntos del embalse y punto blanco*



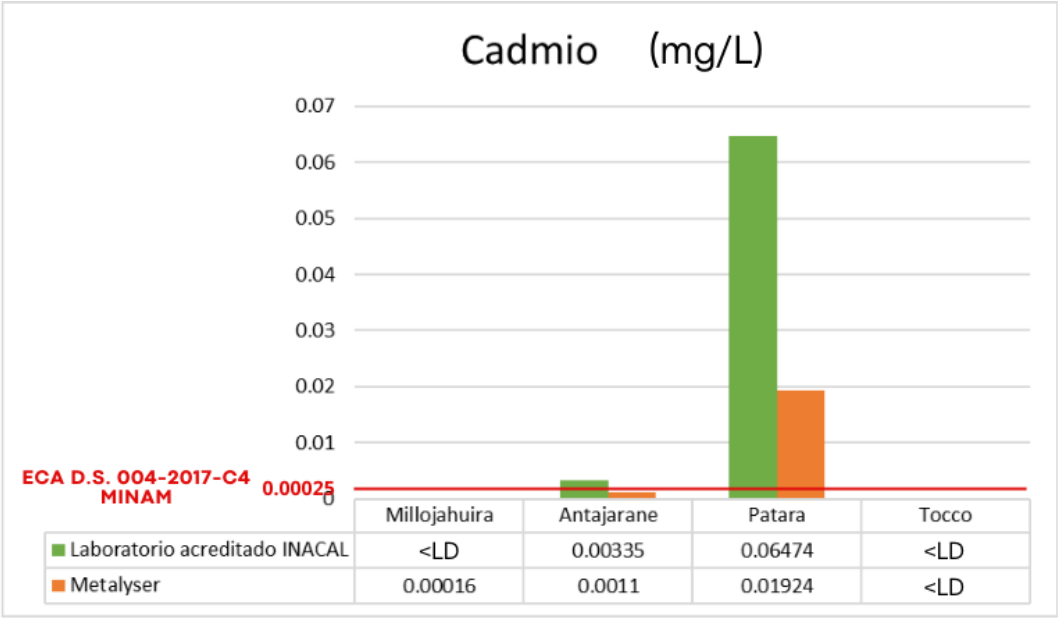
Nota: Gráfico comparativo entre el principio analítico de voltamperometría de redisolución anódica y catódica del Metalyser HM3000 y el método de Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) del Laboratorio Acreditado por el INACAL.

Anexo 31. *Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Zinc, puntos del embalse y punto blanco*



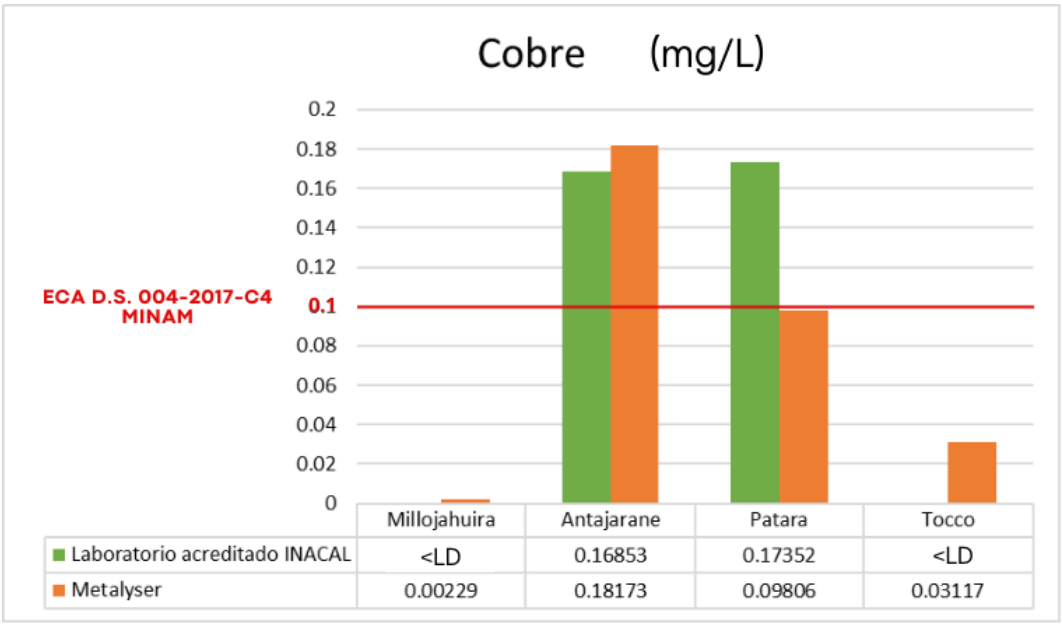
Nota: Gráfico comparativo entre el principio analítico de voltamperometría de redisolución anódica y catódica del Metalyser HM3000 y el método de Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) del Laboratorio Acreditado por el INACAL.

Anexo 32. *Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Cadmio, en los ríos tributarios*



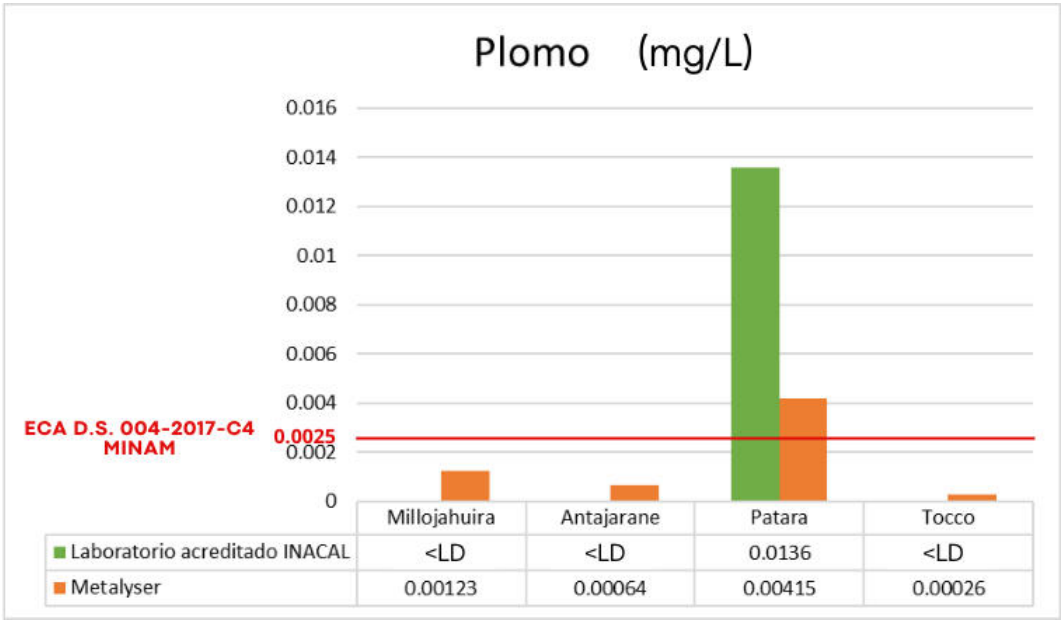
Nota: Gráfico comparativo entre el principio analítico de voltamperometría de redisolución anódica y catódica del Metalyser HM3000 y el método de Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) del Laboratorio Acreditado por el INACAL en los ríos tributarios.

Anexo 33. *Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Cobre, en los ríos tributarios*



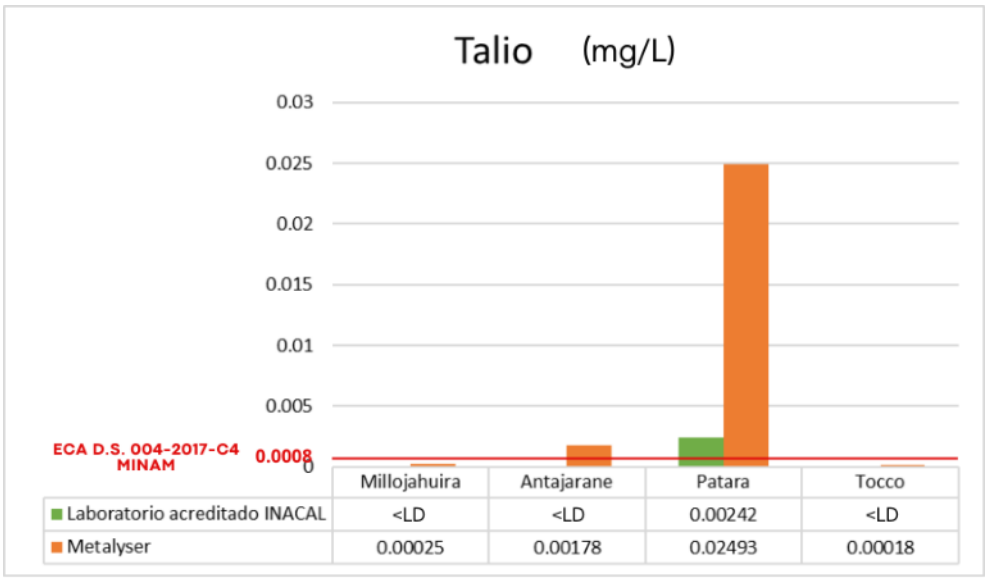
Nota: Gráfico comparativo entre el principio analítico de voltamperometría de redisolución anódica y catódica del Metalyser HM3000 y el método de Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) del Laboratorio Acreditado por el INACAL en los ríos tributarios.

Anexo 34. *Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Plomo, en los ríos tributarios*



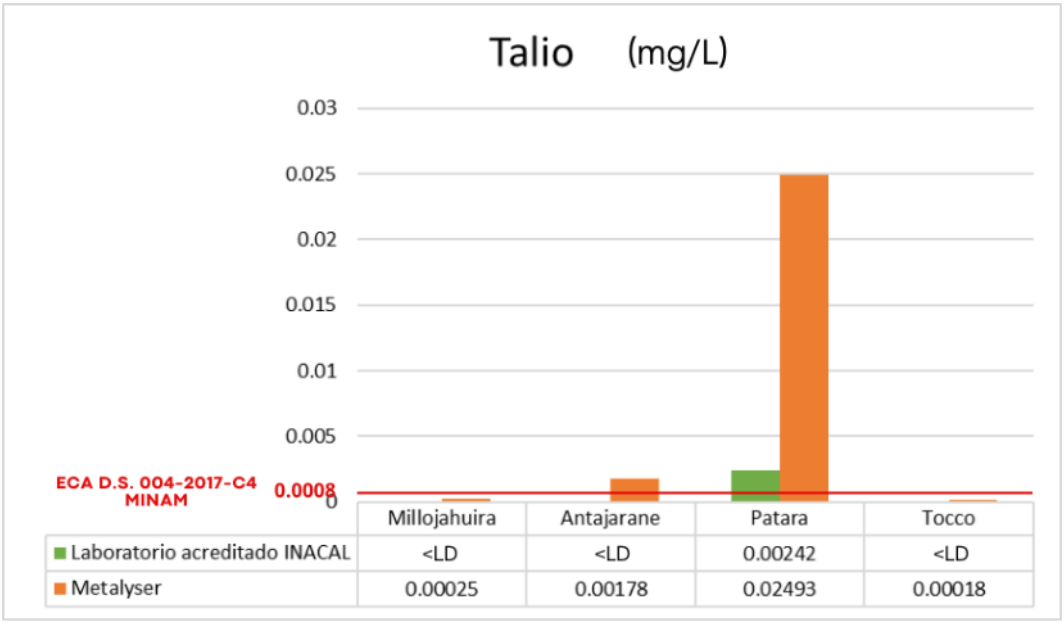
Nota: Gráfico comparativo entre el principio analítico de voltamperometría de redisolución anódica y catódica del Metalyser HM3000 y el método de Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) del Laboratorio Acreditado por el INACAL en los ríos tributarios.

Anexo 35. *Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Talio, en los ríos tributarios*



Nota: Gráfico comparativo entre el principio analítico de voltamperometría de redisolución anódica y catódica del Metalyser HM3000 y el método de Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) del Laboratorio Acreditado por el INACAL en los ríos tributarios.

Anexo 36. *Comparación de resultados obtenidos con el Metalyser e ICP para el Zinc, en los ríos tributarios*



Nota: Gráfico comparativo entre el principio analítico de voltamperometría de redisolución anódica y catódica del Metalyser HM3000 y el método de Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) del Laboratorio Acreditado por el INACAL en los ríos tributarios.

Anexo 37. *Concentración de metales pesados en el embalse Pasto Grande con el método de Voltamperometría de redisolución anódica y catódica – equipo Metalyser HM3000*

Unidad de medida	Parámetros	EPgra 01	EPgra 02	EPgra 03	EPgra 04	EPgra 05	Ojo de Agua
mg/L	**As Total**	0.00684	0.01349	0.0139	0.00394	0.00206	0.00438
mg/L	**Hg**	0.0087	0.01177	0.02416	0.2729	0.02194	0.02856
mg/L	**Cd**	0.00491	0.00256	<LD	<LD	0.00278	0.00036
mg/L	**Pb**	0.00473	0.00355	<LD	0.00024	0.0042	0.00013
mg/L	**Cu**	0.02468	0.02481	<LD	<LD	0.05821	0.00233
mg/L	**Zn**	0.21103	0.23975	0.00544	0.00433	0.19462	0.00472
mg/L	**Mn**	0.71457	0.86342	0.00724	0.0071	0.09141	0.00129
mg/L	**Co**	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
mg/L	**Se**	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
mg/L	**Tl**	0.02391	<LD	<LD	<LD	0.01304	<LD
mg/L	**Ni**	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
mg/L	**Au**	<LD	<LD	<LD	<LD	0.01163	<LD
mg/L	**Bi**	0.09633	0.13335	0.02164	<LD	0.00242	0.04831
mg/L	**Cr**	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
mg/L	**Sn**	<LD	<LD	<LD	<LD	0.26744	0.86667

Nota: RMillo: Río Millojahuira; RAnta: Río Antajarane; RTocc: Río Tocco; EPgra01: Embalse Pasto Grande 01; EPgra02: Embalse Pasto Grande 02; EPgra03: Embalse Pasto Grande 03; EPgra04: Embalse Pasto Grande 04; EPgra05: Embalse Pasto Grande 05.

Anexo 38. *Concentración de metales pesados en el embalse Pasto Grande con el método de Espectrofotometría de Masa con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) – equipo Espectrofotómetro de masas*

Unidad de medida	Parámetros	EMB 1	EMB 2	EMB 3	EMB 4	EMB 5
mg/L	Antimonio	<0.00013	<0.00013	<0.00013	<0.00013	<0.00013
mg/L	Arsénico	0.002	0.00128	<0.00010	0.00212	<0.00010
mg/L	Bario	0.0309	0.0296	0.0267	0.047	0.0295
mg/L	Cadmio Disuelto	0.00281	0.00235	0.0022	0.00291	0.003
mg/L	Cobre	0.01866	0.01032	0.00821	0.01602	0.00945
mg/L	Cromo VI	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003
mg/L	Mercurio	<0.00009	<0.00009	<0.00009	<0.00009	<0.00009
mg/L	Níquel	0.0211	0.0212	0.0175	0.0319	0.0198
mg/L	Plomo	0.0029	0.0027	0.0022	0.0045	0.0026
mg/L	Selenio	<0.0013	<0.0013	<0.0013	<0.0013	<0.0013
mg/L	Talio	0.00027	0.00027	0.00022	0.00039	0.00029
mg/L	Zinc	0.2088	0.2009	0.1857	0.2407	0.1819

Anexo 39. *Concentración de metales pesados en los ríos tributarios del embalse Pasto Grande con el método de Voltamperometría de redisolución anódica y catódica – equipo Metalyser HM3000*

Unidad de medida	Parámetros	Millojahuira	Antajarane	Patara	Tocco
mg/L	**As Total**	0.02265	0.0061	0.11958	0.01775
mg/L	**Hg**	0.00021	0.07274	0.02879	0.38256
mg/L	**Cd**	0.00016	0.0011	0.01924	<LD
mg/L	**Pb**	0.00123	0.00064	0.00415	0.00026
mg/L	**Cu**	0.00229	0.18173	0.09806	0.03117
mg/L	**Zn**	0.12554	0.30209	1.32912	0.00556
mg/L	**Mn**	0.26302	0.29961	<LD	0.00374
mg/L	**Co**	<LD	0.00103	<LD	0.01419
mg/L	**Se**	<LD	<LD	0.0303	<LD
mg/L	**Tl**	0.00025	0.00178	0.02493	0.00018
mg/L	**Ni**	<LD	<LD	<LD	<LD
mg/L	**Au**	0.02582	<LD	0.0287	<LD
mg/L	**Bi**	0.11588	0.10161	0.08519	<LD
mg/L	**Cr**	<LD	<LD	<LD	<LD
mg/L	**Sn**	<LD	<LD	<LD	<LD

Anexo 40. *Concentración de metales pesados en los ríos tributarios del embalse Pasto Grande con el método de Espectrofotometría de Masa con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) – equipo Espectrofotómetro de masas*

Unidad de medida	Parámetros	MILLO	ANTA	PATA	TOCCO
mg/L	Antimonio	<0.00013	<0.00013	0.01914	<0.00013
mg/L	Arsénico	<0.00010	<0.00010	1.08055	0.01578
mg/L	Bario	0.0062	0.0052	0.0824	0.0041
mg/L	Cadmio Disuelto	<0.00003	0.00335	0.06474	<0.00003
mg/L	Cobre	<0.00009	0.16853	0.17352	<0.00009
mg/L	Cromo VI	<0.0003	0.005	0.0029	<0.0003
mg/L	Mercurio	<0.00009	<0.00009	<0.00009	<0.00009
mg/L	Níquel	0.0465	0.0934	0.0875	<0.0006
mg/L	Plomo	<0.0006	<0.0006	0.0136	<0.0006
mg/L	Selenio	<0.0013	<0.0013	<0.0013	<0.0013
mg/L	Talio	<0.00006	<0.00006	0.00242	<0.00006
mg/L	Zinc	0.2766	0.3545	2.2884	<0.0026

Anexo 41. *Protocolo del kit DNeasy PowerWater*

Quick-Start Protocol July 2022

DNeasy® PowerWater® Kit

The DNeasy PowerWater Kit (cat. nos. 14900-50-NF and 14900-100-NF) can be stored at room temperature (15–25°C) until the expiry date printed on the box label.

Further information

- *DNeasy PowerWater Kit Handbook*: **www.qiagen.com/HB-2267**
- Safety Data Sheets: **www.qiagen.com/safety**
- Technical assistance: **support.qiagen.com**

Notes before starting

- Solution PW1 must be warmed to 55°C for 5–10 min to dissolve precipitates prior to use. Solution PW1 should be used while still warm.
- If Solution PW3 has precipitated, heat to 55°C for 5–10 min to dissolve precipitate.
- Shake to mix Solution PW4 before use.

1. Filter water samples using a filter funnel attached to a vacuum source. The volume of water filtered will depend on the microbial load and turbidity of the water sample.

   Note: Please see Types of Water Samples in the Appendix and Troubleshooting Guide.
2. If using a reusable filter funnel, remove the upper portion of the apparatus.
3. Using two sets of sterile forceps, pick up the white filter membrane at opposite edges and roll the filter into a cylinder with the top side facing inward.

   Note: Do not tightly roll or fold the filter membrane.
4. Insert the filter into a 5 ml PowerWater Bead Pro Tube.
5. Add 1 ml of Solution PW1 to the PowerWater Bead Pro Tube.

   Note: For samples containing organisms that are difficult to lyse (e.g., fungi and algae) an additional heating step can be included. See Alternate Lysis Method in the Appendix and Troubleshooting Guide.
6. Secure the tube horizontally to a vortex adapter.
7. Vortex at maximum speed for 5 min. Centrifuge the tubes ≤4000 x *g* for 1 min at room temperature. (This centrifugation step is optional if a centrifuge with a 15 ml tube rotor is not available but will result in minor loss of supernatant.).

Sample to Insight

Nota: (QIAGEN, 2022)

8. Transfer the supernatant to a clean 2 ml collection tube (provided). Draw up the supernatant using a 1 ml pipette tip by placing it down into the beads.

   Note: Placing the pipette tip down into the beads is required. Pipette until you have removed all the supernatant. Expect to recover 600–650 µl of supernatant.

9. Centrifuge at 13,000 x *g* for 1 min at room temperature.
10. Avoiding the pellet, transfer the supernatant to a clean 2 ml collection tube (provided).
11. Add 200 µl of Solution IRS and vortex briefly to mix. Incubate at 2–8°C for 5 min.
12. Centrifuge the tubes at 13,000 x *g* for 1 min.
13. Avoiding the pellet, transfer the supernatant to a clean 2 ml collection tube (provided).
14. Add 650 µl of Solution PW3 and vortex briefly to mix.
15. Load 650 µl of supernatant onto a MB Spin Column. Centrifuge at 13,000 x *g* for 1 min. Discard the flow-through. Repeat until all the supernatant has been processed.
16. Place the MB Spin Column Filter into a clean 2 ml collection tube (provided).
17. Add 650 µl of Solution PW4 (shake before use). Centrifuge at 13,000 x *g* for 1 min.
18. Discard the flow-through and add 650 µl of ethanol (provided) and centrifuge at 13,000 x *g* for 1 min.
19. Discard the flow-through and centrifuge again at 13,000 x *g* for 2 min.
20. Place the MB Spin Column into a clean 2 ml collection tube (provided).
21. Add 100 µl of Solution EB to the center of the white filter membrane.
22. Centrifuge at 13,000 x *g* for 1 min.
23. Discard the MB Spin Column. The DNA is now ready for downstream applications.

Document Revision History

Date	Changes
07/2022	Replaced "PowerWater DNA Bead Tubes" with "PowerWater Bead Pro Tubes". Deleted reference to a video.

Scan QR code for handbook.

For up-to-date licensing information and product-specific disclaimers, see the respective QIAGEN kit handbook or user manual. Trademarks: QIAGEN®, Sample to Insight®, DNeasy®, PowerWater® (QIAGEN Group). Registered names, trademarks, etc. used in this document, even when not specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law.

1127599 07/2022 HB-2181-002 © 2022 QIAGEN, all rights reserved.

Nota: (QIAGEN, 2022)

Anexo 42. *Protocolo para ensayo de alta sensibilidad 1X para la cuantificación de ADN ambiental con el Qubit 4*

invitrogen USER GUIDE

Qubit™ 1X dsDNA HS Assay Kits

Catalog No. Q33230, Q33231

Pub. No. MAN0017455 **Rev.** C.0

Qubit™ 4 Fluorometer

3.1 On the **Home** screen of the Qubit™ 3 or the Qubit™ 4 Fluorometer, press **DNA**, then select **1X dsDNA HS** as the assay type. The "Read standards" screen is displayed. Press **Read Standards** to proceed.

Note: If you have already performed a calibration for the selected assay, the instrument prompts you to choose between reading new standards and running samples using the previous calibration. If you want to use the previous calibration, skip to step 3.4. Otherwise, continue with step 3.2.

3.2 Insert the tube containing Standard #1 into the sample chamber, close the lid, then press **Read standard**. When the reading is complete (~3 seconds), remove Standard #1.

3.3 Insert the tube containing Standard #2 into the sample chamber, close the lid, then press **Read standard**. When the reading is complete, remove Standard #2.

The instrument displays the results on the Read standard screen. For information on interpreting the calibration results, refer to the *Qubit™ Fluorometer User Guide*, available for download at **thermofisher.com/qubit**.

3.4 Press **Run samples**.

3.5 On the assay screen, select the sample volume and units:

a. Press the + or – buttons on the wheel, or anywhere on the wheel itself, to select the **sample volume** added to the assay tube (from 1–20 µL).

b. From the **unit** dropdown menu, select the units for the output sample concentration.

3.6 Insert a sample tube into the sample chamber, close the lid, then press **Read tube**. When the reading is complete (~3 seconds), remove the sample tube.

The top value (in large font) is the concentration of the original sample and the bottom value is the dilution concentration. For information on interpreting the sample results, refer to the *Qubit™ Fluorometer User Guide*.

3.7 Repeat step 3.6 until all samples have been read.

Nota: (Invitrogen, 2020b)

Anexo 43. *Visita preliminar para el reconocimiento del lugar de estudio: embalse Pasto Grande*



Anexo 44. *Mediciones preliminares de los parámetros fisicoquímicos, pruebas en campo de equipo multiparamétrico*



Anexo 45. *Prueba del software bbe++* in situ *para monitoreos posteriores*



Anexo 46. *Puesta a prueba de fluorómetro bbe Moldaenke y monitoreo preliminar de la concentración de cianobaterias y clorofila-A*







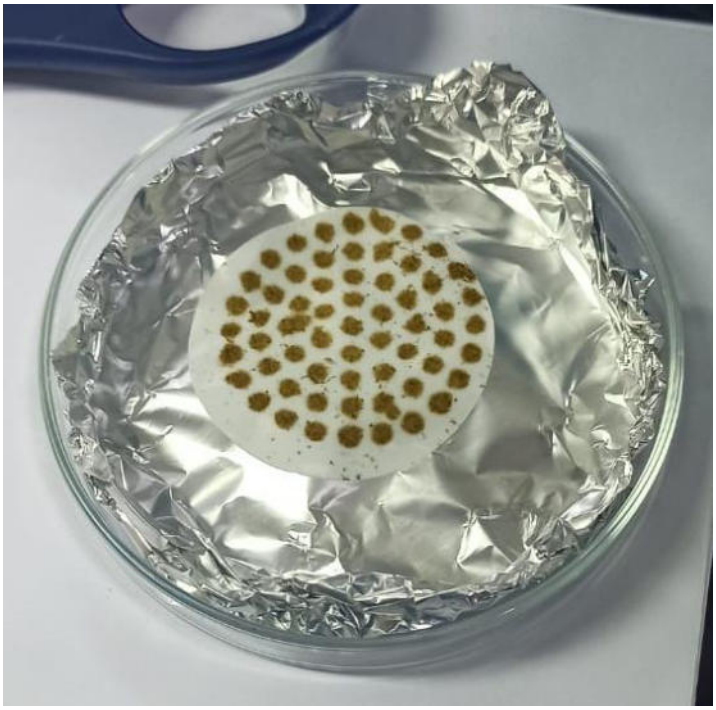
Anexo 47. *Manipulación preliminar de bomba de vacío*



Anexo 48. *Filtración de muestras de agua*



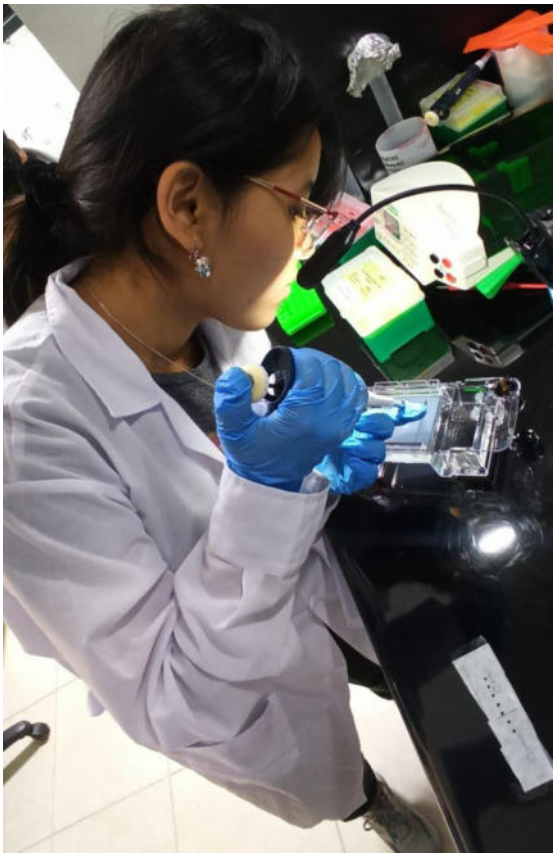
Anexo 49. *Acondicionamiento para conservación de membranas*



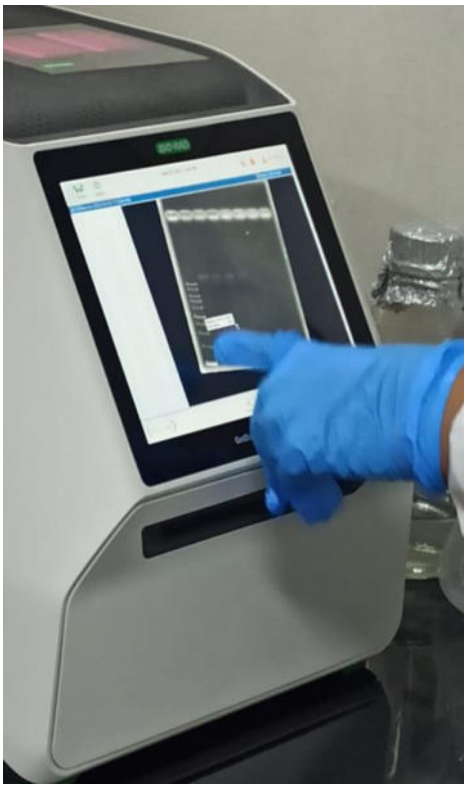
Anexo 50. *Manipulación preliminar de Kit DNeasy PowerWater Qiagen*



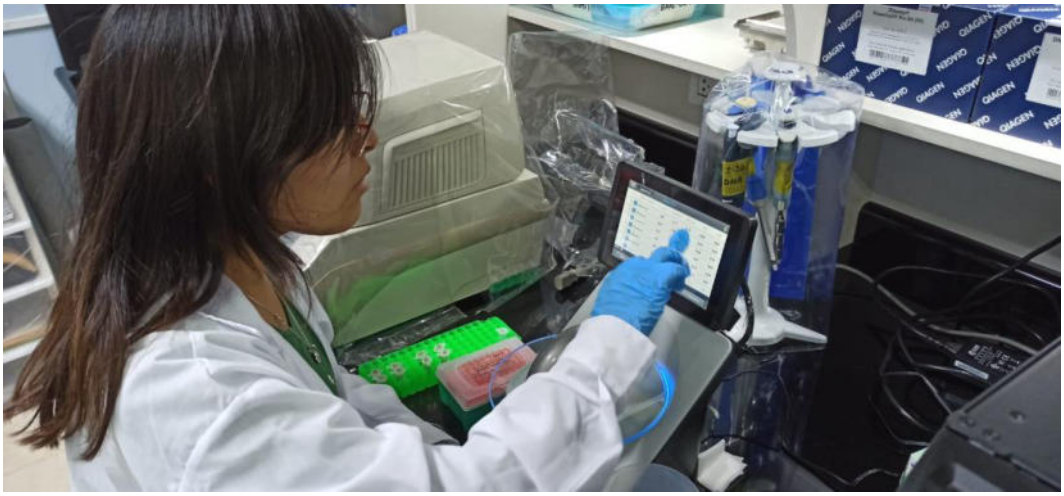
Anexo 51. *Realización preliminar de electroforesis*



Anexo 52. *Manipulación preliminar del Fotodocumentador*



Anexo 53. *Manipulación preliminar del equipo NanoDrop One C*



Anexo 54. *Capacitación para el equipo Metalyser HM3000*



Anexo 55. *Certificado de capacitación para uso y manipulación de Metalyser HM3000 Field Pro de ambos tesistas*



medilab

CERTIFICADO DE CAPACITACIÓN EN USO Y MANEJO DEL EQUIPO

CON EL PRESENTE SE RECONOCE QUE:

Brayan Alexander Chipana Condori

HA FINALIZADO CON ÉXITO LA CAPACITACIÓN EN EL USO Y MANEJO DEL EQUIPO
"ANALIZADOR PORTÁTIL DE METALES PESADOS EN AGUA - METALYSER HM3000"
MARCA: TRACE2O

REALIZADO EL DÍA 11 DE ABRIL DEL 2023, CON UNA DURACIÓN DE 8 HORAS,
EN LAS INSTALACIONES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA FILIAL ILO.

CH & S MEDILAB S.A.C.
Julio Ronald Chávez Rojas
GERENTE GENERAL



medilab

CERTIFICADO DE CAPACITACIÓN EN USO Y MANEJO DEL EQUIPO

CON EL PRESENTE SE RECONOCE QUE:

Marians Romina Luque Checalla

HA FINALIZADO CON ÉXITO LA CAPACITACIÓN EN EL USO Y MANEJO DEL EQUIPO
"ANALIZADOR PORTÁTIL DE METALES PESADOS EN AGUA - METALYSER HM3000"
MARCA: TRACE2O

REALIZADO EL DÍA 11 DE ABRIL DEL 2023, CON UNA DURACIÓN DE 8 HORAS,
EN LAS INSTALACIONES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA FILIAL ILO.

CH & S MEDILAB S.A.C.
Julio Ronald Chávez Rojas
GERENTE GENERAL

Anexo 56. *ECA-Agua. Categoría 1: Población y recreacional, subcategoría A: Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable*

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_5)	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_3^-) ©	mg/L	50	50	50
Nitritos (NO_2^-) (d)	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	**

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
		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
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

Nota: (MINAM, 2017)

Anexo 57. *ECA-Agua. Categoría 3. Riego y bebida de animales*

Parámetros	Unidad de medida	D1: Riego de vegetales		D2: Bebida de animales
		Agua para riego no restringido ©	Agua para riego restringido	Bebida de animales
Físicos- Químicos				
Aceites y Grasas	mg/L	5		10
Bicarbonatos	mg/L	518		**
Cianuro Wad	mg/L	0,1		0,1
Cloruros	mg/L	500		**
Color (b)	Color verdadero Escala Pt/Co	100 (a)		100 (a)
Conductividad	(µS/cm)	2 500		5000
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5)	mg/L	15		15
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/L	40		40
Detergentes (SAAM)	mg/L	0,2		0,5
Fenoles	mg/L	0,002		0,01
Fluoruros	mg/L	1		**
Nitratos (NO_3^--N) + Nitritos (NO_2^--N)	mg/L	100		100
Nitritos (NO_2^--N)	mg/L	10		10
Oxígeno Disuelto (valor mínimo)	mg/L	≥ 4		≥ 5
Potencial de Hidrógeno (pH)	Unidad de pH	6,5 – 8,5		6,5 – 8,5
Sulfatos	mg/L	1 000		1 000
Temperatura	°C	Δ 3		Δ 3
Inorgánicos				
Aluminio	mg/L	5		5
Arsénico	mg/L	0,1		0,2
Bario	mg/L	0,7		**
Berilio	mg/L	0,01		0,1
Boro	mg/L	1		5
Cadmio	mg/L	0,01		0,05
Cobre	mg/L	0,2		0,5
Cobalto	mg/L	0,05		1
Cromo Total	mg/L	0,1		1

Parámetros	Unidad de medida	D1: Riego de vegetales		D2: Bebida de animales
		Agua para riego no restringido ©	Agua para riego restringido	Bebida de animales
Hierro	mg/L	5		**
Litio	mg/L	2,5		2,5
Manganeso	mg/L	0,2		0,2
Mercurio	mg/L	0,001		0,01
Níquel	mg/L	0,2		1
Plomo	mg/L	0,05		0,05
Selenio	mg/L	0,02		0,05
Zinc	mg/L	2		24
Orgánico				
Bifenilos Policlorados (PCB)	µg/L	0,04		0,045
Plaguicidas				
Paratión	µg/L	35		35
Organoclorados				
Aldrín	µg/L	0,004		0,7
Clordano	µg/L	0,006		7
Dicloro Difenil Tricloroetano (DDT)	µg/L	0,001		30
Dieldrín	µg/L	0,5		0,5
Endosulfán	µg/L	0,01		0,01
Endrin	µg/L	0,004		0,2
Heptacloro y Heptacloro Epóxido	µg/L	0,01		0,03
Lindano	µg/L	4		4
Carbamato				
Aldicarb	µg/L	1		11
Microbiológicos y parasitológicos				
Coliformes Termotolerantes	NMP/100 ml	1 000	2 000	1 000
Escherichia coli	NMP/100 ml	1 000	**	**
Huevos de Helmintos	Huevo/L	1	1	**

Nota: (MINAM, 2017)

Anexo 58. *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_3^-) ©	mg/L	13	13	13	200	200
Amoniaco Total (NH_3)	mg/L	(1)	(1)	(1)	(2)	(2)
Nitrógeno Total	mg/L	0,315	**	**	**	**
Oxígeno Disuelto (valor mínimo)	mg/L	≥ 5	≥ 5	≥ 5	≥ 4	≥ 4
Potencial de Hidrógeno (pH)	Unidad de pH	6,5 a 9,0	6,5 a 9,0	6,5 a 9,0	6,8 – 8,5	6,8 – 8,5
Sólidos Suspendidos Totales	mg/L	≤ 25	≤ 100	≤ 400	≤ 100	≤ 30
Sulfuros	mg/L	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
Temperatura	°C	Δ 3	Δ 3	Δ 3	Δ 2	Δ 2
Inorgánicos						
Antimonio	mg/L	0,64	0,64	0,64	**	**
Arsénico	mg/L	0,15	0,15	0,15	0,036	0,036
Bario	mg/L	0,7	0,7	1	1	**
Cadmio Disuelto	mg/L	0,00025	0,00025	0,00025	0,0088	0,0088
Cobre	mg/L	0,1	0,1	0,1	0,05	0,05
Cromo VI	mg/L	0,011	0,011	0,011	0,05	0,05
Mercurio	mg/L	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Níquel	mg/L	0,052	0,052	0,052	0,0082	0,0082

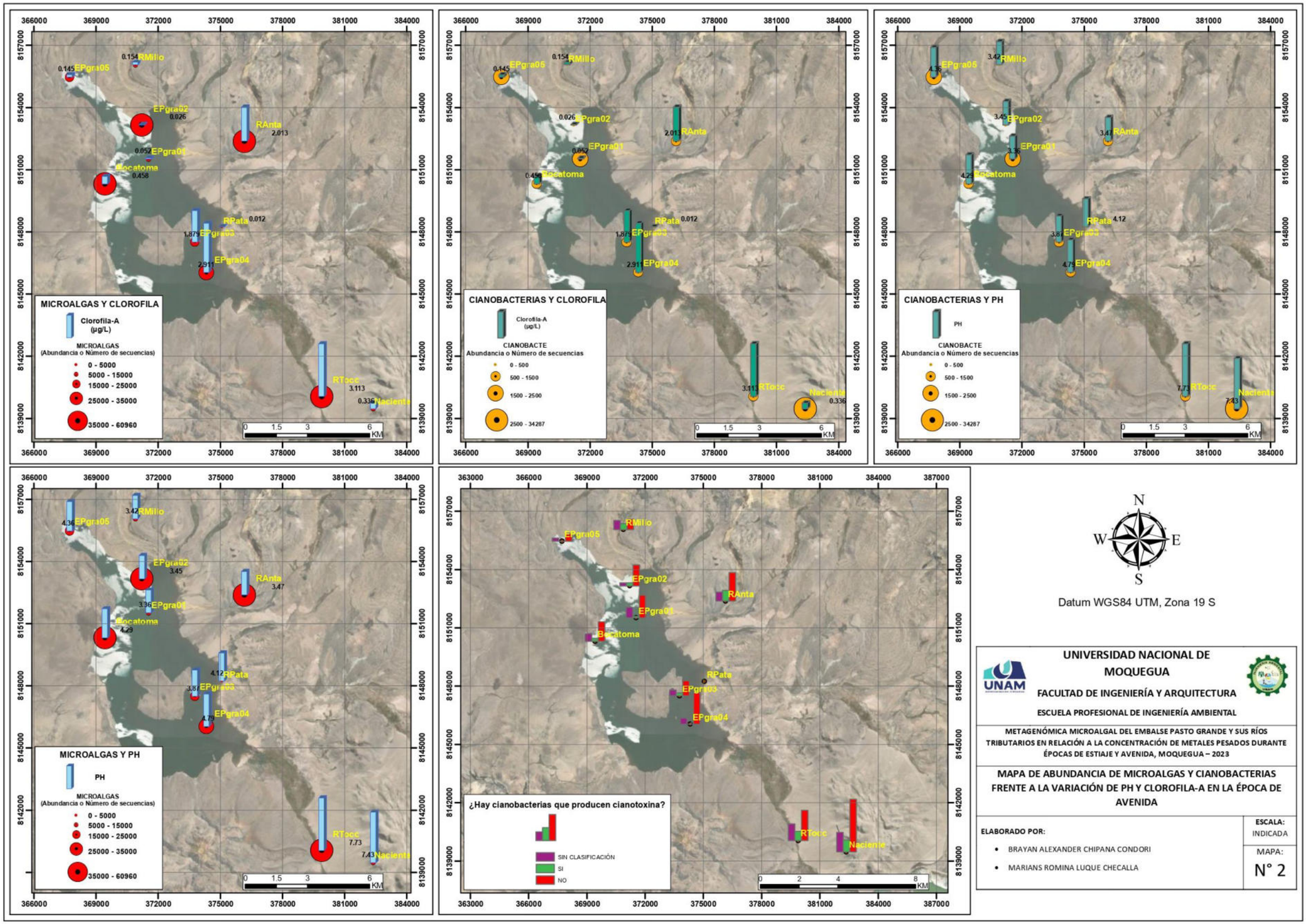
Parámetros	Unidad de medida	E1: Lagunas y lagos	E2: Ríos		E3: Ecosistemas costeros y marinos	
			Costa y sierra	Selva	Estuarios	Marinos
Plomo	mg/L	0,0025	0,0025	0,0025	0,0081	0,0081
Selenio	mg/L	0,005	0,005	0,005	0,071	0,071
Talio	mg/L	0,0008	0,0008	0,0008	**	**
Zinc	mg/L	0,12	0,12	0,12	0,081	0,081

Nota: (MINAM, 2017)

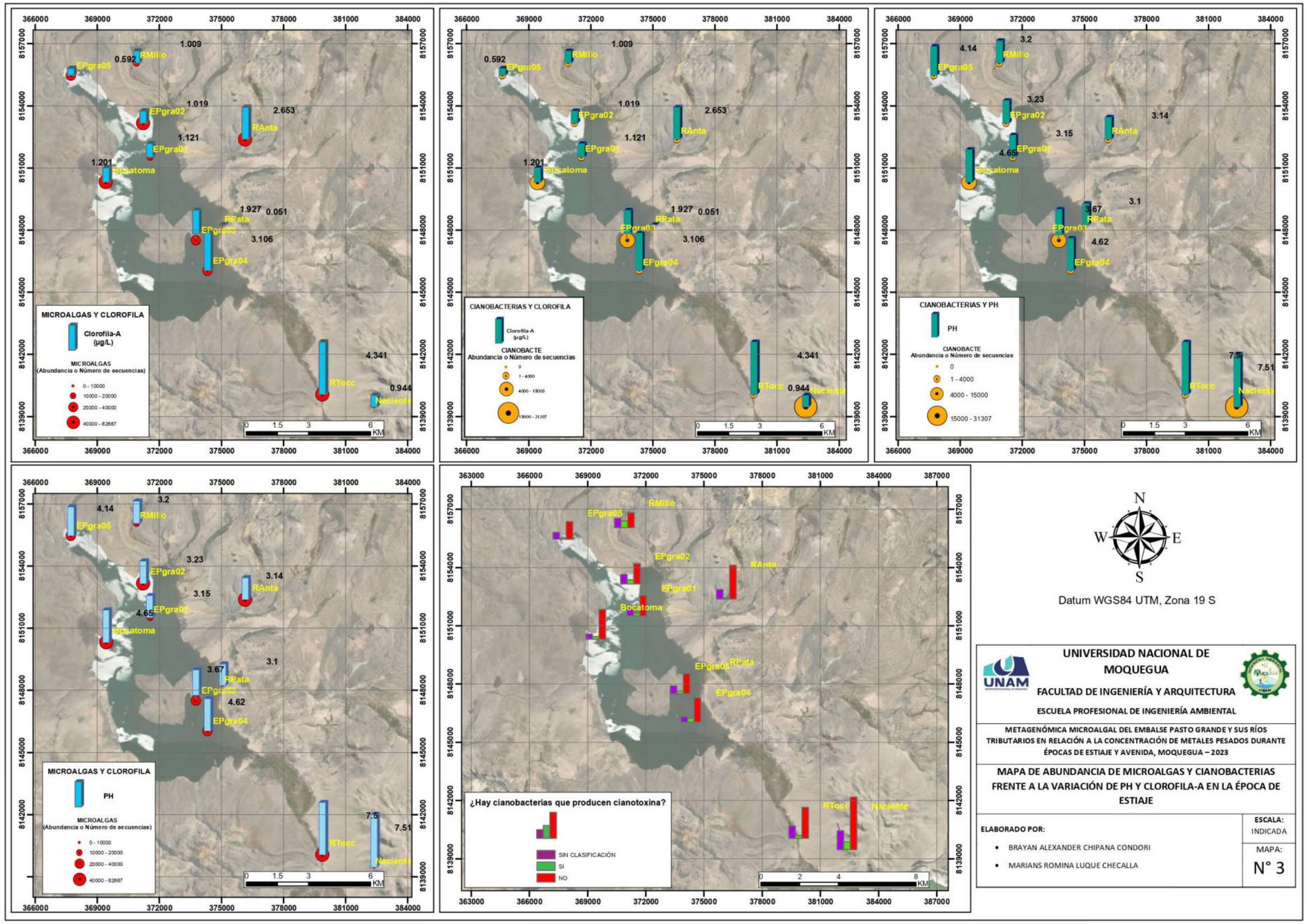
Anexo 59. *Modelo de etiquetado de muestras*

UNAM UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL		**EPgra01**		**MAPA DE UBICACIÓN**
LUGAR (referencia)		**RESPONSABLES**	*Marians Romina Luque Checalla* *Brayan Alexander Chipana Condori*	
COORDENADAS UTM				
Zona		Altitud		
Este		Norte		
Fecha		Hora		
DATOS MULTIPARAMÉTRICOS				
SUPERFICIAL				
T °C		Conductividad (µS/cm)		
pH		TDS (mg/L)		
OD (mg/L)		Salinidad (ppt)		
Clorofila *A* (1 m)		Cyanobacterias (1 m)		
Turbidez (1 m)				
PROFUNDIDAD				
T °C		Conductividad (µS/cm)		
pH		TDS (mg/L)		
OD (mg/L)		Salinidad (ppt)		
Clorofila *A* (m)		Cyanobacterias (m)		
Turbidez (m)		Disco de Secchi (m)		**GPS GARMIN:**

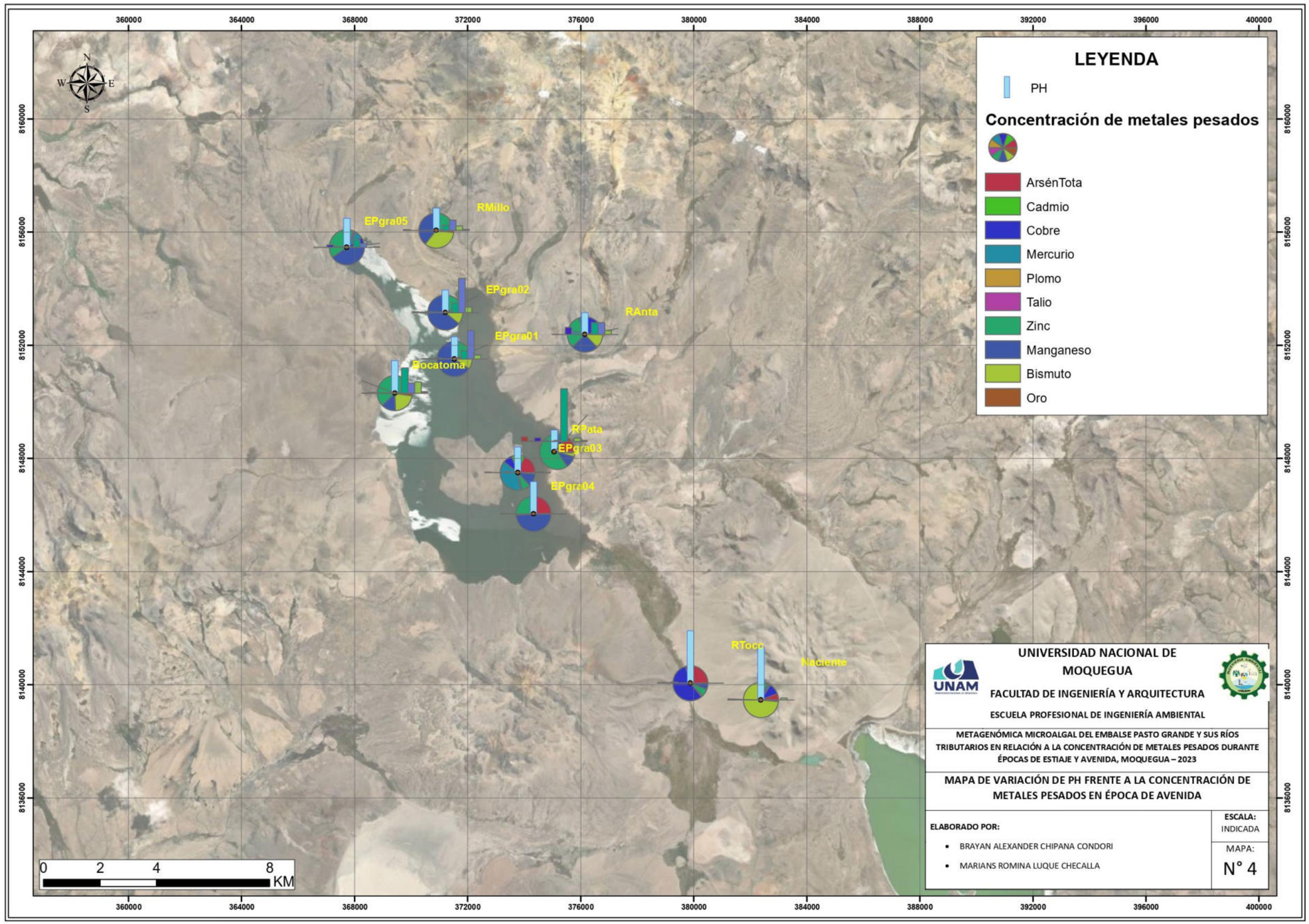
Anexo 60. *Mapa de abundancia de taxones de microalgas y cianobacterias frente a la variación de pH y clorofila-A en la época de avenida*



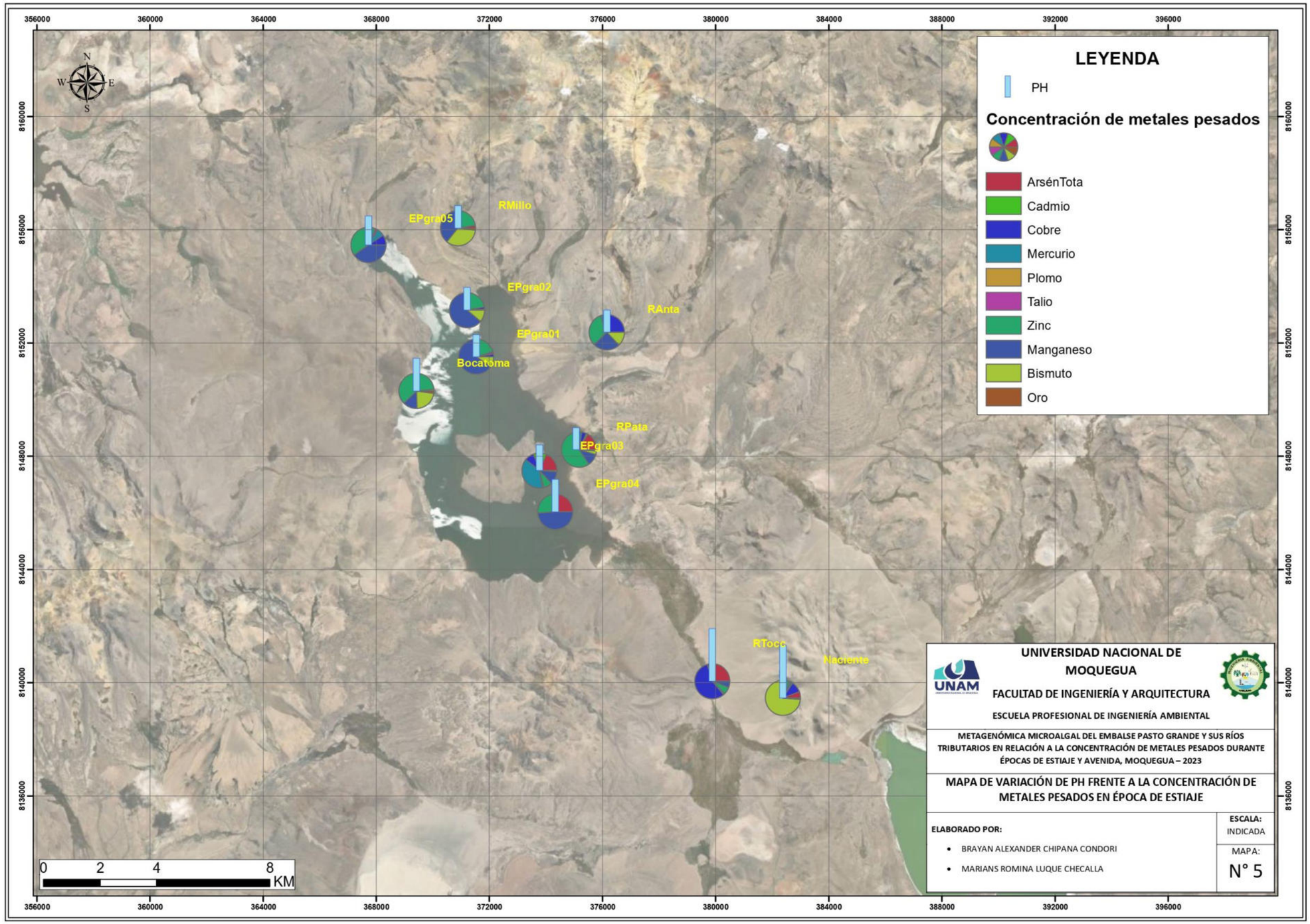
Anexo 61. *Mapa de abundancia de taxones de microalgas y cianobacterias frente a la variación de pH y clorofila-A en la época de estiaje*



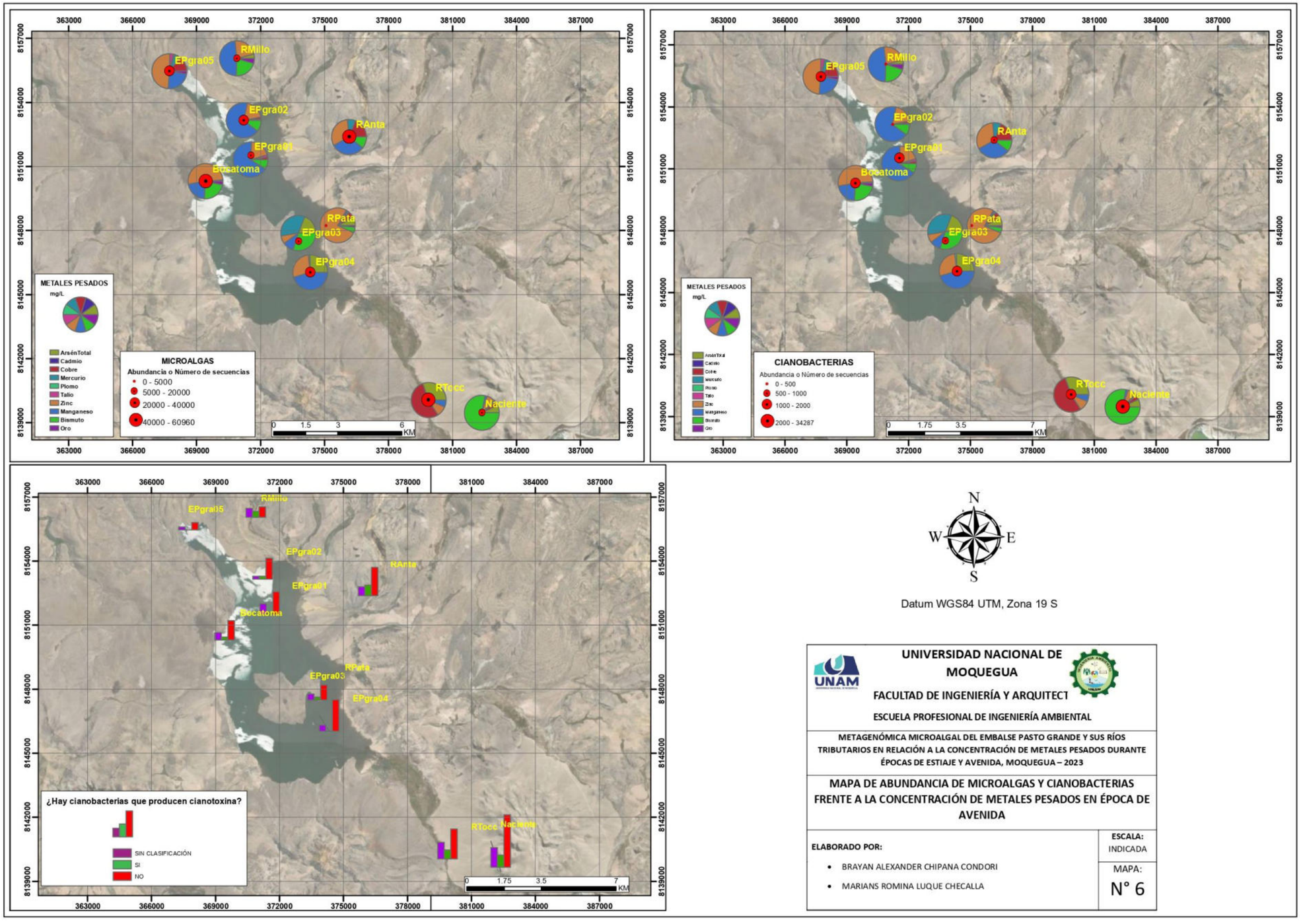
Anexo 62. *Mapa de variación de pH frente a la concentración de metales pesados en época de avenida*



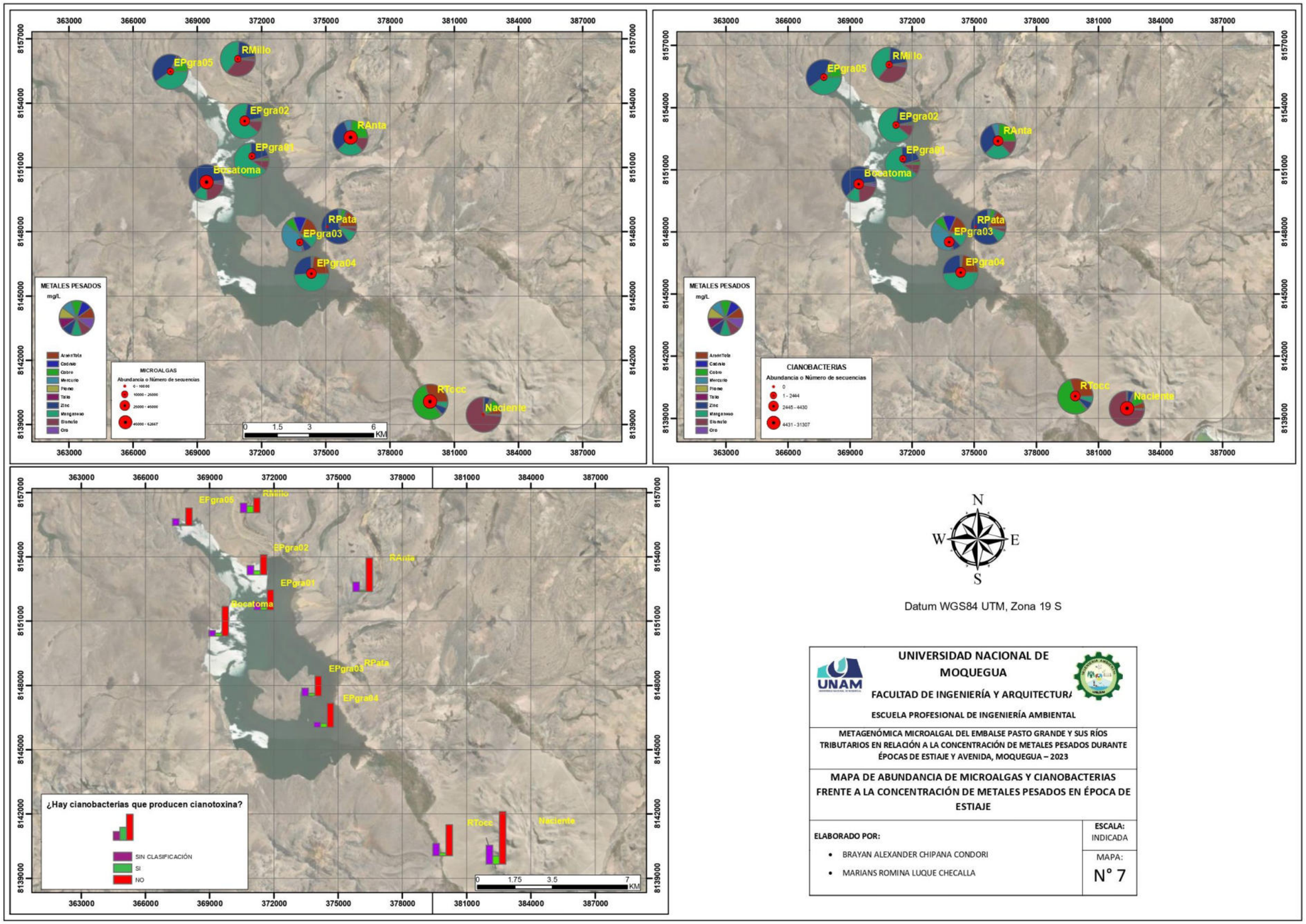
Anexo 63. *Mapa de variación de pH frente a la concentración de metales pesados en época de estiaje*



Anexo 64. *Mapa de abundancia de taxones de microalgas y cianobacterias frente a la concentración de metales pesados en época de avenida*



Anexo 65.*Mapa de abundancia de taxones de microalgas y cianobacterias frente a la concentración de metales pesados en época de estiaje*



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 : Brayan Alexander Chipana Condori
DNI/Carnet de Extranjería/Pasaporte N° : 76597485
Correo electrónico : 2018205085@unam.edu.pe
Teléfono/Celular : 927154119

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 : Metagenómica microalgal del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en relación a la concentración de metales pesados durante épocas de estiaje y avenida, Moquegua - 2023
b) Campo del conocimiento OCDE (Indicar el código de clasificación OCDE de la obra : https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html) : 2.08.01
c) Fecha de publicación : 16 de julio del 2025

6. DATOS DEL ASESOR:

a) Nombres y Apellidos : Hebert Hernan Sota Gonzales
b) DNI/Pasaporte/Cédula : 01317360
c) ORCID : 0000-0002-9936-1943

FIRMA :

DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 76597485
NOMBRES Y APELLIDOS : Brayan Alexander Chipana Condori

"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 : Marians Romina Luque Checalla
DNI/Carnet de Extranjería/Pasaporte N° : 71004531
Correo electrónico : mrluquechecalla@gmail.com
Teléfono/Celular : 927215365

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 ( )

04

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 : Metagenómica microalgal del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en relación a la concentración de metales pesados durante épocas de estiaje y avenida, Moquegua - 2023
b) Campo del conocimiento OCDE (Indicar el código de clasificación OCDE de la obra : https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html) : 2.08.01
c) Fecha de publicación : 16 de julio del 2025

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 : 71004531
NOMBRES Y APELLIDOS : Mariana Romina Luque Orecalla

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 : 71004531

NOMBRES Y APELLIDOS : Mariana Romina Luque Checalla

FECHA : 15-09-2025



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 : 76597485

NOMBRES Y APELLIDOS : Brayan Alexander Chipana Condori

FECHA : 15 de septiembre del 2025



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

Yo, Brayan Alexander Chipana Conderi,
bachiller de la Escuela Profesional de: Ingeniería Ambiental
,
de la Universidad Nacional de Moquegua, identificado(a) con DNI Nº. 76597485, autor(a) del Trabajo de Investigación / Tesis / Trabajo de suficiencia profesional, denominado:
Metagenómica microalgal del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en relación a la concentración de metales pesados durante épocas de estiaje y avenida, Moquegua - 2023

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, 15 de septiembre del 2025



Huella digital

Nombres y Apellidos:
DNI: 76597485

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

Yo, Marians Romina Luque Checalla,
bachiller de la Escuela Profesional de: Ingeniería Ambiental
,
de la Universidad Nacional de Moquegua, identificado(a) con DNI Nº. 71004531, autor(a) del Trabajo de Investigación / Tesis / Trabajo de suficiencia profesional, denominado:
Metagenómica microalgal del embalse Pasto Grande y sus ríos tributarios en relación a la concentración de metales pesados durante épocas de estiaje y avenida, Moquegua - 2023

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, 15 de septiembre del 2025



Huella digital

Nombres y Apellidos: Marians Romina Luque Checalla
DNI: 71004531

Marians Luque Checalla

Informe final de tesis - Metagenómica microalgal.pdf

TESIS FINAL DE BRAIAN Y ROMINA

INFORME FINAL DE BRAIAN Y ROMINA

Universidad Nacional de Moquegua

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid:::1:3340546918

Fecha de entrega
15 sep 2025, 3:28 p.m. GMT-5

Fecha de descarga
15 sep 2025, 9:26 p.m. GMT-5

Nombre del archivo
Informe_final_de_tesis_-_Metagenómica_microalgal.pdf

Tamaño del archivo
13.6 MB

226 páginas

49.473 palabras

265.494 caracteres

Prof. Dr. Hebert Hernan Soto Gonzales
BIOLOGO
C.B.P. 13968

Escaneado con CamScanner

19% Similitud general

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

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado

Fuentes principales

17% Fuentes de Internet
11% Publicaciones
0% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Prof. Dr. Hebert Hernán Soto Gonzales
BIOLOGO
C.B.P. 13968

turnitin Página 2 de 246 - Descripción general de integridad Identificador de la entrega trn:oid:::1:3340546918

Escaneado con CamScanner

Universidad Nacional de Moquegua

RESOLUCIÓN DE CONSEJO UNIVERSITARIO
N° 807-2025-CU

Moquegua, 13 de noviembre de 2025

VISTOS:

El Proveído N° 4543-2025-R de fecha 06 de noviembre de 2025 emitido por el Rectorado, Informe N° D0469-2025-UNAM-R-SG de fecha 05 de noviembre de 2025 emitido por el Secretario General, Informe Técnico N° D0151-2025-SEGE-GT emitido por la Especialista Administrativo I–Grados y Títulos, el Acuerdo del Pleno del Consejo Universitario de Sesión Extraordinaria N° 43-2025-SE-CU-UNAM, de fecha 12 de noviembre de 2025, y;

CONSIDERANDO:

Que, conforme al 4to párrafo del artículo 18, de la Constitución Política del Perú, dispone que cada Universidad es autónoma en su régimen normativo, de gobierno, académico, administrativo y económico. Y el artículo 8° de la Ley Nº 30220-Ley Universitaria, establece que la referida autonomía inherente a las Universidades, se ejerce de conformidad con la Constitución y demás normativa aplicable. Concordante con el artículo 1, de la Ley Nº 31520, Ley que restablece la autonomía y la institucionalidad de las universidades peruanas, así como la Ley N° 32141, Ley que modifica la Ley N° 30220-Ley Universitaria, a fin de fortalecer la institucionalidad de las Universidades Públicas licenciadas;

Que, el Artículo 58, de la Ley N° 30220-Ley Universitaria, establece que el Consejo Universitario es el máximo órgano de gestión, dirección y ejecución académica y administrativa de la Universidad. Concordante con el artículo 18° del Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua, aprobado bajo Resolución de Asamblea Universitaria N° 015-2025-AU-UNAM;

Que, el artículo 59 de la Ley Universitaria-Ley N° 30220, establece las atribuciones del Consejo Universitario, y específicamente el numeral 59.9, establece; Conferir los grados académicos y los títulos profesionales aprobados por las Facultades y Escuela de Posgrado, así como otorgar distinciones honoríficas y reconocer y revalidar los estudios, grados y títulos de universidades extranjeras, cuando la universidad está autorizada por la Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria. Concordante con el numeral 14, del artículo 20° del Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua;

Que, el Sr. Rector es el personero y representante legal de la Universidad Nacional de Moquegua, conforme a lo dispuesto por la Ley Nº 30220-Ley Universitaria, tiene a su cargo la Dirección, Conducción y Gestión del Gobierno Universitario en todos sus ámbitos, concordante con el artículo 24° y numeral 2 del artículo 26° del Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua;

Que, mediante Informe Técnico N° D0151-2025-SEGE-GT, de fecha 04 de noviembre de 2025, e Informe N° D0469-2025-UNAM-R-SG de fecha 05 de noviembre de 2025, el Secretario General de la UNAM, remite al Rectorado los expedientes para el trámite de Título Profesional de Ingeniero Ambiental de los Bachilleres: BRICEÑO BRICEÑO MARIA DEL ROSARIO, LUQUE CHECALLA MARIANS ROMINA y CHIPANA CONDORI BRAYAN ALEXANDER de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, quienes se encuentran aptos para la expedición del Título Profesional de Ingeniero Ambiental, al haber cumplido satisfactoriamente con los requisitos legales y reglamentarios, exigidos en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, conforme lo señala la Dirección de Actividades y Servicios Académicos y la Dirección de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental; razón por la cual, el señor Secretario General incluye dichos expedientes como punto de agenda para ser tratado en Sesión Extraordinaria de Consejo Universitario de fecha 12 de noviembre de 2025;

Que, el artículo 44° de la Ley N° 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 (...). Asimismo la Ley N° 31803, modifica el artículo en mención adicionando; La Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria (SUNEDU) determina los criterios, así como establece y supervisa el procedimiento administrativo para el reconocimiento de grados y títulos otorgados en el extranjero, en el marco de la normativa vigente;

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, mediante 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-UNAM y N° 081, 484-2024-UNAM 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, bajo el amparo de los considerandos precedentes, el Pleno del Consejo Universitario en Sesión Extraordinaria N° 43-2025-SE-CU-UNAM, de fecha 12 de noviembre de 2025, emitió, el siguiente, Acuerdo; POR UNANIMIDAD: CONFERIR, a nombre de la Nación el Título Profesional de Ingeniero Ambiental por la modalidad de sustentación de tesis a los Bachilleres: BRICEÑO

Universidad Nacional de Moquegua

RESOLUCIÓN DE CONSEJO UNIVERSITARIO
N° 807-2025-CU

Moquegua, 13 de noviembre de 2025

BRICEÑO MARIA DEL ROSARIO, LUQUE CHECALLA MARIANS ROMINA y CHIPANA CONDORI BRAYAN ALEXANDER, de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Moquegua;

Que, mediante la Resolución Rectoral Nº 282-2025-R-UNAM de fecha 05 de noviembre de 2025, se resolvió ENCARGAR, al Dr. Alejandro Manuel Ecos Espino, en su calidad de Vicerrector Académico el Despacho de Rectorado de la Universidad Nacional de Moquegua, para que ejerza las funciones correspondientes en ausencia del Rector, durante los días 12, 13 y 14 de noviembre de 2025, por tanto, en aplicación de lo dispuesto por el numeral 5 del artículo 30 del Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua, y conforme a los considerandos del referido acto administrativo, el señor Vicerrector Académico asume el cargo, con todas las prerrogativas de la autoridad;

En uso de las facultades y atribuciones conferidas por el Art. 18, de la Constitución Política del Perú, la Ley N° 30220-Ley Universitaria, el Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua, y a lo acordado por el pleno del Consejo Universitario;

SE RESUELVE:

ARTÍCULO 1°: CONFERIR, A NOMBRE DE LA NACIÓN a los Bachilleres

- **BRICEÑO BRICEÑO MARIA DEL ROSARIO**
  TESIS : "EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DEL BIOCARBÓN EN LA REMOCIÓN DEL CIPROFLOXACINO Y EL AUMENTO EN LA ADSORCIÓN DE HAPS EN LECHUGA (Lactuca sativa), ILO, 2023", cuyo asesor principal fue MSc. Jose Luis Ramos Tejeda.
- **LUQUE CHECALLA MARIANS ROMINA**
  "METAGENÓMICA MICROALGAL DEL EMBALSE PASTO GRANDE Y SUS RÍOS TRIBUTARIOS EN RELACIÓN A LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS DURANTE ÉPOCAS DE ESTIAJE Y AVENIDA, MOQUEGUA – 2023", cuyo asesor principal fue el Dr. Hebert Hernan Soto Gonzales.
- **CHIPANA CONDORI BRAYAN ALEXANDER**
  "METAGENÓMICA MICROALGAL DEL EMBALSE PASTO GRANDE Y SUS RÍOS TRIBUTARIOS EN RELACIÓN A LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS DURANTE ÉPOCAS DE ESTIAJE Y AVENIDA, MOQUEGUA – 2023", cuyo asesor principal fue el Dr. Hebert Hernan Soto Gonzales.

El **TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AMBIENTAL.**

Por la modalidad de SUSTENTACIÓN DE TESIS, de la Escuela Profesional Ingeniería Ambiental, de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Moquegua.

ARTÍCULO 2°: ENCARGAR, al Secretario General a través de quien corresponda, para que realice las acciones pertinentes relacionadas con la inscripción correspondiente en el Registro de Grados y Títulos de la Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria – SUNEDU.

ARTÍCULO 3°: DISPONER el cumplimiento de la presente Resolución a todas las dependencias de la Universidad Nacional de Moquegua.

ARTÍCULO 4°: DISPONER la publicación de la presente resolución en el Portal Institucional de la Universidad Nacional de Moquegua www.unam.edu.pe

REGÍSTRESE, PUBLÍQUESE, Y CÚMPLASE;

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA SECRETARIA GENERAL

ABOG. EDGAR PINTO HUANCAVILCA
SECRETARIO GENERAL

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA CONSEJO UNIVERSITARIO

DR. ALEJANDRO MANUEL ECOS ESPINO
RECTOR (e)
PRESIDENTE DEL CONSEJO UNIVERSITARIO

DISTRIBUCION: VRA, VRI, FAIN, EPIAM, DA, OPI, OTI, Interesados c.c. Arch.

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