

FACULTAD DE INGENIERÍA

Escuela Académico Profesional de Ingeniería Ambiental

Tesis

**Evaluación de la toxicidad del agua del río
chanchas mediante bioensayos con especies
crucíferas - 2022**

Betsy Bonny Sobero Quilca
Joselin Hellen Inga Rodriguez

Para optar el Título Profesional de
Ingeniera Ambiental

Huancayo, 2022

Repositorio Institucional Continental
Tesis digital



Esta obra está bajo una Licencia "Creative Commons Atribución 4.0 Internacional" .

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGUA DEL RÍO CHANCHAS MEDIANTE BIOENSAYOS CON ESPECIES CRUCÍFERAS – 2022

ORIGINALITY REPORT

10%

SIMILARITY INDEX

10%

INTERNET SOURCES

1%

PUBLICATIONS

6%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	docplayer.es Internet Source	1%
2	dspace.udla.edu.ec Internet Source	1%
3	alicia.concytec.gob.pe Internet Source	1%
4	Submitted to Universidad Continental Student Paper	1%
5	www.researchgate.net Internet Source	1%
6	www.scielo.org.mx Internet Source	1%
7	fca.uner.edu.ar Internet Source	<1%
8	www.scielo.cl Internet Source	<1%
9	www.idrc.ca Internet Source	<1%

10	distancia.udh.edu.pe Internet Source	<1 %
11	notablesdelaciencia.conicet.gov.ar Internet Source	<1 %
12	Submitted to Universidad Internacional del Ecuador Student Paper	<1 %
13	biblioteca.inifap.gob.mx:8080 Internet Source	<1 %
14	repositorio.unheval.edu.pe Internet Source	<1 %
15	Submitted to Universidad Andina Nestor Caceres Velasquez Student Paper	<1 %
16	hdl.handle.net Internet Source	<1 %
17	repositorio.unap.edu.pe Internet Source	<1 %
18	bdigital.uncu.edu.ar Internet Source	<1 %
19	www.revistascca.unam.mx Internet Source	<1 %
20	repositorio.continental.edu.pe Internet Source	<1 %

21	www.revistas.unitru.edu.pe Internet Source	<1 %
22	repositorio.upla.edu.pe Internet Source	<1 %
23	Submitted to Universiti Sains Malaysia Student Paper	<1 %
24	repositorio.unasam.edu.pe Internet Source	<1 %
25	dspace.ucuenca.edu.ec Internet Source	<1 %
26	repositorio.ug.edu.ec Internet Source	<1 %
27	repositorio.ulasamericas.edu.pe Internet Source	<1 %
28	repositorio.upeu.edu.pe Internet Source	<1 %
29	Submitted to UNIV DE LAS AMERICAS Student Paper	<1 %
30	repositorio.ulead.edu.ec Internet Source	<1 %
31	repositorio.upsc.edu.pe Internet Source	<1 %
32	www.minem.gob.pe Internet Source	<1 %

33	dspace.ups.edu.ec Internet Source	<1 %
34	es.scribd.com Internet Source	<1 %
35	old.oalib.com Internet Source	<1 %
36	repositorio.unj.edu.pe Internet Source	<1 %
37	repositorio.unp.edu.pe Internet Source	<1 %
38	repository.unad.edu.co Internet Source	<1 %
39	worldwidescience.org Internet Source	<1 %
40	repositorio.uncp.edu.pe Internet Source	<1 %
41	repository.lasalle.edu.co Internet Source	<1 %
42	virtual.urbe.edu Internet Source	<1 %
43	"Sustainable Development Research and Practice in Mexico and Selected Latin American Countries", Springer Science and Business Media LLC, 2018 Publication	<1 %

44 J Benedicto, C Martínez-Gómez, J Guerrero, A Jornet, C Rodríguez. "Metal contamination in Portman Bay (Murcia, SE Spain) 15 years after the cessation of mining activities", Ciencias Marinas, 2008
Publication <1 %

45 repositorio.escuelamilitar.edu.pe
Internet Source <1 %

46 repositorio.udh.edu.pe
Internet Source <1 %

47 repositorio.unh.edu.pe
Internet Source <1 %

48 www.iealbacetenses.com
Internet Source <1 %

49 www.uces.edu.ar
Internet Source <1 %

50 ciencia.lasalle.edu.co
Internet Source <1 %

51 hal.archives-ouvertes.fr
Internet Source <1 %

52 repositorio.uancv.edu.pe
Internet Source <1 %

53 repositorio.udec.cl
Internet Source <1 %

repositorio.unc.edu.pe

54	Internet Source	<1 %
55	repositorio.unfv.edu.pe Internet Source	<1 %
56	riostropicales2018.org Internet Source	<1 %
57	www.fvet.uba.ar Internet Source	<1 %
58	www.olade.org Internet Source	<1 %
59	www.scielo.org.pe Internet Source	<1 %
60	es.wikipedia.org Internet Source	<1 %
61	www.bioline.org.br Internet Source	<1 %
62	HAZEL E. MUNSELL, LOUIS O. WILLIAMS, LOUISE P. GUILD, CYNTHIA B. TROESCHER, GERTRUDE NIGHTINGALE, ROBERT S. HARRIS. "COMPOSITION OF FOOD PLANTS OF CENTRAL AMERICA. II. GUATEMALA", Journal of Food Science, 1950 Publication	<1 %

Exclude quotes On

Exclude matches < 5 words

Exclude bibliography On

AGRADECIMIENTOS

Primero agradecer a Dios por la vida que nos dio. A mis padres por la perseverancia que me inculcaron para salir adelante. A las personas que me apoyaron incondicionalmente en esos momentos difíciles de mi vida. A mis asesores por su tiempo y conocimiento brindado. A mis hermanos que siempre están a mi lado y porque quiero ser un ejemplo a seguir, agradezco a todos ellos por ser mi fortaleza para crecer como profesional, ser una gran madre y culminar mi tesis con éxitos.

Betsy Bonny Sobero Quilca

Agradezco a Dios que siempre lo llevo presente, me da la energía y salud para salir adelante. A mis padres, hermanas, quienes con su amor, paciencia y dedicación me han permitido cumplir con este sueño; gracias a cada uno de ellos que me dedicaron su tiempo y consejos para poder culminar con la presente tesis.

Joselin Hellen Inga Rodriguez

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a mi hijo, Gael Adriano Ingaroca Sobero, por ser mi fuente de inspiración para salir adelante, por darme su tiempo y sacrificar momentos únicos a su lado, te amo hijo y esto es para ti, espero que algún día puedas comprenderme y entender el significado del sacrificio, gracias por tu amor incondicional y porque siempre estamos escalando de a pocos esos obstáculos que nos presenta la vida.

Betsy Bonny Sobero Quilca

A mis padres Max y Elsa por su incondicional apoyo y sabios consejos para seguir adelante y superar las adversidades; son los que me motivaron y guiaron en el camino de mi vida; a mis maestros y familiares que contribuyeron de cierta manera en este trabajo. A todos ellos va dedicado la presente investigación.

Joselin Hellen Inga Rodriguez

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	II
DEDICATORIA	III
ÍNDICE	IV
RESUMEN	IX
INTRODUCCIÓN	XI
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO	13
1.1. Planteamiento del problema	13
1.2. Formulación del problema	14
1.2.1. Problema general.....	14
1.2.2. Problemas específicos	14
1.3. Objetivos de la investigación	14
1.3.1. Objetivo general	14
1.3.2. Objetivos específicos de la investigación	15
1.4. Justificación e importancia de la investigación	15
1.4.1. Justificación teórica.....	15
1.4.2. Justificación metodológica.....	15
1.4.3. Justificación práctica	16
1.4.4. Importancia	16
1.5. Limitaciones de la presente investigación	16
1.6. Hipótesis y variables de la investigación	16
1.6.1. Hipótesis.....	16
1.6.2. Variables de la investigación	17
1.6.3. Operacionalización de variables	18
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	19
2.1. Antecedentes de la investigación	19
2.1.1. Antecedentes internacionales	19

2.1.2. Antecedentes nacionales	23
2.1.3. Antecedentes regionales	26
2.2. Bases teóricas	27
2.2.1. Biomonitorio ambiental.....	27
2.2.2. Estándar de calidad ambiental (ECA)	28
2.2.3. Toxicidad de sustancias.....	29
2.2.4. Pruebas ecotoxicológicas y bioindicadores.....	29
2.2.5. Toxicidad en aguas.....	29
2.2.6. Normas IRAM.....	30
2.2.7. Crucíferas	31
2.3. Definición de términos básicos	38
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	41
3.1. Método, tipo y alcances de la investigación.....	41
3.1.1. Método	41
3.1.2. Tipo de la investigación	41
3.1.3. Nivel de la investigación	42
3.2. Diseño de la investigación	42
3.3. Población y muestra	43
3.3.1. Población.....	43
3.3.2. Muestra.....	43
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	43
3.4.1. Técnicas utilizadas en la recolección de datos	43
3.4.2. Instrumentos utilizados en la recolección de datos	43
3.4.3. Materiales	43
3.4.4. Procedimientos	44
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
4.1. Presentación de resultados.....	52

4.1.1. Evaluación de parámetros del río Chanchas	52
4.1.2. Zona y especie con mayor toxicidad y resistencia	54
4.1.3. Resultados de toxicidad en los bioensayos ambientales	57
4.2. Prueba de hipótesis.....	63
4.2.1. Primera hipótesis específica	63
4.2.2. Segunda y tercera hipótesis específica	64
4.2.3. Hipótesis general	67
4.3. Discusión de resultados	73
4.3.1. De los resultados de toxicidad en los bioensayos ambientales	73
4.3.2. De la evaluación de parámetros del río Chanchas.....	75
4.3.3. De efectos de toxicidad del agua y resistencia de las crucíferas...	76
CONCLUSIONES	79
RECOMENDACIONES	81
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
ANEXOS	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de variables	18
Tabla 2. ECA – Categoría 3	28
Tabla 3. Arreglo factorial 4^2 con un testigo	42
Tabla 4. Coordenadas UTM de los puntos biomonitoreados.....	46
Tabla 5. Metodología de los ensayos de laboratorio.....	46
Tabla 6. Atributos de las semillas a usar en los bioensayos	49
Tabla 7. Índices calculados de germinación y toxicidad	50
Tabla 8. Resultados de los parámetros evaluados.....	52
Tabla 9. Índices de respuesta biológica y toxicidad	58
Tabla 10. Comparación múltiple de Tukey para indicadores de toxicidad.....	64
Tabla 11. Factores y niveles trabajados en el Anova anidado	70
Tabla 12. Analisis de varianza ANOVA.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fisiología de la Brassica oleracea L. var. capitata L.	33
Figura 2. Fisiología de la Brassica oleracea var. botrytis l.	35
Figura 3. Fisiología de la Brassica rapa subsp. Pekinensis.....	36
Figura 4. Fisiología de la Brassica rapa subsp. Oleífera.....	38
Figura 5. Ubicación geográfica del río Chanchas- sector Pucará	45
Figura 6. Comparativa de los EIR de las variedades trabajadas	54
Figura 7. Comparativa de los IGN de las variedades trabajadas	56
Figura 8. Comparativa de las respuestas biológicas	61
Figura 9. Análisis de Componentes principales para parámetros	63
Figura 10. Descriptivo de la respuesta del índice de germinación	67
Figura 11. Descriptivo de la respuesta del crecimiento relativo de radícula	68
Figura 12. Descriptivo de la respuesta de la germinación relativa de radícula.....	68
Figura 13. Descriptivos de la respuesta del índice de elongación del radical.....	69
Figura 14. Descriptivos de la respuesta del índice de % de germinación normalizada	69
Figura 15. Descriptivos de las respuestas biológicas obtenidas	70

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo evaluar la toxicidad de las aguas del río Chanchas, sector Pucará, mediante bioensayos ambientales para especies crucíferas. Para esto se trabajó con bioensayos ecotoxicológicos de varias especies de crucíferas (*Brassicas*) con mayor producción de la zona. Las variedades hortícolas trabajadas fueron la col (*Brassica oleracea var. capitata*), coliflor (*Brassica oleracea var. botrytis l.*), col china (*Brassica rapa subsp. Pekinensis*) y mostaza de campo (*Brassica rapa subsp. Oleífera*), las mismas que fueron inducidas a germinación con muestras de agua provenientes de cuatro puntos del río que influyen antrópicamente sobre el sector estudiado. Se determinaron los índices de germinación (IG) como indicador final del crecimiento relativo de radícula (CRR) y su correspondiente germinación relativa de radícula (GRS); los resultados obtenidos bioindicaron altas concentraciones de compuestos fitotóxicos para los puntos M3 y M4 (IG<50%) y bajas para los puntos M1 y M2 (IG>80%), siendo la *Brassica rapa Subsp Oleífera* (mostaza de campo) y *Brassica oleracea Var Botritis l.* (coliflor) las especies con mayor sensibilidad de bioindicación. Los resultados obtenidos para el IER e IGN ratificaron que los puntos M3 y M4 aguas arriba del río Chanchas mostraron toxicidad media moderada, registrando valores de EIR <-2,50 e IGN = -0,340 para la variedad mostaza de campo *Brassica rapa Subsp Oleífera*. Todos estos resultados fueron evaluados mediante un ANOVA anidado -Tukey ($\alpha = 0,05$) y el análisis de componentes principales ACP (96,499% de varianza explicada) que identificó las asociaciones positivas nocivas de los parámetros a los puntos evaluados.

ABSTRACT

The research carried out evaluated the toxicity of the waters of the Chanchas River, Pucará Sector, using environmental bioassays for cruciferous species. For this, ecotoxicological bioassays were carried out on several species and varieties of cruciferous (*Brassicaceae*) with the highest production in the area. The horticultural varieties worked were Cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*), Cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), Chinese Cabbage (*Brassica rapa* subsp. *Pekinensis*) and Field Mustard (*Brassica rapa* subsp. *Oleifera*), the same ones that they were induced to germination with water samples from four points of the river that have anthropic influence on the studied sector. The Germination Indices (IG) were determined as a final indicator of the Relative Radicle Growth (CRR) and its corresponding Relative Radicle Germination (GRS); the results obtained bioindicated high concentrations of phytotoxic compounds for points M3 and M4 (IG<50%) and low for points M1 and M2 (IG>80%), being *Brassica rapa* Subsp *Oleifera* (field mustard) and *Brassica oleracea* Var *Botrytis* L. (cauliflower) the species with the highest bioindication sensitivity. The results obtained for the IER and IGN confirmed that points M3 and M4 upstream of the Chanchas River showed moderate average toxicity, registering EIR values <-2.50 and IGN = -0,340 for the field mustard variety *Brassica rapa* Subsp *Oleifera*. All these results were evaluated by means of a nested ANOVA -Tukey ($\alpha=0,05$) and the PCA principal components analysis (96,499% of explained variance) that identified the positive harmful associations of the parameters to the evaluated points.

INTRODUCCIÓN

Gran variedad de sustancias provenientes de las actividades del hombre es vertida a diversos cuerpos de agua ya sean ríos, mar, lagunas, y más. La agricultura, la urbanización, y deforestación son grandes factores causantes de pérdida del suelos y aguas, asimismo las descargas de aguas contaminadas generadas por las industrias generan grandes problemas actualmente. En América Latina, habitan 40 millones de personas, las cuales brindan uso a estos recursos de los Andes y ecosistemas acuáticos para poder sobresalir en economía y supervivencia [1]. Otra fuente de contaminación de aguas es el uso de pesticidas y fertilizantes, siendo una fuente difusa, continua o intermitente para los cultivos. En periodo de precipitaciones, el curso de agua recepciona gran carga de contaminantes provenientes del suelo y atmósfera. Se conocen las características de los productos que se siembran y cosechan, sin embargo no se sabe la transformación en el ambiente que ocurre luego de entrar en contacto con las aguas contaminadas [2]. Las diversas técnicas ecotoxicológicas que emplean los organismos de prueba de diferentes niveles tróficos, para complementar los análisis ambientales, son una gran alternativa ante ello. Entre estas técnicas se encuentra la germinación de semilla y la prueba de la elongación radical siendo los más fáciles de ejecutar en biomonitorio ambiental. Estos indicadores, en combinación con la longitud del brote, son parámetros que dan a conocer los cambios en la calidad ambiental, debido a que los resultados de estas pruebas están basados en la sensibilidad de las plantas cuando se exponen a muestras de agua, suelo o sedimento. Existen muchas ventajas al emplear especies de importancia agrícola en ensayos fitotóxicos sobre aquellas que emplean animales y algas. Algunas ventajas de las semillas de las plantas se encuentran latentes manteniéndose así en condiciones adversas sin perder su viabilidad, además que cuando se presentan las condiciones favorables sufren cambios rápidos en su metabolismo, transporte de nutrientes y división celular. En el momento en que las semillas se exponen a aguas contaminadas, se obtienen respuestas inmediatas [3]. La ventaja de aplicar las pruebas de germinación y elongación radical, con diferentes especies, permite la generación de bases de datos sobre fitotoxicidad en los que se obtienen los valores de referencia. La técnica de los bioensayos, propuesta en este trabajo, consiste en evaluar la elongación radical de las semillas de crucíferas de variedad Brassica debido a que ellas están entre las 10 primeras especies por familia de flora registrada dentro y fuera del área de estudio [4]. El objetivo del estudio es evaluar la toxicidad del agua del río Chanchas mediante bioensayos con especies crucíferas, esta evaluación se presenta como una alternativa de biomonitorio económicamente eficaz y con capacidad de estimar índices de calidad ambiental rigurosos para la evaluación de un sistema hídrico. El río Chanchas al ser

un río de alta vulnerabilidad a las actividades antropogénicas, se ve perjudicado por el vertido sistemático de aguas residuales y residuos agroindustriales; generando una preocupación constante al impacto ambiental y a la pérdida gradual de la calidad de sus aguas a través del tiempo. Debido a esta problemática entonces es necesario evaluar los niveles de toxicidad de esta contaminación, los que se verán reflejados en los resultados de los bioensayos inducidos, responsables de verificar el riesgo fitotóxico de sus aguas.

El capítulo I aborda la problemática de la contaminación del agua y cómo esta ha ido aumentando a causa del exceso de vertidos de residuos sólidos, aguas residuales servidas y producto de conexiones clandestinas de desagües que desembocan irresponsablemente sobre él [5], así como ocurre en el río Chanchas, además del escurrimiento de aguas de drenaje de mina inactiva, adicionalmente se podrá observar el planteamiento de los problemas, objetivos e hipótesis trabajadas, todo en relación directa a las evaluaciones de toxicidad de las aguas del río Chanchas.

En el capítulo II se desarrolla el marco teórico, que involucra antecedentes internacionales, nacionales y regionales los cuales abordan nuestro tema de investigación de evaluación de toxicidad del agua del río Chanchas mediante bioensayos con especies crucíferas, además se exponen los aspectos teóricos de las especies de *Brassicac*s trabajadas, así como también los sustentos procedimentales de los bioensayos germinativos.

En el capítulo III se observa la metodología la cual fue cuantitativa con un tipo de investigación aplicada y diseño factorial anidado múltiple de tres factores y con cuatro repeticiones por tratamiento (4x2x2) y con comparaciones con un testigo. Los procedimientos metodológicos de nuestra investigación también son presentados en este capítulo, describiendo meticulosamente los materiales y métodos estandarizados, entre estos se enfatizan las técnicas para la obtención de muestras y bioensayos con *Brassicac*s, colecta de semillas, muestreo de aguas y cálculos de los bioindicadores fitotoxicológicos.

Posteriormente se procedió con el capítulo IV, en el que se describen y discuten los resultados de nuestra investigación, específicamente las respuestas biológicas de las variedades de crucíferas (*Brassicac*s) al estrés contaminante inducido, para concluir con la discusión de los resultados de los parámetros de calidad de agua superficial mediante su correspondiente análisis ACP.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

1.1. Planteamiento del problema

Hoy en día la contaminación de fuentes hídricas es un problema que se agrava proporcionalmente al desarrollo e incremento de las actividades antrópicas, producto del crecimiento poblacional y consolidación de sus asentamientos y urbes. El vertimiento inconsciente y consciente de aguas de desecho a los sistemas hídricos naturales ha venido degradando la calidad de los mismos, a tal forma que su consumo directo presenta riesgos agudos a la salud y en algunos casos ocasiona hasta letalidad del organismo que se sirve de ella [6].

La alta carga contaminante, consecuencia de la contaminación proveniente de las actividades industriales, agronómicas, domésticas y otros, ha generado un aumento progresivo de las concentraciones bacterianas y víricas en medios hídricos, al igual que las concentraciones tóxicas de algunos compuestos inorgánicos y orgánicos. Estos problemas aunados a la mala gestión ambiental de las autoridades, han empezado a ocasionar alteraciones al medio ambiente y a la salud de los pobladores [7]. Según los reportes de algunas instituciones de salud como los Centros de Atención Primaria de Salud CAP-MINSA, las enfermedades diarreicas y parasitarias del tipo agudo y crónico han ido en superlativo aumento en estos últimos años, resaltándose en algunos distritos de la cuenca del Mantaro y cuya presunta causa es el consumo y uso de aguas no aptas para su consumo [8].

Medir y evaluar los efectos tóxicos de una sustancia o sustancias contaminantes sobre un medio biológico y ambiental, no ha sido una práctica común, específicamente por las limitancias de tiempo y especificidad de resultados en el medio natural observado. Estandarizar la repetibilidad del proceso aseguraría identificar los efectos e influencias de estas sustancias, para registrar sus alteraciones y transformaciones nocivas del medio biomonitoreado [9].

En nuestro país y específicamente en nuestra región Junín se ha adolecido de una mala gestión ambiental de los recursos hídricos y ríos, poniéndose en riesgo su sostenibilidad futura. La falta de seguimientos permanentes de monitoreo a estos sistemas, no ha permitido el adecuado accionamiento ambiental encargado de mitigar el problema, generándose brechas entre la sostenibilidad del recurso y su política ambiental inmediata a implementar [5].

El río Chanchas es un recurso hídrico gravitante en el desarrollo agronómico, energético, piscícola y doméstico de los pueblos que se sirven de él (demanda agrícola de 315998511,94 m³ con déficit de 10281304,34 m³) y al ser uno de los principales afluentes de toda la cuenca del Mantaro, se ha visto afectado en cuanto a la calidad de sus aguas por exceso de vertidos de residuos sólidos y aguas residuales servidas producto de conexiones clandestinas de desagües que desembocan irresponsablemente sobre él [5].

Otro problema potencial que afectaría la calidad de aguas del río Chanchas, sería el escurrimiento de aguas de drenaje de mina inactiva (Minera “Sarita Primera” - código 454), estos importantes vertimientos afectarían la calidad de sus aguas, gracias al aporte continuo de metales pesados. Registros del Ministerio de Energía y Minas - 2016, indican que estos drenajes viajan a través de rocas calizas metaforizadas, salificadas y oxidadas, discurriendo en forma de flujos de agua por toda la zona, permitiendo el arrastre de compuestos que desembocan sobre las aguas del río Chanchas [10]. Estos hechos relevantes hacen necesario un biomonitoreo para identificar la toxicidad de sus aguas y la influencia en el desarrollo de sistemas biológicos del sector río Chanchas.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es la toxicidad del agua del río Chanchas obtenida mediante bioensayos con especies crucíferas?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuál será la calidad del agua del río Chanchas?
- ¿Cuál es el punto biomonitoreado de las aguas del río Chanchas – sector Pucará que presenta mayor toxicidad?
- ¿Cuál es la especie crucífera que presenta mayor resistencia a la toxicidad de las aguas del río Chanchas?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Evaluar la toxicidad del agua del río Chanchas mediante bioensayos con especies crucíferas.

1.3.2. Objetivos específicos de la investigación

- Determinar la calidad del agua del río Chanchas.
- Determinar el punto biomonitoreado de las aguas del río Chanchas que presenta mayor toxicidad.
- Determinar qué especie crucífera presenta mayor resistencia a la toxicidad de las aguas del río Chanchas.

1.4. Justificación e importancia de la investigación

1.4.1. Justificación teórica

El presente trabajo busca evaluar la toxicidad de las aguas del río Chanchas, demostrando de esta manera la necesidad de tomar medidas de tratamiento y subsanación ante ello de parte de la población y autoridades encargadas, ya que estas aguas al ser consumidas de manera directa e indirectamente son perjudiciales para la salud de los pobladores, además que afectan los cultivos del lugar.

1.4.2. Justificación metodológica

El aumento del consumo de agua y uso en agricultura para diversos sectores de la sociedad hace imprescindible el análisis de estas aguas y sus efectos posteriores al ser utilizadas. Para conocer el efecto que estas aguas pueden producir en los cultivos y su nivel de toxicidad que ellas tienen se considera importante el monitoreo de las aguas con cierta frecuencia para conocer el estado de las mismas. Los bioensayos de germinación pueden ser una herramienta útil para este fin. Por ello con base en lo ya mencionado, el presente trabajo busca evaluar de forma temporal y continua la calidad de las aguas del río; identificando cambios específicos y alteraciones desfavorables en el desarrollo y metabolismo de nuestras especies trabajadas (crucíferas); cabe recalcar que esta especie a bioensayar es muy susceptible a los cambios ecosistémicos inherentes a las condiciones ambientales del medio donde se desarrollan [11]. Se halló el índice de toxicidad y fitotoxicidad lo cual nos dio respuesta sobre la toxicidad del agua. Por tanto, este estudio contribuirá a un nuevo método de análisis de toxicidad del agua, basado en bioensayos utilizando crucíferas.

1.4.3. Justificación práctica

Los bioensayos llevados a cabo con especies terrestres son métodos innovadores, de reducido tiempo de exposición, no costosos, y sustentable resultan sumamente útiles para ser aplicados en muestras ambientales o en el monitoreo de procesos. Este método de análisis se da mediante la inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo que constituyen indicadores subletales muy sensibles en la evaluación de efectos biológicos para determinar la calidad del agua; asimismo, el crecimiento de la raíz como punto final de lectura es más sensible a la toxicidad que la germinación de las semillas lo cual lo hace un método eficaz para la evaluación de toxicidad de agua del río Chanchas.

1.4.4. Importancia

Estudiar este tipo de pruebas de fitotoxicidad y su relación con la toxicidad de nuestro sistema hídrico, es importante, porque al inducir cierto estrés ambiental al organismo biológico, este mostrará señales inmediatas de incomodidad al medio, los cuales son traducidos en bio indicadores que simplifican la afectación del organismo centinela en el medio ensayado. Los resultados obtenidos ayudan a fortalecer la prevención y gestión de la contaminación del recurso analizado.

1.5.Limitaciones de la presente investigación

La ampliación de la cobertura de los puntos de monitoreo para el análisis fisicoquímico, debido a que se genera incrementos significativos de la inversión económica para la investigación, cabe recalcar que estos se utilizan como contraste de los bioensayos realizados como pruebas de ecotoxicidad.

1.6. Hipótesis y variables de la investigación

1.6.1. Hipótesis

1.6.1.1.Hipótesis general

- **Ha:** El agua del río Chanchas es significativamente tóxica al ser evaluada mediante bioensayos con especies crucíferas.
- **Ho:** El agua del río Chanchas no es significativamente tóxica al ser evaluada mediante bioensayos con especies crucíferas.

1.6.1.2.Hipótesis específicas

- **H1:** La calidad del agua del río Chanchas no es significativamente buena.
- **H2:** Los puntos biomonitoreados presentan significativamente toxicidad en las aguas del río Chanchas.
- **H3:** Las especies crucíferas presentan significativamente resistencia a la toxicidad de las aguas del río Chanchas.

1.6.2. Variables de la investigación

1.6.2.1.VARIABLES INDEPENDIENTES

- Agua de puntos monitoreados del río Chanchas
- Especies de crucíferas

1.6.2.2.VARIABLES DEPENDIENTES

- Respuestas biológicas de las crucíferas (Norma IRAM 29114)

1.6.3. Operacionalización de variables

Tabla 1. Operacionalización de variables

VARIABLES	DESCRIPCIÓN CONCEPTUAL	DESCRIPCIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	
VARIABLE INDEPENDIENTE	AGUA DE LOS PUNTOS MONITOREADOS DEL RIO CHANCHAS	Recurso geográfico de una longitud promedio de 23 km de recorrido se caracteriza por su tipo de patrón de drenaje distributivo. Esta Sub cuenca comprende los Distritos de Pucará, Sapallanga y Huancán, con un área de 237.86 km ² .	Las aguas del río Chanchas son la fuente de donde se tomó las muestras respectivas para su posterior análisis fisicoquímico, y microbiológico, además de ser la muestra con la que entraran en contacto las crucíferas para su evaluación de toxicidad.	Puntos de muestreo	<ul style="list-style-type: none"> • M1 • M2 • M3 • M4 	Coordenadas UTM
	ESPECIES CRUCÍFERAS	Se trata de un grupo de vegetales que destaca por sus numerosas propiedades que contribuyen al cuidado de la salud. Y es que, son una fuente de nutrientes, vitaminas y minerales.	Las especies crucíferas serán los componentes principales para los bioensayos de toxicidad de las aguas de río Chanchas.	Parámetros del agua	<ul style="list-style-type: none"> • Fisicoquímicos • Microbiológicos 	<ul style="list-style-type: none"> • °C • NMP • NTU • ppm
VARIABLE DEPENDIENTE	RESPUESTAS BIOLÓGICAS DE LAS CRUCÍFERAS	Una respuesta biológica es la forma en que reacciona una célula u organismo ante un estímulo externo.	Es la alteración que se dará en la germinación y desarrollo de las crucíferas indicándonos de esta manera el nivel de toxicidad de las aguas y su resistencia de estas crucíferas hacia ellas.	Brassica oleracea	<ul style="list-style-type: none"> • Col (Brassica oleracea var. capitata) • Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis L.) 	Unidad
				Brassica rapa	<ul style="list-style-type: none"> • Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis) • Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleífera) 	Unidad
				Índices de fitotoxicidad de	<ul style="list-style-type: none"> • Germinación Relativa de Semillas (GRS) • Crecimiento relativo de radícula (CRR) • Índice de germinación (IG) 	%
			Índices de toxicidad	<ul style="list-style-type: none"> • Índice de germinación normalizado (IGN) • Índice de Elongación Radical (IER) 	<ul style="list-style-type: none"> • Baja • Moderada • Alta • Hormesis 	

Fuente: elaboración propia

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1. Antecedentes internacionales

En la investigación intitulada “Índices de germinación y elongación radical de *lactuca sativa* en el biomonitoreo de la calidad del agua del río Chalma”, el investigador desarrolló un biomonitoreo correspondiente a la calidad de aguas de una fuente hídrica, en los que evaluó la fitotoxicidad de germinados de semillas de lechuga. Este autor investigó sobre los estados de contaminación del río Chalma en seis zonas delimitadas del estado de México y Morelos, y obtuvo resultados multivariados respecto a las concentraciones de nutrientes de los sitios evaluados y las afectaciones en los índices de germinación y elongación radical obtenidos. Identificó que la parte baja E5 y E6 del río tuvo un índice de toxicidad moderada a baja (-0,5 de IGN a -0,21 de IGN), asociada a la acumulación de compuestos lixiviados en las épocas de lluvia. La zona media del río correspondiente al punto E4 obtuvo valores de toxicidad moderada (0,5 de IGN). Las zonas altas E1 y E2 tuvieron moderada a baja toxicidad baja (-0,5 de IGN a - 0,21 de IGN), afectando gradualmente a los bioensayos. El autor de la investigación concluyó que los índices de germinación se vieron influenciados por las zonas monitoreadas del río y su sensibilidad biológica fue del tipo integradora, la cual es recomendable para la evaluación de sistemáticos riesgos toxicológicos del ecosistema [3].

En la investigación titulada “Bioensayo de germinación de *Lactuca sativa* L.: Determinación de calidad de agua en represas para riego” en Argentina, desarrolló análisis multivariados de bioensayos en *Lactuca sativa* para determinar la toxicidad de las aguas de represas, el autor hizo uso de germinados controlados en cajas Petri y cubiertos con papel filtro Watman, los que fueron distribuidos en bloques con repeticiones por tratamiento (4 repeticiones). Las pruebas de germinación estuvieron expuestas al estrés de las aguas monitoreadas y a la alternancia de luz y oscuridad. Esta investigación obtuvo índices de germinación elevados para sus tratamientos bioensayados (96,07 %) en comparación con las muestras testigos (97,9%).

El investigador concluye indicando que los índices de germinación medios globales no superaron al 60%, lo que ratifica la escasa existencia de toxicidad [2].

En la investigación “Evaluación de la fitotoxicidad de aguas residuales del Municipio de Oro Verde, entre ríos, mediante el ensayo de toxicidad aguda en semillas” se evaluó la toxicidad aguda de aguas residuales con procesos de vertimiento al Municipio de Oro Verde, en ella se analizó el crecimiento de las raíces de las semillas, las cuales fueron expuestas a diversas muestras de agua del sector analizado. Los muestreos realizados fueron 4, los mismos que fueron aplicados a bioensayos de lechuga, rúcula y tomate. Las pruebas de germinación se realizaron en cajas Petri y con papel filtro humedecido con 3 mL de agua residual para cada muestra de 20 semillas con 5 repeticiones. Se reportaron resultados para aguas de efluente industriales una reducción en el crecimiento de la radícula de la semilla (superior al 50%), se determinó también que las dos hortalizas bioensayadas tuvieron comportamientos de germinación análogos para el primer muestreo de las aguas y para el segundo muestreo la lechuga resultó ser el organismo centinela más predispuesto a detectar la toxicidad de las aguas, mientras que las semillas de tomate no mostraron sensibilidad a la contaminación [12].

En el artículo titulado “Prueba de toxicidad aguda sobre la germinación y desarrollo de *Raphanus sativus* L. por exposición a aguas residuales de una planta tratadora de Cd. Valles” sobre toxicidad aguda en la germinación y desarrollo del *Raphanus Sativa* L., evaluó los parámetros de fitotoxicidad de las aguas de una planta de aguas residuales, para lo cual realizó bioensayos con semillas de rabanito en cajas Petri inducidas a germinación con agua residual (5 semillas por Petri). Los investigadores hicieron uso de cámaras de germinación por tiempos, parámetros y repeticiones controladas (5 días), diluyendo las concentraciones para su aplicación como agente tóxico (100 t, 50 t, 25 t a 12,5%). Se lograron identificar toxicidades medias y bajas IG>50% y en sus análisis de metales traza identificaron presencia de metales pesados como el Pb (0,03 ppm) y Cd (0,027ppm). Esta investigación

concluye que la especie trabajada muestra signos de toxicidad para las aguas de la PTAR, inhibiendo el crecimiento y germinación [13]

El artículo titulado “Análisis de fitotoxicidad de aguas residuales procedentes de estaciones depuradoras de la provincia de Albacete” desarrolló análisis de fitotoxicidad de aguas residuales provenientes de estaciones depuradoras en Albacete-España. Esta investigación tuvo como objetivo general evaluar la calidad de las aguas del agua residual de diversas EDARS con la metodología de los ensayos de fitotoxicidad, para esto el autor, utilizó la *Lactuca Sativa L.* como especie bioindicadora de la calidad. En esta investigación se basaron en la metodología de Ronco (2004) y utilizaron aguas con alta turbiedad para los bioensayos, emplearon también muestras coloreadas utilizando diluciones de 100 %, 50 %, 25 %, 12 %, 6 %, 3% y 1,5% para la obtención de diversificación de resultados y su respectiva comparación con una muestra testigo bioensayada. Las pruebas experimentales se trabajaron en condiciones controladas por 120 h tanto para el crecimiento radical y el hipocotilo, y utilizó metodología de Tiquia (2000) para el cálculo de los índices de toxicidad. Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente con un ANOVA y dedujo que las muestras no presentan fitotoxicidad debidos a que los IG hallados reportaron valores menores al 50%, por lo que concluyó que los mayores índices de germinación IG se reportan para aquellas EDARs que tienen procedimiento de tratamiento secundario, los cuales hacen uso de los fangos activo y tratamiento terciario con luz ultravioleta [14].

En la tesis titulada “Evaluación de la toxicidad del agua de la Cuenca del río Guayllabamba mediante bioensayos con *Lactuca sativa*” se tuvo como objetivos evaluar la toxicidad de las aguas de la cuenca del río Guayllabamba a través de bioensayos con *Lactuca sativa* (lechuga) y establecer un índice biológico que permita conocer y evaluar las condiciones de contaminación del agua de este río. Se determinaron cuatro puntos de muestreo, y se observó gradientes de contaminación desde el punto no contaminado bajo hasta el punto más contaminado. Los parámetros físico-químicos del agua de la cuenca del río Guayllabamba que se midieron fueron: cloruros, sulfatos,

fosfatos, nitratos DQO, DBO₅, oxígeno, pH y conductividad. Cada punto de muestreo fue utilizado como tratamiento para desarrollar el diseño experimental, por lo que se obtuvo cinco tratamientos más un testigo con 5 repeticiones de 10 semillas cada uno. Los bioensayos se realizaron con semillas de *Lactuca sativa* mediante una prueba estática de toxicidad aguda (120 horas de exposición) para evaluar los efectos fitotóxicos. Los resultados dieron que el porcentaje de germinación de las semillas de los diferentes tratamientos y meses varió. En el mes de marzo existió mayor porcentaje de germinación con un 81,33% y en el mes de abril existió un 63,33%. Las semillas del tratamiento 5 presentaron cambios, por la presencia de cloruros, con 35 mg/L, provocando estrés en la germinación [1].

El artículo titulado “Evaluación piloto de toxicidad aguda del río Fucha” tuvo la intención de realizar una evaluación piloto de la toxicología aguda de sus aguas a través de un bioensayo utilizando semillas de *Lactuca sativa* L., que es un habitual modelo vegetal para evaluar fitotoxicidad. El bioensayo consistió en la exposición de semillas certificadas a una muestra de agua del río, en diferentes concentraciones y utilizó dos controles de agua salina y agua potable. Se observó una evidente inhibición de la germinación, y llegó a un máximo de 30% que tiende a disminuir a medida que disminuye la concentración de la muestra colectada. También se observó una afectación en la longitud radicular dada por una inhibición radicular del 52,4 % en la concentración más alta de la muestra. Morfológicamente, se encontró evidencia de la toxicidad sobre las semillas al observar ápices radiculares con necrosis moderada, poco desarrollo en los pelos absorbentes de la raíz y necrosis en al menos [15].

El artículo titulado “Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on a bioassay with lettuce (*Lactuca sativa* L.)” tuvo como objetivo utilizar las diferentes concentraciones de elementos solubles en suelos de origen natural (suelos peridotíticos) y antropogénico (suelos afectados por un derrame de pirita-mina), para determinar la fitotoxicidad en lechuga (*Lactuca sativa*). Las soluciones se obtuvieron a partir de extractos suelo: agua (1:1), con pH neutro y altas concentraciones de As, Pb, Zn, Mn,

Co y Ni, con valores que superan el nivel tóxico para solución suelo. Las variables evaluadas fueron: Germinación de Semilla (SG), Elongación de Raíz (RE), Tasa de Germinación (GR) y Necrosis de Raíz (RN). Las variables más sensibles en el bioensayo con estas soluciones fueron GR y RN, en estos casos la solución provocó una reducción del 44% y 67%, respectivamente, con relación al control (agua destilada). La prueba con soluciones suelo-agua fue sensible y reproducible para determinar la fitotoxicidad en lechuga causada por elementos potencialmente contaminantes en los suelos [16].

2.1.2. Antecedentes nacionales

En la tesis titulada “Efecto del agua subterránea procedente de pozos tubulares de la provincia de Melgar en la germinación y crecimiento de quinua, alfalfa y lechuga” desarrollada en Puno, se biomonitorearon las aguas de pozos tubulares para riego de pastos. Se realizaron análisis fisicoquímicos de la calidad de agua y se compararon con los efectos de los bioensayos trabajados. Las semillas de alfalfa, lechuga y quinua estuvieron afectadas a muestras de agua de dos zonas previamente definidas (Ayaviri y Macarí), para que posteriormente sean analizadas respecto a su crecimiento en un sistema acondicionado con sustrato arena. El autor de la investigación determinó que el agua de los pozos de Ayaviri y Macarí germinó las semillas de quinua en porcentajes cercanos al 100%, mientras que la alfalfa mostró valores comprendidos entre 60% - 82,50% y la lechuga entre 82,50% - 65%. Los resultados de las mediciones del grosor de tallos se obtuvo valores superiores con los pozos de Ayaviri en la quinua (6,66 mm – 0,83mm). La investigación concluye que el agua de los pozos está dentro de los ECAs y que están aptas para el uso de riego [17].

En el artículo titulado “Citotoxicidad y genotoxicidad de las aguas de los ríos Jequetepeque y Moche mediante el bioindicador ambiental *Vicia faba L.*”, se evaluó la toxicidad de las aguas de ríos usando métodos nuevos y complementarios al monitoreo fisicoquímico-biológico. Se determinaron niveles citotóxicos y genotóxicos de las aguas de cuencas altas, medias y bajas de lo región Lambayeque, específicamente de los ríos Moche y

Jequetepeque con la leguminosa Haba. Los tratamientos impuestos a la *Vicia faba* consistieron en diluciones de muestras de agua de los ríos correspondientes a 1 mL/99 H₂O destilada, 5 mL/95 H₂O destilada y 10 mL/90 H₂O destilada. El investigador concluyó que el tratamiento T7 correspondiente a la dilución del río moche (10 mL/90 H₂O destilada) presentó una alta citotoxicidad (índice miótico correspondiente al 5,4%) y una elevada genotoxicidad; mientras que para el río Jequetepeque las muestras de agua usadas en las diluciones de los bioensayos no evidencian influencias en los efectos citotóxicos, ni genotóxicos [18].

El artículo titulado “Toxicidad del efluente de la laguna de estabilización El Espinar mediante bioensayos con *Daphnia pulex* y *Lactuca sativa L*” tuvo como objetivo determinar el grado de toxicidad del efluente de las lagunas del Espinar, mediante bioensayos con *Lactuca Sativa L* y *Daphnia Pulex*. En el caso de la lechuga se evaluó el crecimiento de la radícula y el desarrollo del hipocotilo durante 120 h de exposición. Para la *Daphnia Pulex* se determinaron los índices de mortalidad después de expuestas las muestras por 48 h, hallándose la concentración letal media (CL₅₀) y el índice de efecto tóxico potencial (IETP) para este organismo biológico. El investigador reportó resultados de inhibición de radícula para la *Lactuca Sativa L* y para la *Daphnia Pulex* se reportaron CL₅₀ de 78,2% para el mes de agosto y CL₅₀ de 69,20% para el mes de noviembre. La investigación concluyó indicando que el efluente estudiado presentó una carga de nivel de toxicidad considerable acorde a los bioindicadores evaluados, indicando enfáticamente que existe un alto potencial de riesgo para la salud pública [19].

En la tesis titulada “Toxicidad de las aguas superficiales de la estación 6 del Río Chillón usando bioensayos de *Lactuca Sativa L*”, se buscó determinar los índices de toxicidad para los meses de noviembre y diciembre del periodo hidrológico, y se trabajó con concentraciones de muestras del 100% y 30% (niveles de significación y confianza estadística del 95%). Este investigador reportó resultados del índice de toxicidad para la dilución del 30% comprendidos en un rango de <-0,32; - 0,25> que identifican toxicidades medias; y para la dilución del 30% se encontraron rangos de <-0,27; -0,20>

que indicaron toxicidades bajas. En esta investigación se reportaron valores para el porcentaje del índice de elongación relativa (IER) a dilución del 100% de 28,38 % y 25,63 %, así también para una dilución del 30% se registraron valores de IER del 23,69 % y 21,63 %, no reportándose valores mayores al 50% que indiquen inhibiciones importantes. Por último, se reportaron valores preocupantes de inhibición del hipocotilo a concentraciones del 100%. La investigación concluyó que existe evidencia de efectos fitotóxicos en los bioensayos trabajados para los dos muestreos realizados, y se identificó que, a mayor porcentaje de concentración de muestra, mayores efectos fitotóxicos se registrarán en los bioensayos [20].

El artículo titulado “Efecto Ecotoxicológico de tres Metales Pesados Sobre el Crecimiento Radicular de Cuatro Plantas Vasculares”, tuvo como objetivo evaluar el efecto fitotóxico del Cr^{6+} , Hg^{2+} y Pb^{2+} en forma de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), cloruro de mercurio (Cl_2Hg) y acetato de plomo ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$) respectivamente, sobre el crecimiento radicular de cuatro especies de plantas superiores terrestres: cebolla (*Allium cepa* L., Liliaceae), betarraga (*Beta vulgaris* L., Chenopodiaceae), arroz (*Oriza sativa* L., Poaceae) y rabanito (*Raphanus sativus* L., Brassicaceae) a 192 h (8 días) de exposición. Se trabajaron además con 8 repeticiones, conllevando al desarrollo de un DBCA. La investigación concluyó que todas las especies vegetales analizadas presentaron sensibilidad a los metales pesados. Para el Cr^{6+} se reportaron ecotoxicidades del tipo decreciente (*O. sativa* > *B. vulgaris* > *A. cepa* > *R. sativus*), mientras que para el Hg^{2+} se encontró secuencialidad aleatoria (*B. vulgaris* > *R. sativus* ~ *O. sativa* > *A. cepa*). También para el plomo se encontraron secuencias del tipo decreciente (*B. vulgaris* > *A. cepa* > *R. sativus* > *O. sativa*). Se concluyó también que las especies de hortalizas evaluadas presentaron órdenes de sensibilidad correspondiente a Hg^{2+} > Cr^{6+} > Pb^{2+} . [21].

En la tesis titulada “Evaluación de la calidad del agua del río Azángaro y su efecto en la germinación y crecimiento de plántulas indicadoras de toxicidad vegetal - tomate (*Solanum Lycopersicum*) y lechuga (*Lactuca Sativa*)” se tuvo como objetivo determinar la calidad físico química de las aguas del río

Azángaro utilizadas en los bioensayos y b) evaluar los efectos que origina el riego con aguas del río Azángaro en la germinación y crecimiento de plántulas indicadoras de toxicidad vegetal tomate (*Solanum lycopersicum*) y lechuga (*Lactuca sativa*). La metodología consistió en coleccionar muestras de agua del río Azángaro en frascos de plástico desinfectados en un volumen de un litro debidamente rotulados. En el laboratorio se realizó el análisis fisicoquímico de las muestras de agua de pH mediante la técnica de potenciometría y el magnesio, cloruros y bicarbonatos mediante la técnica de colorimetría, el porcentaje de germinación se evaluó mediante la observación directa y el crecimiento de las plántulas mediante técnicas de biometría usando un vernier. Los datos fueron evaluados estadísticamente mediante pruebas de coeficiente de variación, análisis de varianza y pruebas de Tukey. Los resultados fueron que las aguas del río Azángaro presentaron valores de pH que oscilaron entre 8,06 y 8,47 unidades, magnesio entre 33,03 mg/L y 53,85 mg/L, cloruros entre 11,80 mg/L y 59,60 mg/L, el riego con aguas de río Azángaro en el proceso de germinación de semillas de lechuga resultaron con los promedios más bajos (4,67% - 22,67%) con respecto a los de tomate (24,00% - 66,67%), presentando diferencia estadística significativa según la zona de muestreo ($P < 0,05$) y el crecimiento de plántulas fue nulo al regar con aguas de las zonas de San Antón, Asillo y Azángaro [22].

2.1.3. Antecedentes regionales

La tesis titulada “Fitoextracción de cadmio y zinc en suelos contaminados utilizando *Lactuca sativa* var. White Boston, en la Estación Agropecuaria Experimental El Mantaro - Junín 2019” tuvo como objetivo lograr la absorción de metales pesados por la planta *Lactuca sativa* var. Se trabajó con muestras de tres áreas de terreno, El análisis de caracterización se realizó en la UNALM siendo los resultados: pH (8,26; 8,19 y 8,25), textura (Franco a Franco arcillosa), CIC (15,20; 17,60; 16,00), Ce (0,70 dS/m; 0,72 dS/m; 0,48 dS/m), M.O (1,43; 2,26; 1,80), CaCO_3 (13,80%; 11,90%; 18,11%). Las concentraciones químicas, de los metales pesados detectados en el área A (mg/kg): cadmio (20,92), zinc (36,7). En el área B(mg/kg): cadmio (6,75), zinc (299,21). Lote C(mg/kg): cadmio (12,30), zinc (202,39) y después la asimilación de los metales se nota en los siguientes resultados: área

A(mg/kg): cadmio (3,519), zinc (227,86). En el área B(mg/kg): cadmio (3,39), zinc (221,01). Área C(mg/kg): cadmio (2,67), zinc (149,18); fueron analizados en el laboratorio acreditado CERPER S.A. los resultados de hoja y raíces es, Área A: cadmio (1,14 ppm y 2,47 ppm) zinc (98,95 ppm y 68,93 ppm). área B: cadmio (1,57 ppm y 3,25 ppm), zinc (170,36 ppm; 90,93 ppm). área C: cadmio (0,63 ppm y 3,92 ppm), zinc (92,64 ppm, 80,07 ppm) [23].

La tesis titulada “Impacto de las actividades antrópicas del agua de la subcuenca del río Shullcas - Huancayo - Junín” tuvo como objetivo evaluar el efecto de las actividades antrópicas sobre la calidad del agua de la subcuenca del río Shullcas en función a las actividades desarrolladas en el sector alto medio y bajo del mismo. Se evaluaron parámetros “in situ” e hicieron análisis en laboratorio de muestras de agua, extraídas de las principales localidades, para ello se consideró parámetros físico-químicos y microbiológicos del agua, los cuales fueron comparadas con el estándar de calidad ambiental para agua categoría: 1 y 3 - D.S. N°002-2008-MINAM para así conocer la calidad de agua del Shullcas en sus tres sectores. En los resultados registrados se evidenció que la calidad de agua a partir del sector medio y bajo se ve afectada por la actividad doméstica por lo tanto las concentraciones de parámetros microbiológicos (coliformes fecales y Escherichia Coli) sobrepasan los estándares de calidad ambiental para agua categoría: 3, mientras que en el sector alto de la subcuenca los parámetros evaluados testifican que el agua del Shullcas, pese a la actividad ganadera desarrollada, no tiene mayor incidencia de contaminación, y su recurso hídrico aún puede ser utilizado para cualquier actividad que sus habitantes requieran [24].

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Biomonitorio ambiental

Comprende a toda una gama técnicas de diagnóstico ambiental, que son de carácter complementario y usadas ampliamente en las siguientes actividades

- Monitoreo de efectos biológicos con ensayos de toxicidad
- Monitoreo biológico de campo

- Medición de parámetros químicos convencionales en descargas y cuerpos receptores.

Existen diversos niveles de toxicidad, generado por indicadores de toxicidad. Estos niveles pueden ser utilizados para determinar estándares (límites legales) u objetivos que pueden ser medidos o evaluados en el ambiente. El biomonitoreo tiene carácter de retrospectión y los niveles guía resultantes son utilizados de forma predictiva, preventiva o reglamentaria [25].

2.2.2. Estándar de calidad ambiental (ECA)

Medidas que establecen el nivel de concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, presentes en el aire, agua o suelo, que no representa riesgo significativo para la salud de las personas ni al ambiente [11].

Tabla 2. ECA – Categoría 3

Parámetros	Unidad de medida	D1: Riego de vegetales		D2: Riego de bebidas
		Agua para riego no restringido	Agua para riego restringido	Bebida de animales
Conductividad	uS/cm		2500	5000
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	mg/L		15	15
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	O ₂ mg/L		40	40
Coliformes fecales	NMP/100 ml	1000	2000	1000
Cu	mg/L		0,2	0,5
Pb	mg/L		0,05	0,05
As	mg/L		0,1	0,2

Fuente: [11].

2.2.3. Toxicidad de sustancias

Una sustancia es tóxica cuando tiende a alterar el desarrollo natural de sistemas biológicos inducidos, provocando alteraciones del tipo sistémico y en algunos casos hasta mortandad. Las sustancias a las cuales se expone un organismo vivo pueden generar los siguientes efectos [26]:

- **Letalidad:** Corresponde a la muerte de un organismo afectado, en el caso de semillas inhibición de la germinación.
- **Subletalidad:** Implica la limitancia de las funciones básicas del organismo bioensayados, mermando sus funciones vitales reproductivas y desarrollativas.
- **Comportamiento y adecuación:** Comprende la adecuación de los organismos biológicos al entorno tóxico, en estos se generaron cambios relativos en su sistema, generando comportamientos no habituales que alteran el entorno ecosistémico.

2.2.4. Pruebas ecotoxicológicas y bioindicadores

Los investigadores expertos en bioensayos toxicológicos recomiendan diversas técnicas que emplean organismos de prueba de diferentes niveles tróficos para complementar los análisis ambientales. La germinación de semillas y la prueba de la elongación radical son de los indicadores más simples del biomonitoreo ambiental. Los indicadores analizados y recomendados son los índices de germinación (IG), crecimiento de radícula (CR), índice de germinación normalizado (IGN) y el crecimiento relativo de radícula (CRR), estos parámetros muestran los cambios de los organismos bioensayados, identificando las variabilidades en la calidad ambiental del entorno, estas pruebas se basan en la sensibilidad de las plantas centinela cuando se exponen a muestras de agua, suelo o sedimento [25].

2.2.5. Toxicidad en aguas

Determinación de toxicidad en aguas en muchos países se realizan ensayos con el efluente completo, para evaluar su toxicidad. Las agencias regulatorias de muchos países implementaron el control de la toxicidad de los efluentes como un parámetro de cumplimiento obligatorio, por ejemplo, EE.UU., Brasil, Canadá, países europeos, Australia, Nueva Zelanda. Los ensayos de

toxicidad para el control de efluentes se realizan empleando procedimientos normalizados utilizando crustáceos, algas, peces y bacterias luminiscentes. Distintas normas, (ISO, AFNOR, EPA, IRAM, etc.) describen los procedimientos para la realización de estos ensayos. Se estudia de esta forma el efecto sobre los organismos causado por todas las sustancias presentes en el efluente. El Subcomité de Métodos Biológicos del Organismo Nacional de Normalización (IRAM) ha elaborado y publicado varias normas para la realización de los ensayos (ver cuadro). Este grupo de estudios de normas adapta a condiciones nacionales procedimientos normalizados internacionalmente, como por ejemplo la inclusión en las normas de especies autóctonas como organismos de ensayo [27].

2.2.5.1. ¿Cómo se lleva a cabo el procedimiento para evaluar la toxicidad de un efluente?

Los ensayos de toxicidad se realizan sobre el efluente. Se exponen los organismos a diferentes concentraciones porcentuales del efluente en agua de calidad adecuada para el ensayo. Dependiendo de la composición química, algunos efluentes son tóxicos sobre uno u otro organismo ensayado, por lo que se recomienda realizar los ensayos sobre más de una especie; de esta manera se puede emplear el resultado obtenido con la especie más sensible [27].

2.2.6. Normas IRAM

- Las normas IRAM publicadas y normas en estudio por el subcomité métodos biológicos.
- Norma IRAM 29012, Parte 16 “Guía para el bioensayo de muestras”. 2003
- Norma IRAM 29130, “Determinación de la inhibición de la movilidad de *Daphnia magna* Strauss (Cladocera, Crustacea)”. 2004
- Norma IRAM 29111, “Método de ensayo de inhibición del crecimiento de algas de agua dulce con *Scenedesmus subspicatus* y *Raphidocelis subcapitata*”. 2005
- Norma IRAM 29112, “Determinación de la toxicidad letal aguda de sustancias en peces de agua dulce. Método semiestático”. 2008

- Norma IRAM 29114, “Método de ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga. Método en papel”. 2008
- Norma IRAM 29115, “Determinación de la inhibición de la emisión de luz de *Vibrio fischeri*. Método utilizando bacterias liofilizadas. 2014
- IRAM 29118 -Determinación de los efectos de los contaminantes sobre la flora del suelo. Efectos de los compuestos químicos sobre la emergencia y el crecimiento temprano de plantas superiores. En estudio.
- IRAM 29121-1. Efectos de los contaminantes en lombrices. Parte 1 - Determinación de la toxicidad aguda en *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*. En estudio.
- IRAM 29121-2. Efectos de los contaminantes en lombrices. Parte 2 - Determinación de los efectos en la reproducción en *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*. En estudio.

2.2.7. Crucíferas

Desde el punto de vista hortícola, la familia de las crucíferas es un tipo de hortalizas con alto poder medicinal y nutricional (alto contenido de vitamina C) que tienen el poder de inhibir diversas enfermedades como el cáncer. Esta familia de vegetales tiene más de 390 géneros y 3000 especies [28]. Están compuestas por las siguientes especies:

- Rúgula o arúgula (*Eruca vesicaria ssp. Sativa*)
- Bok choy (*Brassica rapa subsp. Chinensis*)
- Brócoli (*Brassica oleracea var. Itálica*)
- Coles o repollitos de Bruselas (*Brassica oleracea var. Gemmifera*)
- Col o repollo (*Brassica oleracea var. Capitata*)
- Coliflor (*Brassica oleracea var. Botrytis*)
- Rábano picante (*horseradish*) (*Armoracia rusticana*)
- Col rizada (*kale*) (*Brassica oleracea var. sabellica*)
- Rábanos (*Raphanus sativus*)
- Nabo sueco (*Brassica rapa subsp. Rapa*)
- Berro (*watercress*) (*Nasturtium officinale*)

Este tipo de hortalizas durante la digestión liberan sus glucosinolatos contenidos, los mismos que se descomponen para formar compuestos químicos que tienen efectos anticancerígenos. Los compuestos formados por los glucosinolatos son el Indol-3-carbinol y el sulforafano (isotiocianato). Los indoles y los isotiocianatos inhiben la formación de células cancerígenas, siendo recomendadas para tratar cánceres de órganos huecos como vejiga, colon, hígado, mamas, pulmones y estómago [29].

2.2.7.1. *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L

Según Fornaris y Rullan (2018), es una especie crucífera por poseer flores en forma de cruz, también mejor conocida como repollo; es de estación anual que tiene pertenencia directa a las *Brassicaceae*. Las *Brassicas Oleraceas* var *Bjotyitis*, también conocidas como brócoli tienen diversas variedades dentro de los cultivos hortícolas como la *B. oleracea* var. *Gemmifera* o col de brucas y la *B. Oleracea* var. *acephala* de igual manera conocidas como Berza [30]. La característica principal de la *Brassica oleracea* L. var. *capitata* es que su tallo no presenta ramificación acorde a su desarrollo, al final termina acortándose y engrosándose. Sus hojas presentan serosidad de crecimiento continuo. El repollo en su etapa adulta alcanza dimensiones de hasta 16 pulgadas -24 pulgadas de altura y sus características fisiológicas de sus primeras hojas son planas y abolladas, alcanzando hasta 45 cm de largo y hasta 40 cm de anchura en su desarrollo adulto. Presenta hojas pequeñas a lo largo del tallo que mantienen proyección recta hacia el centro de gravedad de la planta. Su sistema de raíces es limitado, no teniendo profundidad y sólo alcanza de 45 cm a 60 cm por debajo de la superficie del suelo, cabe recalcar que la mayor densidad de su sistema radicular se encuentra concentradas de 20 cm a 30 cm de profundidad del suelo. Diversos estudios sobre el crecimiento y desarrollo de los repollos indican que su sistema radicular es muy frágil y limitado, dependiendo de las características del tipo de suelo, el tipo de riego a emplear y el tipo de compactación en su trasplante.

La *Brassica oleracea* L. var. *capitata* no es sensitiva al fotoperiodo por lo contrario este incide en su florescencia, esta especie depende por sobre todo de la temperatura, llegando a desarrollarse hasta en un límite mayor o igual a 10°C. El tallo de los repollos también conocido como “Tallo floral” tiene un desarrollo acelerado a partir del tallo comprimido de sus primeras etapas de vida (5 semanas - 6 semanas), generando inflorescencias racimosas, con aglomeraciones de flores de hasta 12,5 cm de longitud. Las flores son de color blanco que varían del pardo al amarillo, presentando cáliz estrecho y sépalos desarrollados opuestos que forman una cruz bien definida. Esta planta tiene posee frutos con características de vaina en los cuales desarrolla de entre 10 semillas a 30 semillas, las cuales presentan una coloración oscura - marrón oscura, son de forma redondeada y se calcula que un conjunto de ellas de 9000 presentan un peso aproximado de 28,35 g [30].

Figura 1. Fisiología de la *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.



Fuente: [30].

2.2.7.2. *Brassica oleracea* var. *botrytis* L.

Esta especie en la horticultura es mayormente conocida como coliflor, debido a que posee una inflorescencia particular de geometría redondeada, en la mayor parte de cultivares presenta coloración blanquecina, pero se ha logrado registrar florescencias verdes y rojas. Son de agradable sabor debido a su gran volumen carnoso y suave. Valdez, citado por Toapanta (2013), afirma que esta variedad hortícola es oriunda de ciertas regiones del Mediterráneo Oriental, siendo una hortaliza de siembra lábil y tenue, con alta sensibilidad a los cambios térmicos bruscos ($>26^{\circ}\text{C}$), siendo su rango óptimo de crecimiento de $15,5^{\circ}\text{C}$ a $21,5^{\circ}\text{C}$ en el día y de $12,5^{\circ}\text{C}$ a $15,5^{\circ}\text{C}$ en el periodo nocturno, estos investigadores recomiendan una temperatura constante de 22°C para el desarrollo de la parte comestible, comúnmente conocida como pella [31].

Esta especie se desarrolla de forma gradual y permanente, iniciando cambios de orden fisiológico en la fase de fluorescencia al formar la parte comestible o pella. Cabe recalcar que existen variedades de invierno que pueden desarrollar pellas de 6°C a 10°C . Productores recomiendan el desarrollo de follaje y asegurar así buena inflorescencia [32].

Las semillas de la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) tienen un alto poder de germinación por sobre las demás variedades de la especie *Brassicas oleracea*, germinando en un rango promedio de 3 días a 4 días culminada la siembra, para 12°C a 14°C . Se ha logrado comprobar agronómicamente que tarda en germinar entre 10 días - 14 días cuando se tienen temperaturas frías de entre 1°C a 5°C . Se recomienda que durante la primera fase del desarrollo de estas hortalizas los entornos térmicos deben de ser moderados, debiéndose evitarse temperaturas por debajo de 15°C capaz de frenar el inicio de la floración prematura. Los estadios de crecimiento y procesos de siembra, germinado y floración se visualizan en la figura 2.

Figura 2. Fisiología de la *Brassica oleracea* var. *botrytis* l.



Fuente: [32]

2.2.7.3. *Brassica rapa* subsp. *Pekinensis*

Es una variedad de *Brassica* de aspecto similar a la lechuga, sus hojas son alargadas presentando ciertas irregularidades dentadas y nerviaciones marcadas que van desde el limbo con proyección a la base del peciolo. Se caracteriza también porque en la parte del peciolo la coloración tiende de verde a blanquecina. Esta variedad también conocida como col china llega a crecer de 50 cm - 60 cm y se diferencia de las coles en el cierre arrellado de sus hojas en su forma superior, presentan forma geométrica alargada con extremos de su sistema de hojas entre cerrados [33]. La ciencia agronómica ha conseguido mejoras en cuanto a variedades de la *Brassica rapa* subsp. *Pekinensis*, las que pueden identificarse por el cierre casi exacto del ápice, teniendo densidad de hojas (compactación) dentro del capuchón que las alberga. Las variedades mejoradas tienen exclusivamente peciolo blancos y muy carnosos. Los meses de siembra recomendados para esta hortaliza son septiembre y octubre, para su posterior recolección en noviembre y diciembre. Las condiciones de cultivo que exige el cultivo son

suelos porosos con alta retención de humedad con pH de 6,5 - 7, manteniendo valores térmicos de entre 18 °C - 20 °C [33].

Figura 3. Fisiología de la *Brassica rapa subsp. Pekinensis*



Fuente: [33].

2.2.7.4. *Brassica rapa subsp. Oleífera*

Es una especie que tienen sus orígenes en el viejo continente, el cual posteriormente se instauró en las partes altas de la cordillera andina, entre ellas el Perú. Es una planta silvestre no perjudicial, que es comestible y presenta composición nutritiva con alto valor alimenticio.

Está emparentado con las coles comestibles y canola, caracterizándose por hospedar sus plagas. En muchos lugares es comúnmente conocida como mostaza, pata de cuervo, semilla de pájaros, flor de nabo y también como nabo de canarios. Esta variedad al desarrollarse entre cultivos florece mayormente para los meses de junio y julio, posteriormente se propaga por semillas dispersándose con el estiércol de los animales que la consumieron [34].

Esta especie de *Brassicas* tiene ciclo de crecimiento anual desordenado, dentro de su estructura presenta ramificaciones abundantes, con crecimientos de hasta 80 cm de longitud. Presenta hojas con coloración verdusca oscura con forma peculiar de lanza, sus flores son de aspecto redondeado y amarillas. Las flores son comestibles y presentan un sabor intenso. Los frutos presentan encapsulación coligados al tallo. Las semillas de mostaza presentan un milímetro de largo y ha trascendido en las culturas y religiones del mundo, se la nombra en citas de la religión cristiana, budista y judía.

La Brassica rapa subsp. Oleífera es una planta muy resistente a sequias, subidas térmicas de calor y heladas. Se adecúa a todo tipo de suelos, prefiriendo los francos sin costras que garantizan el brote de la planta. Tiene flores hermafroditas que morfológicamente son conocidas como actinomorfas provistas de pedicelos cortos, la caliza de las flores presenta liberación de sépalos (4 sépalos), manteniendo en su corola cuatro pétalos con coloración amarillenta intensa, mantiene sus 6 estambres cercanos a su receptáculo que contiene glándulas de néctar. Las semillas se encuentran en la silicua y se encuentran densificadas en cantidades de entre 8- 12 semillas de forma esférica y coloración amarilla rojiza, las mismas que se aprecian en la figura 4 [35].

Figura 4. Fisiología de la *Brassica rapa subsp. Oleífera*.



Tomado de: [35].

2.3. Definición de términos básicos

Indicadores de calidad del agua : Los indicadores de la calidad del agua se definen como un parámetro que ayuda a la evaluación del estado de calidad de las diferentes aguas que se están estudiando [1].

Parámetros fisicoquímicos: Estos hacen referencia a parámetros físicos o químicos del agua, tenemos el pH, temperatura, DBO₅, sólidos suspendidos [1].

Estándar de Calidad Ambiental (ECA): Indicadores de calidad ambiental que miden la concentración de elementos, sustancias, parámetros físicos, químicos y biológicos, presentes en el aire, agua o suelo, pero que no representan riesgo significativo para la salud de las personas, ni al ambiente [22].

Toxicidad: La toxicidad es el grado al cual un compuesto o mezcla es capaz de causar efectos nocivos a los organismos, por ejemplo, muerte, inhibición del crecimiento, inhibición de la re-producción [27].

Bioensayo de toxicidad: Prueba en un tejido, o conjunto de organismos que tengan vida, se usan como reactivo para hallar la intensidad de cualquier sustancia fisiológicamente eficaz cuya actividad no se sabe. Los ensayos de toxicidad son experimentos que pueden medir el efecto de uno o varios contaminantes en solo una o más especies, así permiten estimar el grado de toxicidad de una sustancia química, un efluente, una masa de agua, etc., empleando organismos vivos [1].

Norma 29114: Norma que regula la calidad ambiental - Métodos biológicos. Método de ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) [27].

Respuestas biológicas: Es la disminución del porcentaje de reproducción y/o inhibición del crecimiento radial de semillas que recién se están germinando en bioensayos de germinación [2].

Germinación relativa de semillas (GRS): En este caso traza el porcentaje de semillas reproducidas en el agua de los distintos lugares de estudio con respecto a aquellas germinadas en el testigo [36].

Crecimiento relativo de radícula (CRR): Representa el porcentaje de desarrollo de la radícula de las semillas que están puestas o expuestas a las aguas de los distintos lugares de estudio con respecto a aquellas de lote testigo [3].

Índice de germinación (IG): Este índice abarca los dos anteriores, considerando la germinación relativa de las semillas y el desarrollo relativo de la radícula. Sus valores altera entre 0 y 100 [36].

Índice de porcentaje de germinación residual normalizado (IGN): Los valores de este índice pueden variar entre 1 a -1. El índice da 0 si no hay disminución o germinan en igual porcentaje y a medida que el valor se acerca a -1 se evidencia mayor disminución de germinación respecto al testigo. Si su valor fuera positivo, indica que por el contrario, las semillas problema germinaron en mayor medida que las regadas con el agua testigo [36].

Índice de porcentaje de elongación radical residual normalizado (IER): Del mismo modo que el índice anterior, se espera un valor entre 1 a -1 que indica la

disminución del porcentaje de elongación radical de las semillas en el agua problema respecto al testigo. El índice da 0 si no hay disminución o el crecimiento es igual entre ambas y a medida que el valor se acerca a -1 indica mayor disminución de crecimiento respecto al testigo. Si su valor fuera positivo, la elongación radical de las semillas problema sería mayor que en las regadas con el agua testigo [36].

Crecimiento relativo hipocótilo (CRH): Este índice representa el porcentaje de crecimiento del hipocótilo de las semillas expuestas a las aguas de los diferentes sitios de estudio con respecto a aquellas del lote testigo [36].

Índice de porcentaje de elongación del hipocótilo residual normalizado (IEH): de este índice se espera un valor entre 0 a -1 que indica el menor porcentaje de elongación del hipocótilo de las semillas en el agua problema respecto al testigo (0 si no hay disminución o el crecimiento es igual entre ambas y a medida que el valor se acerca a -1 indicaría mayor disminución de crecimiento respecto al testigo) [36].

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Método, tipo y alcances de la investigación

3.1.1. Método

3.1.1.1. Método científico

El método general empleado en esta investigación fue el método científico, el mismo que nos proporciona un conjunto sistemático de procedimientos, acciones y procesos para explicar los efectos de la toxicidad de las aguas del río Chanchas en nuestros bioensayos. Este método estableció los procedimientos estandarizados, relaciones y leyes que explican los fenómenos presentados en nuestra investigación [37].

3.1.1.2. Método experimental

Este método ayudó a desarrollar las diferentes fases de nuestra investigación, coadyuvó a la implementación de nuestra estructura experimental, facilitando el análisis de los resultados [38]; permite también comparar nuestros bioensayos y analizar los datos categóricos de nuestra investigación. También permitió el seguimiento adecuado de nuestro diseño experimental y con ello la correcta utilización de los métodos estadísticos del tipo multivariado para la contrastación hipotética y el análisis de resultados.

3.1.1.3. Método hipotético deductivo

Este método proporcionó el soporte al proceso de enfoque cuantitativo de nuestro biomonitoreo ambiental. Permitted deducir, a partir de nuestros resultados bioensayados, las respectivas conclusiones, deducciones y suposiciones de orden técnico y científico; validando y consolidando nuestra investigación [39].

3.1.2. Tipo de la investigación

Nuestra investigación desarrollada corresponde al tipo aplicada, ya que busca las relaciones e influencias de las variables (zona de biomonitoreo, especie de crucífera y variedad) en el índice de toxicidad de las aguas del río Chanchas. Es estadística porque permitió la realización de análisis controlados de orden numérico comparativo, los que provienen de una manipulación experimental limitada.

3.1.3. Nivel de la investigación

El nivel de nuestra investigación corresponde al nivel explicativo, ya que permite responder las causas y repercusiones del nivel de toxicidad de las aguas del río Chanchas- sector Pucará sobre especies de crucíferas. Este nivel explicó las causas del fenómeno y bajo qué condiciones se presentó este [38].

3.2. Diseño de la investigación

Nuestra investigación presentó un arreglo factorial de 4^2 ya que consta de 2 factores (Puntos de muestreo y especies crucíferas) cada uno con 4 niveles. Asimismo, nuestro proceso experimental contará con cuatro repeticiones por tratamiento por lo que se obtendrá un total de 48 corridas experimentales. De igual manera se realizó una prueba testigo.

Tabla 3. Arreglo factorial 4^2 con un testigo

	TESTIGO				M 1				M 2				M 3				M 4			
	E1	E2	E3	E4	E1	E2	E3	E4	E1	E2	E3	E4	E1	E2	E3	E4	E1	E2	E3	E4
R1	TE	TE	TE	TE	M1	M1	M1	M1	M2	M2	M2	M2	M3	M3	M3	M3	M4	M4	M4	M4
	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-
	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1
R2	TE	TE	TE	TE	M1	M1	M1	M1	M2	M2	M2	M2	M3	M3	M3	M3	M4	M4	M4	M4
	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-
	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2
R3	TE	TE	TE	TE	M1	M1	M1	M1	M2	M2	M2	M2	M3	M3	M3	M3	M4	M4	M4	M4
	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-
	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3
R4	TE	TE	TE	TE	M1	M1	M1	M1	M2	M2	M2	M2	M3	M3	M3	M3	M4	M4	M4	M4
	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-	E1-	E2-	E3-	E4-
	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4	R4

Fuente: elaboración propia

Donde:

- T: Identifica la prueba testigo
- P: Aguas de un punto específico a bioensayar
- E: Especie (*Brassica oleracea* var. *capitata*, *Brassica oleracea* var. *botrytis* l., *Brassica rapa* subsp. *Pekinensis*, *Brassica rapa* subsp. *Oleífera*)
- R: Repetición por bandeja de germinación (50 unidades)

Cabe indicar que el diseño visto en la tabla 2 probará una hipótesis de linealidad y normalidad de Anderson Darling, para proceder con el modelo ANOVA anidado encargado de verificar las influencias significativas de las variables en estudio sobre los índices de toxicidad de las aguas. La ejecución de este diseño culmina con las comparaciones múltiples de Tukey para ver diferencias entre los tratamientos.

3.3. Población y muestra

3.3.1. Población

Recurso hídrico de la subcuenca del río Chanchas.

3.3.2. Muestra

La muestra de nuestra investigación está definida por los 4 puntos de muestreo del río Chanchas escogidos en el sector Pucará (0,5km), los mismos que fueron determinados siguiendo el criterio de razonabilidad y conveniencia para el análisis de bioensayos, en los cuales se cumple la estimación muestral $N \geq (t, \frac{s}{U})^2$, en esta relación estadística N representa el número de las muestras, t proviene de la prueba t de student para un nivel de intervalo de confianza, s identifica la desviación estándar general y U el nivel aceptable de la incertidumbre de la investigación [25].

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.4.1. Técnicas utilizadas en la recolección de datos

- Análisis de contenido cuantitativo: Es una técnica para estudiar cualquier tipo de contenido cuantitativo de una manera objetiva y sistemática, que cuantifica los datos o contenidos en categorías y subcategorías, y los somete a análisis estadístico [37].
- Datos secundarios (recolectados por otros investigadores): Implica la revisión de documentos, registros públicos y archivos físicos o electrónicos [37].

3.4.2. Instrumentos utilizados en la recolección de datos

- Informe de reportes de análisis
- Documentos de investigación

3.4.3. Materiales

- Termohigrómetro LCD HTC

- GPS Essentials Gis & Beers
- Balanza digital Henkel BRDO2KF
- Cámara de germinación TE-403
- Medidor de sólidos disueltos TDS-HM TDS-EZ
- Medidor Hanna HI98103 de pH Checker con resolución de 0.1 pH
- Medidor de oxígeno disuelto Ezodo
- Multiparámetro Hanna HI 9813-6
- Sellador de impulso de calor eléctrico SF-300
- Bolsas herméticas de polietileno con sierra deslizador
- Bolsas con auto cierre biohazard
- Algodón hidrófilo de 100zg
- Film plástico de polietileno con sierra
- Guantes estériles
- Mascarillas KN 95 MEDITECH
- Bandejas de germinación PLASTIAGRO con tratamiento UV 10 X 20
- Fumigador pulverizador de mano de compresión previa
- Frascos de poliestireno para muestra estéril
- Cooler Yeti de 20 lt.

3.4.4. Procedimientos

A continuación, se describen los procesos realizados en la investigación, detallándose por etapas los métodos estandarizados empleados para la realización de los bioensayos.

3.4.4.1. Ubicación geográfica y área de estudio

El estudio se desarrolló en el río Chanchas sector Pucará, el que se encuentra en una subcuenca multidistrital comprendida por Pucará, Sapallanga y Huancán. Se extiende por un área de 237,87 km², con una vertiente de 35,32 km [24]. Sus aguas recorren a través de drenajes distributivos de cuatro canales bifurcados, los mismos que confluyen en un solo afluente direccionado de este a oeste hasta el río Mantaro. Este río genera bienestar económico a los poblados por donde transita, haciendo posible diversas actividades como la piscícola, agrícola, pecuaria y energética. Los puntos trabajados en esta investigación se aprecian en la figura 5 y sus coordenadas UTM en la tabla 4.

Figura 5. Ubicación geográfica del río Chanchas- sector Pucará

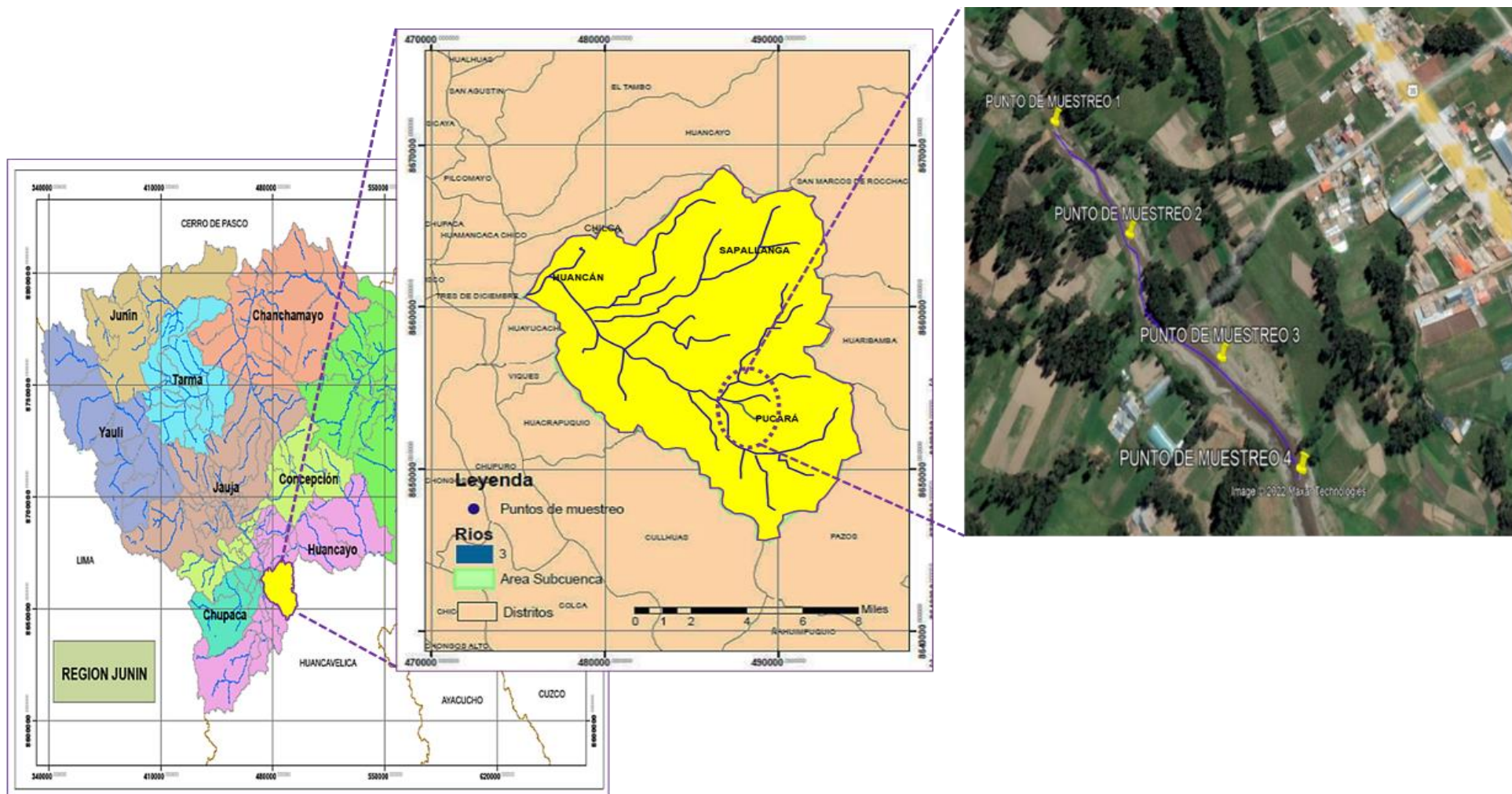


Tabla 4. Coordenadas UTM de los puntos biomonitoreados

PUNTOS DE MUESTREO (0.5 km)	Coordenadas UTM (Zona 18L)		Uso del agua
	COORDENADAS	COORDENADAS	
	ESTE	NORTE	
Punto de muestreo 1 (M1)	483281,26 m E	8655658,60 m S	
Punto de muestreo 2 (M2)	483367,00 m E	8655567,00 m S	Actividad agrícola
Punto de muestreo 3 (M3)	483454,00 m E	8655484,00 m S	
Punto de muestreo 4 (M4)	483519,00 m E	8655418,00 m S	

Cabe recalcar también que los Puntos M3 y M4 se encuentran dentro del centro Poblado de Asca Pucará cuya población corresponde a 634 habitantes que dependen específicamente de la actividad agrícola y no cuentan con un adecuado tratamiento de aguas residuales [40].

3.4.4.2. Obtención de muestras para la caracterización fisicoquímica y microbiológica de las aguas superficiales en los puntos muestreados

En esta fase se colectaron muestras in situ usando los procedimientos del Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales- RJ 010-2016-ANA (21), esto con el objeto de obtener información de la calidad de agua de los sectores analizados del río Chanchas. Estos datos obtenidos con el multiparámetro Hanna HI 9813, y el equipo portátil EZODO fueron comparados con los Estándares de Calidad Ambiental para Agua (ECA). También se procedió a remitir muestras de agua para su análisis específico en los laboratorios AMBIENTAL SAC. y RCJ UNIVERSAL, los métodos de referencia utilizados se visualizan en la tabla 5.

Tabla 5. Metodología de los ensayos de laboratorio

Ensayo	Método de Referencia	Descripción
Demanda Química de Oxígeno	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5210 B, 23ND Ed. 2017	Chemical Oxygen Demand (COD). Closed Reflux, Colorimetric Method
Demanda Bioquímica de Oxígeno	Smeww-APHA- AWWA-WER Part 5210 B, 23 nd Ed 2017	Biochemical Oxygen Demand (BOD). 5- Day BOD test
Oxígeno Disuelto	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500- OG, 23 nd Ed.2017	Membrane- Electrode Method
Turbidez	SWW-APHA- AWWA-WEF Part 2130 B, 23 nd Ed. 2017	Turbidity, Nephelometric Method
Coliformes Totales	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part- 9221 b, 23 nd ED. 2017	Multiple- Tube Fermentation Thchnique for Members of the Coliform Group. Standard Total Coliform Fermentation technique.
Coliformes Fecales	SMEWW-APHA -AWWA-WEF Part 9221 E-1, 23 nd. 2017	Multiple- Tube Fermentation Tehcniqe for Members of the Coliform Group. Fecal Coliform Procedure
Plomo (pb)	Absorción Atómica	Epectroscopia AA o AAS, por atomic absorption spectroscopy
Cobre (Cu)	Absorción Atómica	Epectroscopia AA o AAS, por atomic absorption spectroscopy
Arsénico	Absorción Atómica	Epectroscopia AA o AAS, por atomic absorption spectroscopy

Fuente: Elaboración propia- Referencia de AMBIENTAL SAC. y RCJ UNIVERSAL

Cabe señalar que el muestreo tomado de los puntos biomonitoreados es del tipo discreto simple puntual, es decir corresponde a porciones fijas de volúmenes de agua que se usaron para el contraste de la calidad

de agua de un punto en específico, estos estuvieron sujetos a repetibilidad según protocolo.

A continuación se describe el procedimiento efectuado para la toma de las muestras basados técnicamente en el Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales- RJ 010-2016-ANA [41]:

- a. Se ubicaron en el sector Chanchas-Pucará puntos de fácil acceso con implicancia agrícola, se usaron botas de jebe, y guantes con brazo mecánico para muestreo, la corriente de estos puntos es de características poco turbulentas y con tendencia homogénea. Se llenaron baldes con agua de muestra y se tomaron algunos parámetros descritos líneas arriba con los equipos de campo, los baldes para el llenado de los recipientes de los laboratorios fueron lavados hasta en tres oportunidades para luego ser drenados con el llenado de las muestras.
- b. Las muestras se preservaron en función al parámetro evaluado por el laboratorio, los recipientes se cerraron de forma hermética y fueron rotulados y transportados para el análisis de los laboratorios (uso de coolers para preservación de muestras).

3.4.4.3. Muestras de agua para los bioensayos de las especies de Brassica

Se llenaron recipientes con agua de los puntos biomonitoreados 2 L (4 botellas) para ser almacenadas y usadas posteriormente en los bioensayos trabajados con las diversas especies de *Brassica*. Estas muestras de agua para uso de bioensayos fueron custodiadas de forma hermética con uso de un cooler con capacidad de 20 L, el mismo que garantizó lo indicado en el protocolo de colección de muestras del ANA respecto a protección y bioseguridad.

3.4.4.4. Colecta de semillas de crucíferas para bioensayo

En esta fase de la investigación se procedió a coleccionar las semillas de la especie *Brassica* para los bioensayos controlados con muestras de agua del río Chanchas (4 puntos de monitoreo para el sector Pucará), y se adquirió semillas con elevados atributos de vigor, germinación y calidad que se presentan en la tabla 6.

Tabla 6. Atributos de las semillas a usar en los bioensayos

ESPECIE DE SEMILLA	NOMBRE COMÚN	PROVEEDOR	PUREZA	GERMINACIÓN
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	Col corazón de buey	ANAZAC-HORTUS	99,00%	86%
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis l.</i>	Coliflor Arequipeña	ANAZAC-HORTUS	99,90%	85%
<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>	Col China	BONANZA	99,90%	85%
<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i>	Mostaza de campo	INIA	99,00%	85%

Fuente: Elaboración propia

3.4.4.5. Prueba testigo - bioensayos

Para garantizar el medio de comparación con las muestras de agua del río Chanchas-sector Pucará, se realizó los bioensayos de prueba testigo con agua destilada y 4 réplicas por especie bioensayada. Esta prueba en blanco siguió los procedimientos de Sobero y Ronco para el germinado de semillas y desarrollo de plántulas en los días primeros de crecimiento [6]; se siguió con el mismo procedimiento de los bioensayos de germinación.

3.4.4.6. Bioensayos de germinación

Los procedimientos desarrollados estuvieron basados en los estándares de germinación de Sobero y Ronco (2008), los mismos que fueron

mejorados y actualizados por Rodríguez et. Al. (2014). Estos se describen a continuación [3]:

- Se trabajaron con 50 semillas por corrida experimental, bioensayadas en bandejas de germinación y en algodón hidrófilo por celda, estas fueron recubiertas con film de polietileno para garantizar su hermetismo y desecación.
- Se vertieron con aspersores controlados de 5 mL de agua sobre las semillas de crucíferas (*Brassica*), cabe recalcar que las muestras de agua provinieron de los cuatro puntos biomonitoreados del río Chanchas-sector Pucará.
- Se realizaron cuatro repeticiones por cada punto de monitoreo y especie de crucíferas (*Brassica*) trabajada.
- Todas las muestras del género *Brassica* fueron bioensayadas en una cámara de germinación bajo condiciones controladas, específicamente de 20°C - 22°C en completa oscuridad y por un tiempo de 5 días (120 h).

3.4.4.7. Toma de datos

- Posterior a los bioensayos se procedió a la cuantificación germinativa y desarrollo de radícula de las plántulas.
- s de relleno. Se registro los datos de numero de semillas germinadas y longitud promedio de la radícula tal como se muestra en el anexo 6.

3.4.4.8. Índices de germinación y toxicidad

Los indicadores de germinación se relacionan con los índices de toxicidad, los mismos que se determinaron con las siguientes fórmulas de la tabla 7.

Tabla 7. *Índices calculados de germinación y toxicidad*

Germinación relativa de las semillas (GRS)
--

GRS(%)

$$= \frac{\text{Número de semillas germinadas con la muestra de agua}}{\text{Número de semillas germinadas en la muestra testigo}} \times 100$$

Crecimiento relativo de radícula (CRR)

CRR(%)

$$= \frac{\text{Longitud promedio de la radícula con la muestra de agua}}{\text{Longitud promedio de la radícula en la muestra testigo}} \times 100$$

Índices de germinación

$$IG(\%) = \frac{GRS \times CRR}{100}$$

Índice de germinación normalizada

$$IGN = \frac{Germ_x - Germ_{Testigo}}{Germ_{Testigo}}$$

Índice de elongación radical residual normalizado

$$IER = \frac{Elong_x - Elong_{Testigo}}{Elong_{Testigo}}$$

Nota: $Germ_x$ corresponde al % promedio de las semillas germinadas con agua en cada punto de monitoreo, $Elong_x$ es la longitud promedio del crecimiento de la radícula de las semillas germinadas con agua en cada punto de monitoreo. Fuente: Elaboración propia

Los resultados obtenidos del GRS, CRR, índices de germinación, índice de germinación normalizada e índice de elongación radical residual normalizado fueron plasmados en la tabla del anexo 6.

3.4.4.9. Etapa de gabinete

- Se procesó la información obtenida de los reportes de laboratorios, y los parámetros del agua.
- Para la contratación se usó el software Minitab v18, con el fin de realizar el análisis de componentes principales comúnmente

llamado ACP, además se elaboraron la comparación múltiple de Tukey y el análisis de varianza ANOVA donde se procedió a trabajar con la interacción de las variables de puntos de muestreo y especies de crucíferas.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Evaluación de parámetros del río Chanchas

Se reportan los resultados de la calidad de agua superficial del río Chanchas analizados por laboratorios ambiental SAC y RCJ LABS universal en los cuatro puntos biomonitoreados. Estos datos cumplen el rol de contraste y respaldo a los indicadores ecotoxicológicos de los bioensayos.

Tabla 8. Resultados de los parámetros evaluados

PUNTO DE MUESTREO	ENSAYO	RESULTADO	UNIDAD
M1	pH	6,9	
	Conductividad	168,00	uS/cm
	Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	14,00	mg/L
	Demanda Química de Oxígeno (DQO)	23,00	O ₂ mg/L
	Turbidez	3,92	NTU
	Coliformes totales	5,0 x 10 ³	NMP/100 ml
	Coliformes fecales	2,0 x 10 ³	NMP/100 ml
	Cu	<0,001	mg/L
	Pb	<0,001	mg/L
	As	3,238	mg/L
M2	pH	6,9	
	Conductividad	172,00	uS/cm
	Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	12,00	mg/L
	Demanda Química de Oxígeno (DQO)	22,00	O ₂ mg/L
	Turbidez	3,36	NTU
	Coliformes totales	5,0 x 10 ³	NMP/100 ml
	Coliformes fecales	2,0 x 10 ³	NMP/100 ml
	Cu	<0,001	mg/L
	Pb	<0,001	mg/L
	As	3,225	mg/L
M3	pH	7,1	
	Conductividad	174,00	uS/cm
	Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	14,00	mg/L
	Demanda Química de Oxígeno (DQO)	25,00	O ₂ mg/L
	Turbidez	4,12	NTU
	Coliformes totales	5,0 x 10 ³	NMP/100 ml
	Coliformes fecales	2,0 x 10 ³	NMP/100 ml
	Cu	<0,001	mg/L
	Pb	<0,001	mg/L
	As	3,786	mg/L
M4	pH	7,0	
	Conductividad	168,00	uS/cm
	Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	18,00	mg/L
	Demanda Química de Oxígeno (DQO)	32,00	O ₂ mg/L

Turbidez	6,00	NTU
Coliformes totales	$6,0 \times 10^3$	NMP/100 ml
Coliformes fecales	$4,0 \times 10^3$	NMP/100 ml
Cu	<0,001	mg/L
Pb	<0,001	mg/L
As	2,481	mg/L

Fuente: Ambiental Laboratorios S.A.C y RCJ Labs. Universal

En la tabla 8 se muestran los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos analizados, los mismos que a su vez son el resultado de fuentes de contaminación puntuales en los puntos de muestreo estudiados. De los parámetros encargados de verificar la presencia o ausencia de materia orgánica, se puede observar que el parámetro de DBO presente en el agua muestreada en M4 (18 mg/L) supera el límite establecido por el ECA – Categoría 3 (15 mg/L) indicando presencia de carga orgánica que pudiera ocasionar potenciales efectos ecotoxicológicos y eutrofización en el sector analizado.

En la investigación se puede observar que en todos los sectores analizados (M1, M2, M3 y M4) de las aguas del río Chanchas sector Pucará, los valores reportados en cuanto a Coliformes Fecales superan ampliamente el ECA impuesto (<1000 NMP/00 mL), llegando incluso a valores muy preocupantes en el punto M4 (6000 NMP/100 mL). Estos valores reportados generan un riesgo potencial real que indicarían el vertimiento de aguas servidas irresponsables en el sector analizado, lo cual estaría poniendo en peligro la salud de los productores y consumidores de los productos agrícolas y hortícolas de la zona (Infecciones gastrointestinales).

En cuanto a las concentraciones de metales presentes en las aguas del río Chanchas- sector Pucará, se logra apreciar la presencia mínima de Pb y Cu, sin embargo, el As se si presenta en grandes cantidades, el mismo que supera ampliamente los niveles límites impuesta por el ECA para aguas para riego y uso agrícola (0,1 mg/L). Se debe recordar que este metal es una amenaza a nuestro medio debido a que todos los valores altos reportados en la tabla 8 comprometen preocupantemente la seguridad alimentaria y la salud pública, por lo que estaría bioacumulándose en los terrenos de cultivo que se sirven del riego en las zonas del punto M4 río Chanchas. La Unión Europea (UE) a través de varios estudios describe la movilidad del arsénico en sistemas agrícolas regados con aguas contaminadas, señala que este metal se acumula

en las raíces de las plantas como primera instancia de su movilidad y posteriormente se transporta mediante mecanismos internos y fisiológicos de las plantas a sus hojas, semillas y frutos [43]; por todo esto se es necesario recomendar una alerta ambiental para ampliar la brecha investigativa de estos estudios y evitar que los productos agrícolas en especial las hortalizas de la zona en estudio generen un peligro de toxicidad a sus potenciales consumidores.

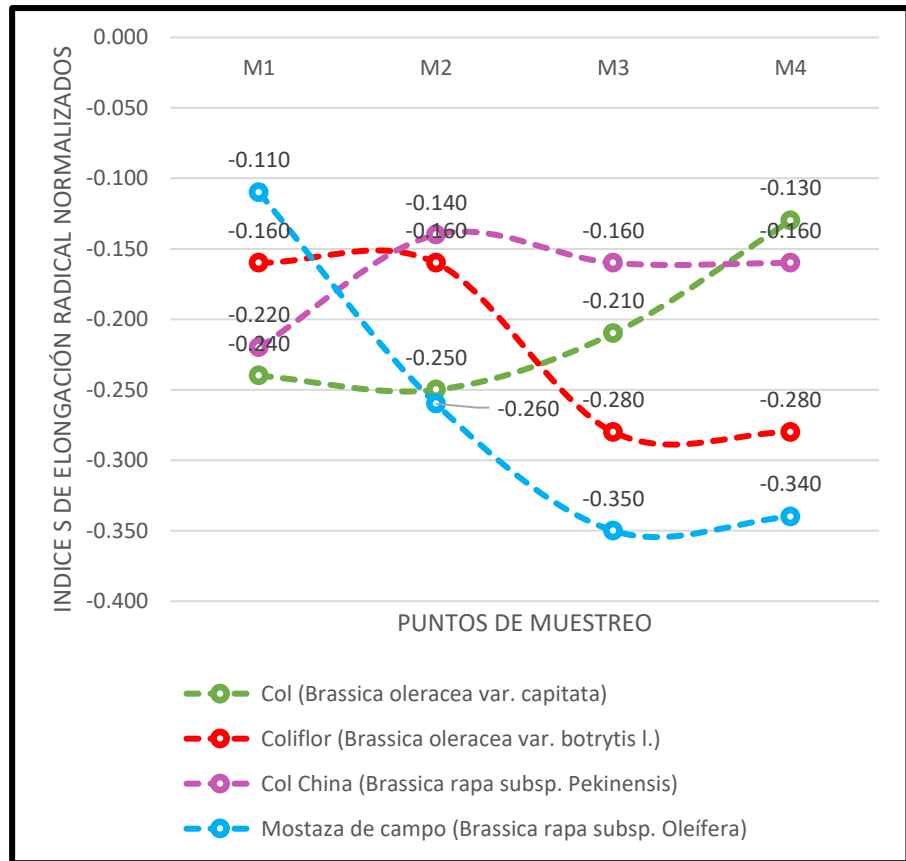
4.1.2. Zona y especie con mayor toxicidad y resistencia

Para poder identificar el nivel de los efectos negativos tóxicos de las aguas del río Chanchas sector Pucará por sobre el desarrollo de las especies y variedades de Brassicas bioensayadas, es necesario analizar los índices de toxicidad normalizados (IER, IGN), los cuales permiten evaluar el grado de nocividad de las aguas en relación a intervalos definidos de toxicidad. Estos se reportan a continuación.

4.1.2.1. Índices de Elongación Radical Normalizados de los bioensayos (EIR)

Este bioindicador mostró el nivel de toxicidad de las muestras de agua en relación al desarrollo radical de las muestras bioensayadas. Los valores negativos reportados nos indican que hubo inhibición radical por parte de las variedades trabajadas; estas inhibiciones pueden ser significativas o no, dependiendo del intervalo de contaminación definido para la bioindicación.

Figura 6. Comparativa de los EIR de las variedades trabajadas



- Resistencia de las especies crucíferas a la toxicidad de las aguas del río Chanchas - sector Pucará según EIR

En la figura 6, se muestran los valores obtenidos para todas las variedades trabajadas, observándose que todas estas se vieron afectadas por la toxicidad de las aguas bioensayadas; siendo las variedades bioensayadas: *Brassica oleracea var. botrytis l.* - coliflor ($M3 = -0,2880$ y $M4 = -0,2880$) y la *Brassica rapa subsp. Oleífera* - mostaza de campo ($M3=-0,350$ y $M4=-0,340$) las que mostraron respuestas susceptibles a la contaminación siendo las más perjudicadas en cuanto a la elongación radical.

- Punto biomonitoreado de las aguas del río Chanchas - sector Pucará con mayor toxicidad según EIR

En cuanto a la identificación de las zonas con mayor contaminación ambiental en la figura 7, los puntos M1 y M2 mostraron valores de toxicidad por debajo del rango medio de toxicidad (<-0.25), mientras que para los puntos M3 y M4 aguas arribas del río Chanchas mostraron valores medios de toxicidad, la toxicidad

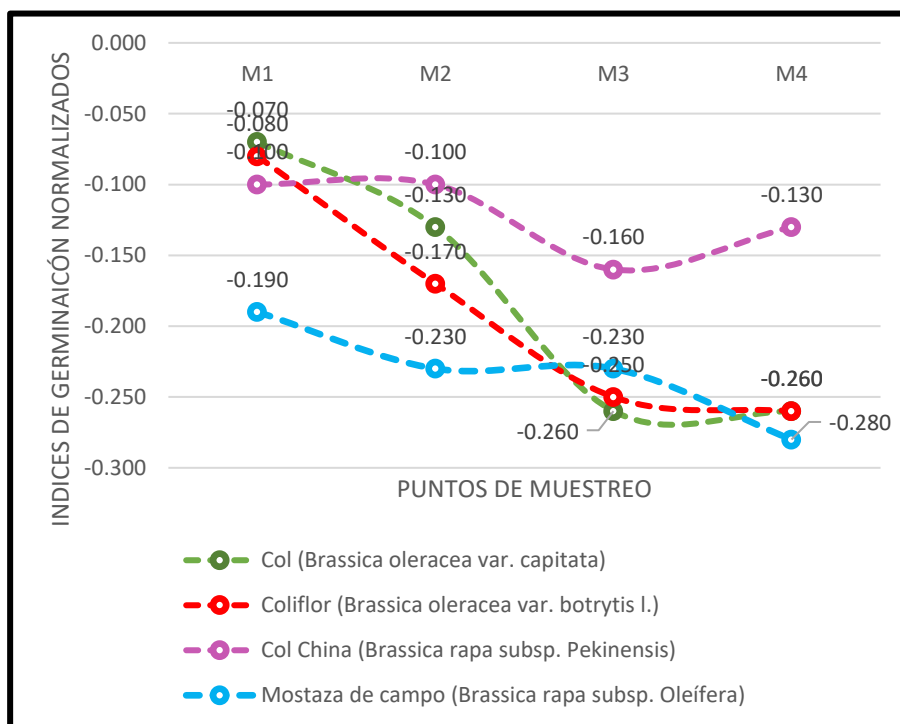
media mostrada en los puntos M3 y M4 permite instaurar una alerta ambiental que debe ser gestionada por su nivel medio de contaminación en las zonas del río Chanchas – sector Pucará.

Las comparaciones de los EIR determinados en la investigación, para las 4 variedades de *Brassicas* bioensayadas se visualizan en la figura 7, así como también las implicancias de los niveles de toxicidad en cada uno de los puntos monitoreados.

4.1.2.2. Índices de Germinación Normalizados de los bioensayos (IGN)

El índice de germinación normalizado determinado en nuestra investigación es un bioindicador trascendental y de orden exacto que proviene del cálculo comparativo estricto de la germinación de los bioensayos con *Brassicas* y los germinados de las muestras testigo. En nuestra investigación se utiliza como un indicador gradiente de contaminación para las aguas del río Chanchas-Sector Pucará. El IGN a diferencia del IG nos muestra parámetros estrictos de toxicidad cualificándose de niveles bajos, medios, muy tóxicos y elevados niveles contaminantes, estos también incluyen el desarrollo de plántulas por hormesis [44].

Figura 7. Comparativa de los IGN de las variedades trabajadas



Los valores de IGN calculados en nuestra investigación se visualizan en la figura 7, estos resultados graficados nos ayudan a diferenciar significativamente los comportamientos de las diferentes variedades de las especies *Brassicas* trabajadas.

- Resistencia de las especies crucíferas a la toxicidad de las aguas del río Chanchas - sector Pucará según IGN

En la figura 8, se muestra que los IGN de los puntos M3 y M4 reportados para las especies col (*Brassica oleracea var. capitata*) y coliflor (*Brassica oleracea var. botrytis L.*) bioindican gradientes de toxicidad media y sólo la mostaza de campo (*Brassica rapa subsp. Oleífera*) identifica toxicidad media alta ($< - 2,5$) específicamente para el punto de monitoreo M4 (-0,280).

- Punto biomonitoreado de las aguas del río Chanchas - sector Pucará con mayor toxicidad según IGN

En la figura 8 se muestra que los puntos M1 y M2 aguas abajo del río Chanchas-sector Pucará, presentan valores de IGN de baja toxicidad ($> -2,5$), mostrando implícitamente la ausencia de sustancias fitotóxicas que inhiban el desarrollo germinativo de las plántulas. Cabe recalcar que las zonas M1 y M2 presentan poca actividad antrópica de los barrios aledaños, ya que las actividades agrícolas de siembras hortícolas priman por sobre la alta afluencia de poblaciones urbanas en los puntos M3 y M4.

4.1.3. Resultados de toxicidad en los bioensayos ambientales

En esta parte de la investigación se muestran los resultados obtenidos de una serie de pruebas de toxicidad realizadas para las especies de *Brassicas* teniendo como referencia a Sobrero [6], bajo la norma IRAM 29114 [27], estos bioensayos identificaron mediante bioindicadores los niveles de afectación y toxicidad de las muestras respecto a las aguas del río Chanchas-sector Pucará. Estas pruebas desarrolladas fueron de orden estático por estar expuestas a un estrés de las aguas e inducidas artificialmente por 5 días de tratamientos bioensayados; en este tiempo se evaluaron los efectos de la posible toxicidad de las aguas en el crecimiento y desarrollo de la germinación de las semillas de dos especies de *Brassicas* (*Brassica oleracea*

y *Brassica rapa*). Dentro de estos bioensayos se evaluaron respuestas biológicas de dos variedades de *Brassicaceae* a las aguas analizadas (*Brassica oleracea* var. *capitata*, *Brassica oleracea* var. *botrytis* L y *Brassica rapa* subsp. *Pekinensis* *Brassica rapa* subsp. *Oleifera*) cuyos nombres comunes hortícolas son la col, coliflor, col china y mostaza de campo respectivamente. Se obtuvieron 4000 datos del crecimiento radicular y del desarrollo germinativo (ver anexos), obtenidos de cuatro repeticiones por tratamiento y con bandejas de germinación de hasta 50 celdas, las mismas que mantuvieron independencia germinativa para las variedades trabajadas. Los datos arrojados fueron tratados con estadística descriptiva, responsables de analizar su variabilidad y tendencia normal. Con estos resultados se calcularon los indicadores de respuestas biológicas de fitotoxicidad (GRS, CRR, IG) y los índices de toxicidad de las aguas normalizados (IGN, EIR). Estos valores se muestran en la tabla 9, la misma que muestra la variabilidad de los bioindicadores.

Cabe señalar también que los resultados obtenidos con las especies de *Brassicaceae* trabajadas tienen relevancia de diagnóstico ecotoxicológico capaz de indicar con alto grado de certitud un posible riesgo ambiental y el impacto que generarían sobre los sistemas agrícolas reales y por sobre otras especies cultivadas que se verían afectadas por el desequilibrio ecológico ambiental de la toxicidad de las aguas del río Chanchas- sector Pucará.

Tabla 9. Índices de respuesta biológica y toxicidad

PUNTOS DE MUESTREO	ESPECIE	GRS	CRR	IG	IGN	EIR
M1	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	95,349	76,833	73,259	-0,047	-0,232
M1	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	93,478	68,742	64,259	-0,065	-0,313
M1	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	91,111	75,534	68,820	-0,089	-0,245
M1	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	90,698	81,179	73,628	-0,093	-0,188
M1	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	97,619	83,717	81,724	-0,024	-0,163
M1	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	85,714	76,732	65,771	-0,143	-0,233
M1	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	95,455	90,293	86,188	-0,045	-0,097
M1	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	89,583	83,377	74,692	-0,104	-0,166
M1	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	90,476	67,116	60,724	-0,095	-0,329

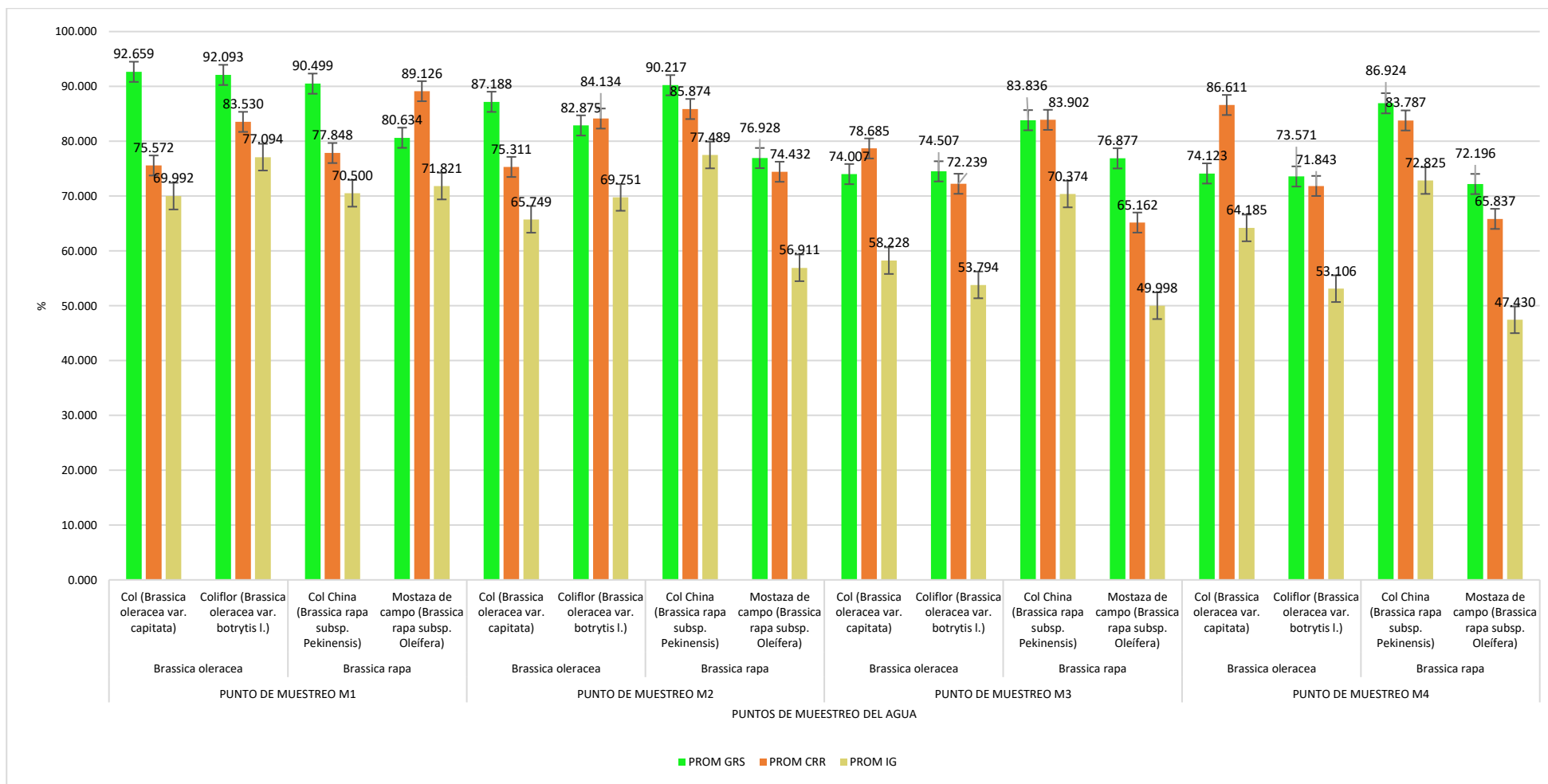
M1	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	90,909	71,949	65,408	-0,091	-0,281
M1	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	87,755	81,321	71,364	-0,122	-0,187
M1	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	92,857	91,006	84,505	-0,071	-0,090
M1	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i>)	72,500	92,577	67,119	-0,275	-0,074
M1	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i>)	79,545	85,333	67,879	-0,205	-0,147
M1	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i>)	86,047	92,031	79,189	-0,140	-0,080
M1	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i>)	84,444	86,562	73,096	-0,156	-0,134
M2	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	95,349	69,034	65,823	-0,047	-0,310
M2	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	78,261	67,209	52,598	-0,217	-0,328
M2	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	84,444	81,165	68,539	-0,156	-0,188
M2	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	90,698	83,836	76,037	-0,093	-0,162
M2	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	95,238	84,121	80,115	-0,048	-0,159
M2	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	77,551	78,917	61,201	-0,224	-0,211
M2	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	79,545	88,969	70,771	-0,205	-0,110
M2	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	79,167	84,530	66,919	-0,208	-0,155
M2	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	95,238	81,072	77,212	-0,048	-0,189
M2	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	93,182	79,605	74,178	-0,068	-0,204
M2	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	79,592	84,379	67,159	-0,204	-0,156
M2	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	92,857	98,438	91,406	-0,071	-0,016
M2	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i>)	60,000	77,966	46,780	-0,400	-0,220
M2	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i>)	75,000	78,384	58,788	-0,250	-0,216
M2	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i>)	86,047	72,557	62,432	-0,140	-0,274
M2	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i>)	86,667	68,821	59,645	-0,133	-0,312
M3	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	74,419	88,662	65,981	-0,256	-0,113
M3	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	71,739	84,096	60,330	-0,283	-0,159
M3	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	77,778	74,579	58,006	-0,222	-0,254
M3	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	72,093	67,405	48,594	-0,279	-0,326
M3	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	83,333	78,069	65,057	-0,167	-0,219
M3	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	67,347	68,255	45,968	-0,327	-0,317
M3	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	68,182	79,772	54,390	-0,318	-0,202

M3	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	79,167	62,859	49,763	-0,208	-0,371
M3	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	88,095	89,776	79,088	-0,119	-0,102
M3	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	86,364	81,800	70,646	-0,136	-0,182
M3	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	77,551	85,281	66,136	-0,224	-0,147
M3	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	83,333	78,750	65,625	-0,167	-0,213
M3	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleífera</i>)	80,000	55,508	44,407	-0,200	-0,445
M3	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleífera</i>)	75,000	67,879	50,909	-0,250	-0,321
M3	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleífera</i>)	81,395	68,734	55,946	-0,186	-0,313
M3	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleífera</i>)	71,111	68,528	48,731	-0,289	-0,315
M4	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	79,070	88,049	69,620	-0,209	-0,120
M4	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	69,565	83,080	57,795	-0,304	-0,169
M4	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	71,111	92,631	65,871	-0,289	-0,074
M4	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	76,744	82,682	63,454	-0,233	-0,173
M4	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	83,333	77,241	64,368	-0,167	-0,228
M4	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	65,306	65,997	43,100	-0,347	-0,340
M4	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	72,727	74,197	53,961	-0,273	-0,258
M4	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	72,917	69,936	50,995	-0,271	-0,301
M4	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	90,476	89,043	80,563	-0,095	-0,110
M4	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	84,091	78,652	66,139	-0,159	-0,213
M4	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	89,796	78,233	70,250	-0,102	-0,218
M4	Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)	83,333	89,219	74,349	-0,167	-0,108
M4	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleífera</i>)	77,500	56,993	44,169	-0,225	-0,430
M4	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleífera</i>)	68,182	63,556	43,333	-0,318	-0,364
M4	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleífera</i>)	69,767	70,117	48,919	-0,302	-0,299
M4	Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleífera</i>)	73,333	72,681	53,299	-0,267	-0,273

Fuente: Elaboración propia

A continuación, se observa los datos de la tabla 8 distribuidos gráficamente estos datos se encuentran expresados en porcentaje.

Figura 8. Comparativa de las respuestas biológicas



La GRS vista en la gráfica 8 nos indica la germinación de las semillas bioensayadas con las muestras de agua del río Chanchas, se expresa en porcentaje y dependen de la cuantificación de “ceros” en los tratamientos verificados de la germinación. El último indicador fitotóxico de la nocividad de las aguas analizadas en nuestra investigación es el IG, el cual depende del producto de los dos indicadores anteriores GRS Y CRR y nos señala inherentemente la toxicidad de los tratamientos y bioindica las posibles sustancias fitotóxicas capaces de promover o inhibir la germinación de nuestras especies de *Brassicas* trabajadas.

Los resultados vistos en la figura 8 muestran que los menores valores promedio de CRR, GRS e IG proceden de las muestras de aguas río arriba, específicamente para M3 y M4. Siendo la especie *Brassica rapa subsp. Oleífera* comúnmente llamada mostaza de campo aquella que presenta menores valores de GRS, es decir es la variedad que menos cantidad de semillas germinadas presentó en los bioensayos trabajados, esta especie es la más susceptible e influenciada por la toxicidad de las aguas del río Chanchas; los valores de GRS obtenidos lo demuestran; presentando para M3 un valor de 76,877 % y para M4 un valor de 72,196 % los mismos que se encuentran por debajo de los valores correspondientes a los puntos aguas abajo M1 Y M2 respectivamente.

En cuanto al CRR, de la figura 8 se aprecia que la especie *Brassica oleracea var. botrytis l.* comúnmente llamada coliflor, presentó los segundos valores más bajos de CRR después de la mostaza de campo, siendo estos de 72,239 % (M3) y de 71,843% (M4). Esto nos permite concluir que es la segunda variedad más afectada e influencia su desarrollo de radícula en cuanto al nivel de toxicidad de los bioensayos trabajados.

Finalmente, en cuanto al IG se aprecia que el punto M4 muestra los valores más bajos para la *Brassica rapa subsp. Oleífera* (47,430%) y *Brassica oleracea var. botrytis l.* (53,106%) en comparación de los demás puntos, indicando influencia superlativa de sustancias fitotóxicas contenidas que inhiben su germinación y desarrollo de las especies.

4.2. Prueba de hipótesis

Para realizar la prueba de hipótesis se usó el software IBM SPSS, donde se ejecutó análisis de componentes principales comúnmente llamado ACP, además de la comparación múltiple de Tukey y el análisis de varianza ANOVA donde se trabajó con la interacción de las variables de puntos de muestreo y especies de crucíferas.

4.2.1. Primera hipótesis específica

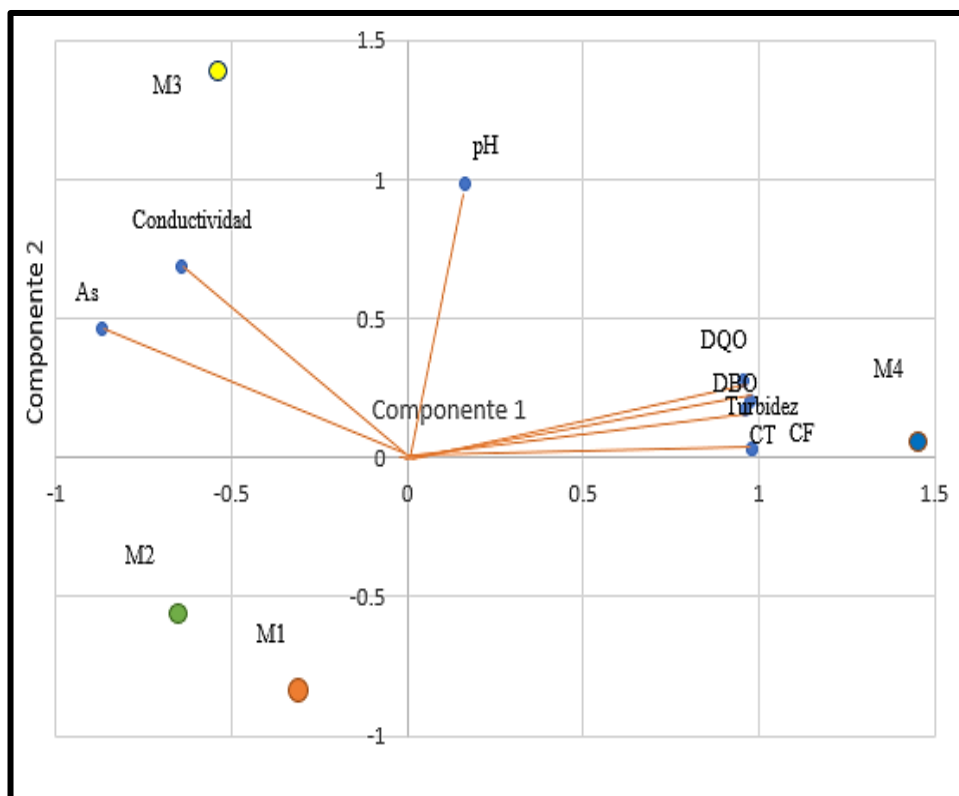
Se utilizó el análisis de componentes principales comúnmente llamado ACP, para lo cual se determinó la cantidad de dos componentes, en el que el ACP1 identifica el 74,301 % de la varianza acumulada y el ACP2 EL 96,499% de la varianza aplicada. Para lo cual se había planteado la primera hipótesis específica de investigación (H1) y su respectiva hipótesis nula (H0).

H1: La calidad del agua del río Chanchas no es significativamente buena.

Ho: La calidad del agua del río Chanchas es significativamente buena.

ACP de parámetros del agua analizados

Figura 9. Análisis de Componentes principales para parámetros



Del análisis gráfico mostrado en la figura 9 se aprecia claramente que los parámetros de DQO, DBO, turbidez, coliformes fecales y coliformes totales se asocian de forma positiva con el punto de monitoreo M4, indicando que

este punto mantiene elevados valores de los parámetros con tendencia a la contaminación. Para los puntos M1 y M2 aguas abajo, se aprecia que estos tienen asociación negativa en cuanto a los parámetros indicadores de sustancias nocivas y toxicidad, demostrando que son los puntos con menor afectación ambiental. Por último, para el punto M3 se puede concluir que tiene gran afinidad con los niveles elevados de la conductividad y las concentraciones preocupantes y nocivas de arsénico. En resumen, se valida la primera hipótesis específica de la investigación (H1) y se rechaza la hipótesis nula (H₀), por lo tanto, la calidad del agua del río Chanchas no es significativamente buena.

4.2.2. Segunda y tercera hipótesis específica

Para la contratación de segunda y tercera hipótesis específica se utilizó la prueba de Tukey, para lo cual se plantea las hipótesis específicas de investigación (H2 y H3) con sus respectivas hipótesis nulas (H₀):

H2: Los puntos biomonitoreados presentan significativamente toxicidad en las aguas del río Chanchas.

H₀: Los puntos biomonitoreados no presentan significativamente toxicidad en las aguas del río Chanchas.

H3: Las especies crucíferas presentan significativamente resistencia a la toxicidad de las aguas del río Chanchas.

H₀: Las especies crucíferas no presentan significativamente resistencia a la toxicidad de las aguas del río Chanchas.

Prueba de Tukey

Tabla 10. Comparación múltiple de Tukey para indicadores de toxicidad

PUNTOS DE MUESTREO* ESPECIE	N	MEDIA	AGRUPACIÓN	
EIR				
M1 Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,108742	A	
M4 Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>) (<i>Brassica oleracea</i>)	4	-0,133895	A	B
M2 Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,141263	A	B
M2 Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L. (<i>Brassica oleracea</i>))	4	-0,158659	A	B

M3 Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,160982	A	B	
M4 Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,162133	A	B	
M1 Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L. (<i>Brassica oleracea</i>))	4	-0,164701	A	B	
M3 Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>) (<i>Brassica oleracea</i>)	4	-0,213146	A	B	C
M1 Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,221521	A	B	C
M1 Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>) (<i>Brassica oleracea</i>)	4	-0,244278	A	B	C
M2 Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>) (<i>Brassica oleracea</i>)	4	-0,246891	A	B	C
M2 Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,255682	A	B	C
M3 Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L. (<i>Brassica oleracea</i>))	4	-0,277614	A	B	C
M4 Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L. (<i>Brassica oleracea</i>))	4	-0,281570		B	C
M4 Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,341633			C
M3 Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,348378			C

IG

M1 Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Capitata</i> , (<i>Brassica oleracea</i>))	4	-0,073410	A		
M1 Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L. (<i>Brassica oleracea</i>))	4	-0,079072	A		
M1 Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,095006	A		
M2 Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>)(<i>Brassica rapa</i>)	4	-0,097828	A	B	
M2 Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>) (<i>Brassica oleracea</i>)	4	-0,128120	A	B	C
M4 Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,130759	A	B	C
M3 Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,161642	A	B	C
M2 Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L. (<i>Brassica oleracea</i>))	4	-0,171247	A	B	C
M1 Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,193659	A	B	C
M2 Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,230717	A	B	C
M3 Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,231234	A	B	C

M3 Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L. (<i>Brassica oleracea</i>))	4	-0,254928	B	C
M4 Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>) (<i>Brassica oleracea</i>)	4	-0,250774		C
M3 Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>) (<i>Brassica oleracea</i>)	4	-0,259929		C
M4 Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L. (<i>Brassica oleracea</i>))	4	-0,264292		C
M4 Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleífera</i> (<i>Brassica rapa</i>))	4	-0,278044		C

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 10 se visualiza la comparación media de Tukey de los EIR determinados; con el objetivo de identificar también la especie(s) y/o variedad(s) más afectada(s) respecto a su desarrollo radical consecuencia de los compuestos tóxicos de las aguas del sector analizado. Se trabajó a un 95% de nivel de confianza a través de las medias de EIR, con los puntos muestreados y variedades anidadas a las especies. Los resultados demuestran que todas las especies sufren afectación por las aguas del río Chanchas. Asimismo, la *Brassica rapa* subsp. *Oleífera* (mostaza de campo) fue la especie con mayor afectación por nocividad de las aguas y sus componentes fitotóxicos contenidos; mostrando que tanto para los puntos M2, M3 y M4 bio indican toxicidades medias preocupantes, convirtiéndola de esta forma en la mejor especie centinela de las trabajadas. Es importante mencionar también que la *Brassica oleracea* var. *botrytis* L. (coliflor) respalda los resultados de la mostaza de campo, indicando niveles de toxicidad media por debajo del umbral límite ($< -0,25$).

La prueba de Tukey para los IGN al 95% de confiabilidad vista en la tabla 9 muestra estas diferencias comparativas identificando con real significancia que la mostaza de campo (*Brassica rapa* subsp. *Oleífera*) es la especie centinela con mayor relevancia en nuestra investigación para alertar la presencia de contaminación en las aguas del río Chanchas-sector Pucará. La investigación la mostaza de campo (*Brassica rapa* subsp. *Oleífera*) y la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) mostraron afectaciones y sensibilidades en cuanto al estrés ecotoxicológico impuesto en los bioensayos, mostrando IGN por debajo de -1,25 que indican presencia fitotóxica significativa media de compuestos dañinos para M3 y M4.

En consecuencia, se acepta la segunda y tercera hipótesis de investigación (H2 y H3) y se rechazan las hipótesis nulas respectivas (Ho), por lo tanto, los puntos biomonitoreados presentan significativamente toxicidad en las aguas del río Chanchas y las especies crucíferas presentan significativamente resistencia a la toxicidad de las aguas del río Chanchas.

4.2.3. Hipótesis general

Primeramente, se realizó la prueba de normalidad por el método Anderson Darling (AD), con el fin de comprobar estadísticamente si los datos se distribuyen normalmente; para lo cual planteamos las siguientes hipótesis.

H₀: Los datos siguen una distribución normal

H_a: Los datos no siguen una distribución normal

Figura 10. Descriptivo de la respuesta del índice de germinación

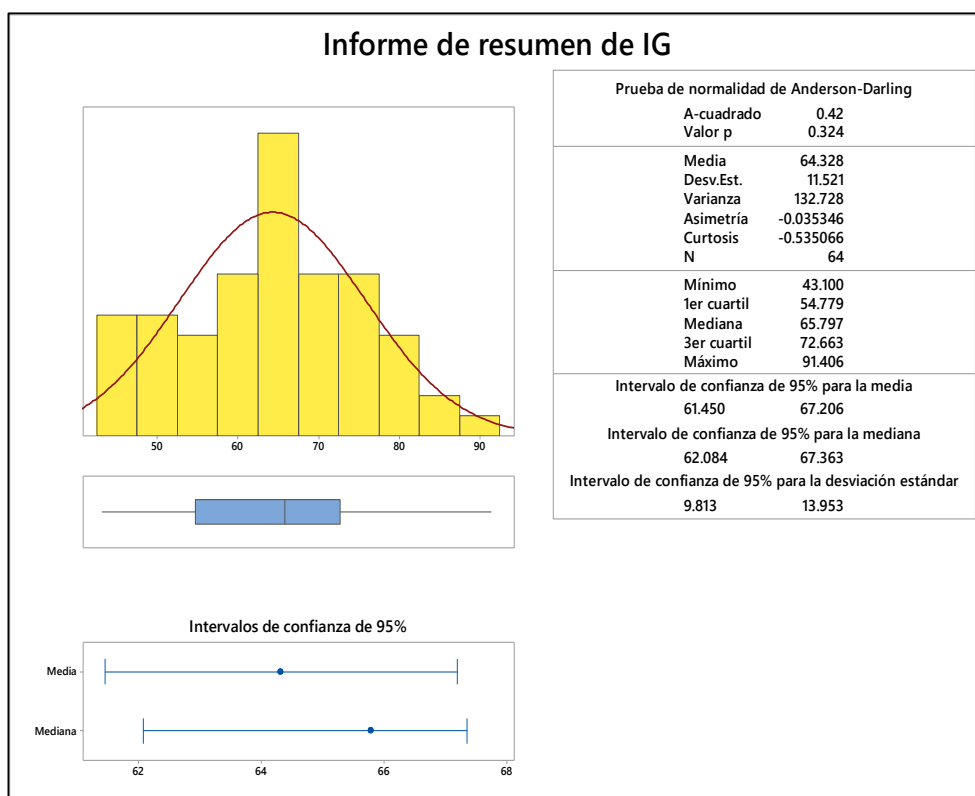


Figura 11. Descriptivo de la respuesta del crecimiento relativo de radícula

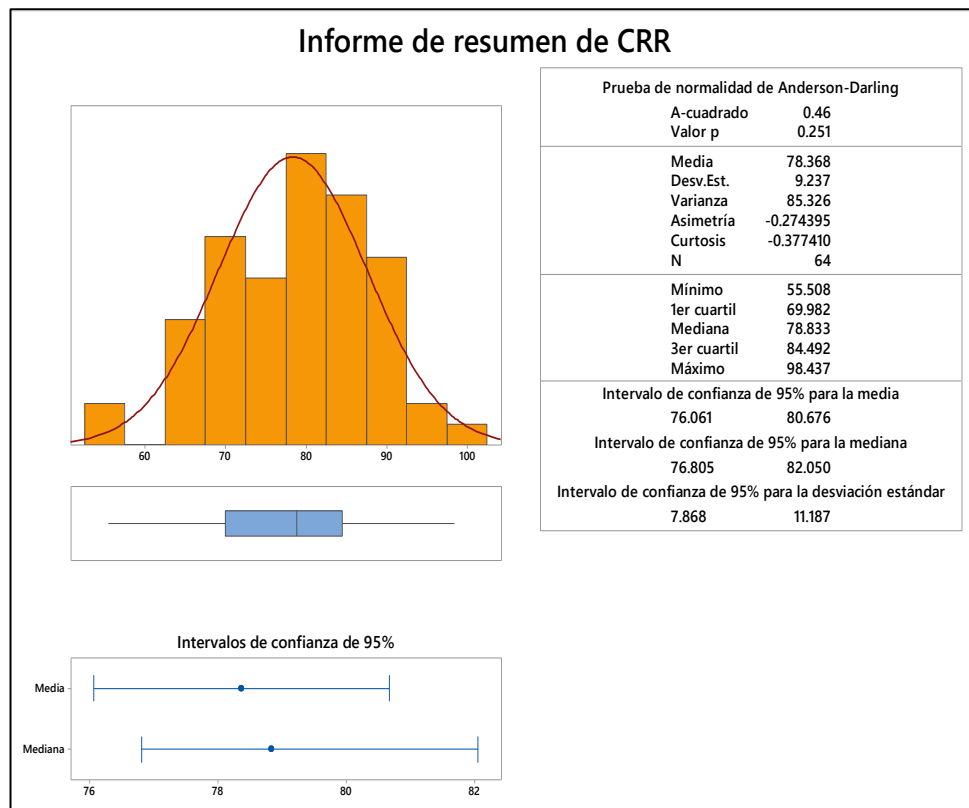


Figura 12. Descriptivo de la respuesta de la germinación relativa de radícula

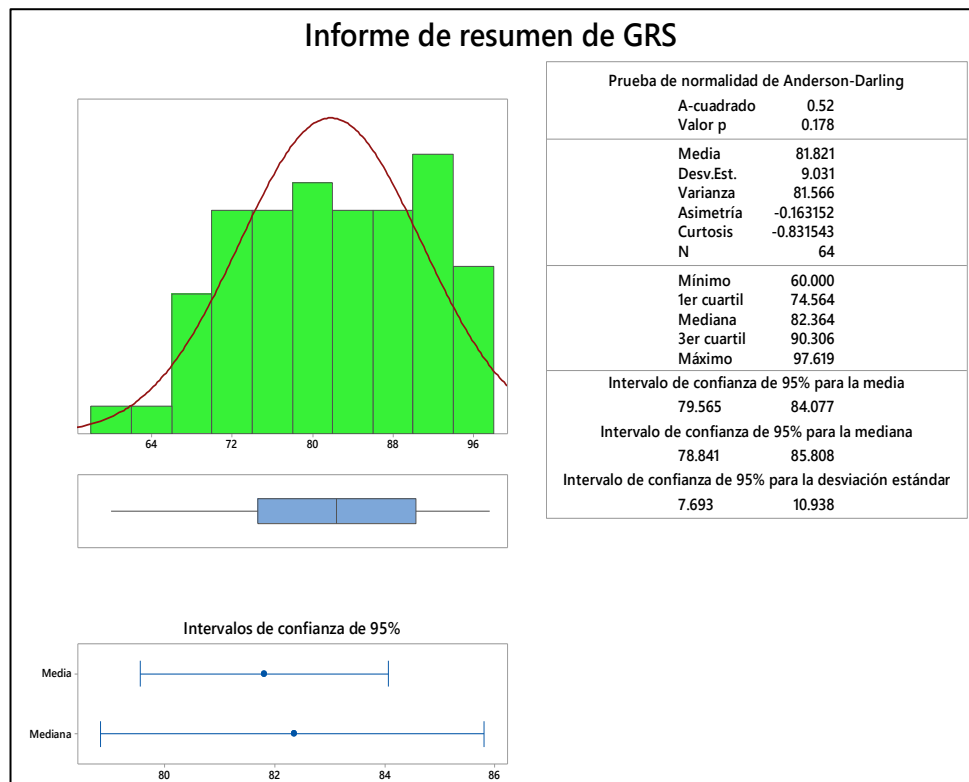


Figura 13. Descriptivos de la respuesta del índice de elongación del radical

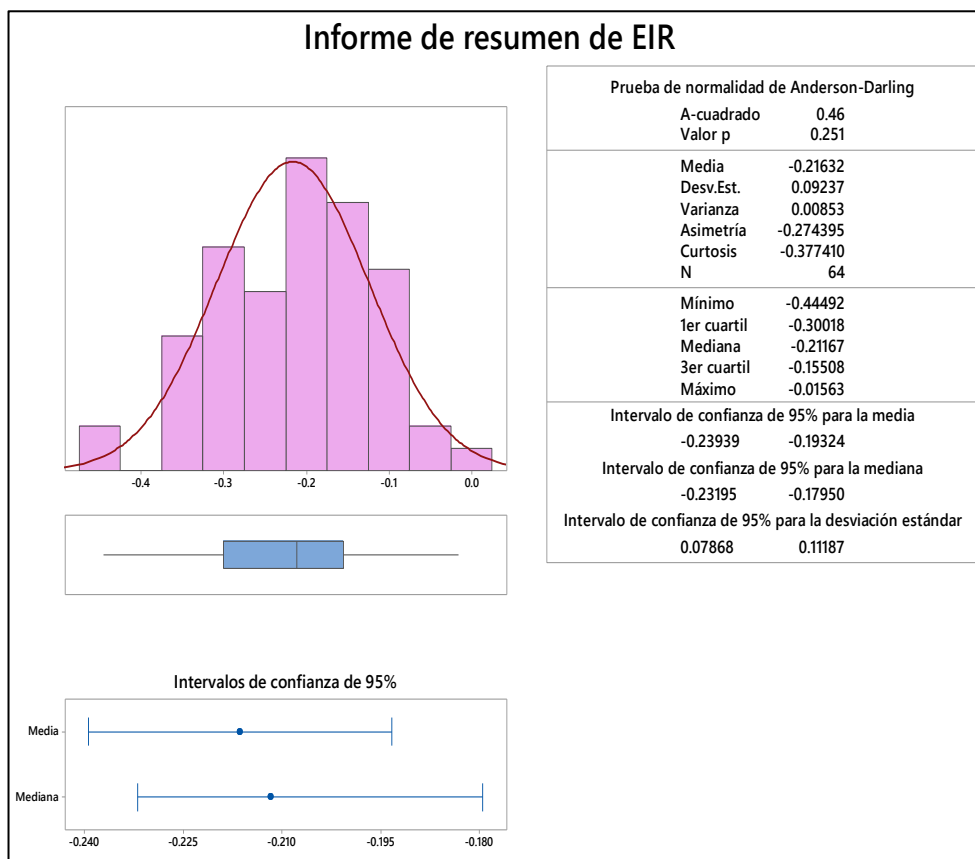


Figura 14. Descriptivos de la respuesta del índice de % de germinación normalizada

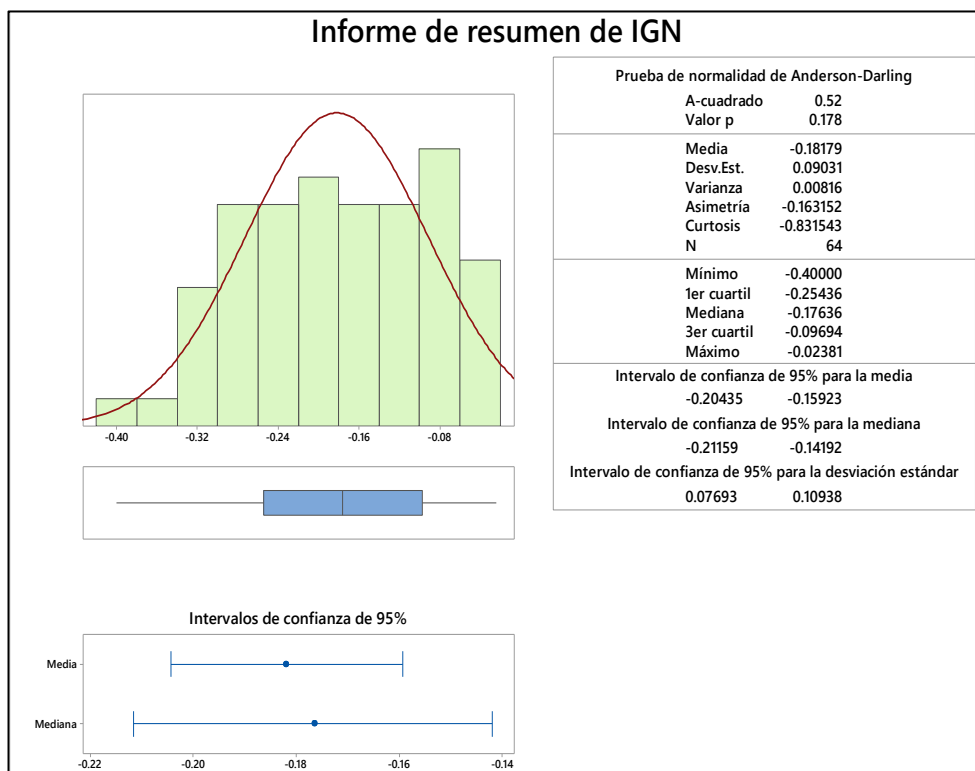
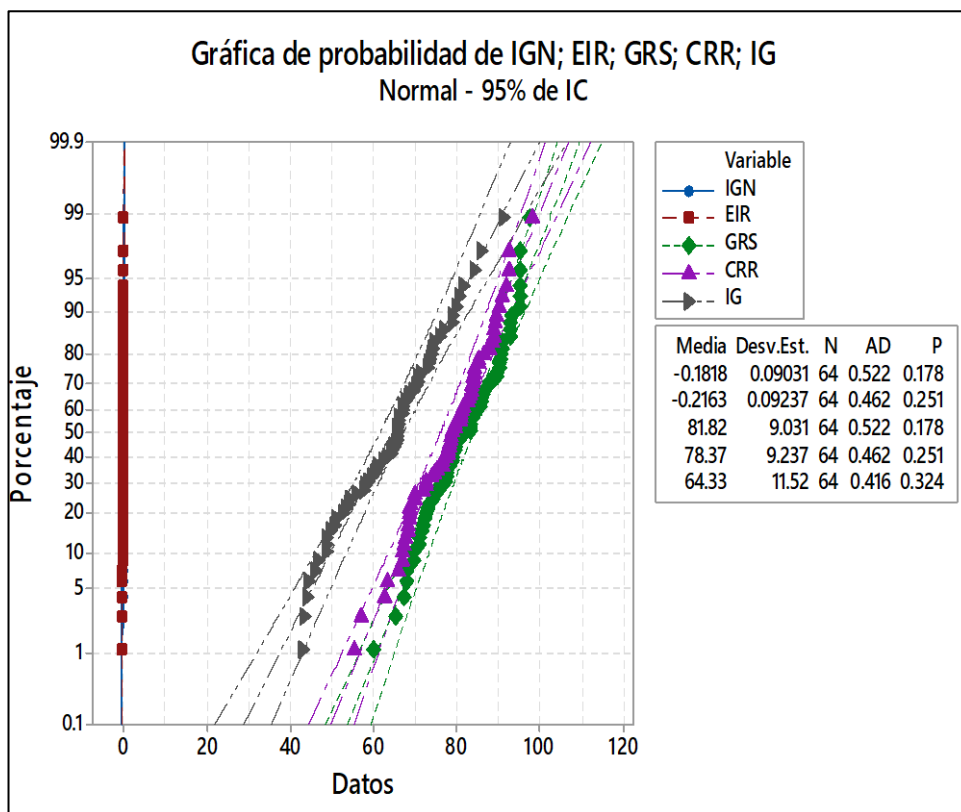


Figura 15. Descriptivos de las respuestas biológicas obtenidas



Se determinaron estadísticos para el análisis de los datos obtenidos, y de forma relevante la prueba de normalidad por el método Anderson Darling (AD) a un 5% de error que los datos de los bioensayos mostraron que el valor de p para el IG, CRR, GRS, EIR e IGN fueron 0,324; 0,251; 0,178; 0,251 y 0,178 respectivamente, observando que el valor de p en su totalidad es mayor a 0,05; por lo que estadísticamente, se acepta la hipótesis nula, lo que significa que los datos siguen una distribución normal, por lo que nos permite inferir sobre la aplicabilidad de un análisis paramétrico siendo este el análisis de varianza ANOVA y su relación con las significancias de las especies de Brassicas y su sensibilidad a la toxicidad probada.

Para la contratación de la hipótesis general se plantea la hipótesis general de investigación (H_a) y su respectiva hipótesis nula (H_0):

H_a : El agua del río Chanchas es significativamente tóxica al ser evaluada mediante bioensayos con especies crucíferas.

H_0 : El agua del río Chanchas no es significativamente tóxica al ser evaluada mediante bioensayos con especies crucíferas.

Tabla 11. Factores y niveles trabajados en el Anova anidado

FACTOR	TIPO	NIVELES	VALORES
PUNTOS DE MUESTREO	Fijo	4	M1, M2, M3, M4
ESPECIE	Fijo	2	<i>Brassica oleracea</i> ; <i>Brassica rapa</i>
VARIEDAD(ESPECIE)	Fijo	4	Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>) Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.) Col China (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Pekinensis</i>) Mostaza de campo (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Oleifera</i>)

Fuente: Elaboración propia

Las características trabajadas en el ANOVA, se muestran en la tabla 10. El modelo Anova respaldado por nuestras pruebas de normalidad consistió en la anidación de los factores especie-variedad, los mismos que se encargaron de ejecutar el siguiente modelo lineal: $Y_{ij} = u + P + E + Y_{V(E)} + PE + PY_{V(E)} + \varepsilon$. Donde Y_{ij} corresponde a los análisis de toxicidad, u es la media total, $Y_{V(E)}$ es el efecto de los bioensayos cuando el factor variedad está jerarquizado dentro de la especie, PE es el efecto de la interacción de los puntos muestreado con la especie, $PY_{V(E)}$ corresponde a los efectos generados por la interacción de los puntos y la anidación variedad especie y ε es el error.

Tabla 12. Analisis de varianza ANOVA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
GRS					
PUNTOS DE MUESTREO	3	1661.65	553.88	14.10	0.000
ESPECIE	1	12.56	12.56	0.32	0.574
PUNTOS DE MUESTREO*ESPECIE	3	460.76	153.59	3.91	0.014
VARIEDAD(ESPECIE)	2	1017.55	508.78	12.95	0.000
PUNTOS DE MUESTREO*VARIEDAD(ESPECIE)	6	99.95	16.66	0.42	0.859
ERROR	48	1886.16	39.29		
TOTAL	63	5138.64			
CRR					
PUNTOS DE MUESTREO	3	409.20	136.400	3.03	0.038
ESPECIE	1	0.96	0.958	0.02	0.885
PUNTOS DE MUESTREO*ESPECIE	3	143.18	47.726	1.06	0.374
VARIEDAD(ESPECIE)	2	688.92	344.461	7.66	0.001

PUNTOS DE MUESTREO*VARIEDAD(ESPECIE)	6	1975.67	329.278	7.33	0.000
ERROR	48	2157.62	49.950		
TOTAL	63	537554			
IG					
PUNTOS DE MUESTREO	3	2200.09	733.36	13.18	0.000
ESPECIE	1	7.42	7.42	0.13	0.717
PUNTOS DE MUESTREO*ESPECIE	3	95.00	31.67	0.57	0.638
VARIEDAD(ESPECIE)	2	2124.00	1062.00	19.08	0.000
PUNTOS DE MUESTREO*VARIEDAD(ESPECIE)	6	1264.19	210.70	3.79	0.004
ERROR	48	2671.17	55.65		
Total	63	8361.87			
IGN					
PUNTOS DE MUESTREO	3	0.166165	0.055388	14.10	0.000
ESPECIE	1	0.001256	0.001256	0.32	0.574
VARIEDAD(ESPECIE)	3	0.046076	0.015359	3.91	0.012
PUNTOS DE MUESTREO*ESPECIE	2	0.101755	0.050878	12.95	0.000
PUNTOS DE MUESTREO*VARIEDAD(ESPECIE)	6	0.009995	0.001666	0.42	0.859
ERROR	48	0.188616	0.003929		
TOTAL	63	0.513864			
IER					
PUNTOS DE MUESTREO	3	0.040920	0.013640	3.03	0.038
ESPECIE	1	0.000096	0.000096	0.02	0.885
VARIEDAD(ESPECIE)	3	0.014318	0.004773	1.06	0.374
PUNTOS DE MUESTREO*ESPECIE	2	0.068892	0.034446	7.66	0.001
PUNTOS DE MUESTREO*VARIEDAD(ESPECIE)	6	0.197567	0.032928	7.33	0.000
ERROR	48	0.215762	0.004495		
TOTAL	63	0.537554			

Fuente: Elaboración propia

Analizando los resultados de la tabla 12 se puede indicar con suficiente respaldo estadístico ($\alpha = 0,05$) que para la germinación relativa de las semillas de Brassicas (GRS) existe influencia significativa de los puntos de muestreo, la interacción puntos de monitoreo con especie y la anidación variedad (especie) esto por presentar valores de $p < 0,05$. Para el crecimiento relativo de radícula (CRR) y el índice de germinación (IG), mostraron influencia estadística significativa los siguientes factores: Puntos de muestreo, la interacción de los puntos de muestreo con la especie y los puntos de muestreo con la anidación variedad (especie).

Para el caso del indicador de toxicidad del índice de germinación normalizado (IGN) podemos inferir con suficiente respaldo estadístico que los puntos de muestreo, la anidación variedad (especie) y los puntos de

muestreo por especie generan efectos significativos sobre este indicador de toxicidad de las aguas del río Chanchas.

Por último, para concluir nuestro análisis ANOVA, el índice de elongación radical normalizado (EIR), muestra que hubo influencia significativa sobre este bioindicador en los puntos de muestreo, anidación variedad (especie), interacción de puntos de muestreo por especie analizada y la interacción de los puntos de muestreo con la anidación variedad (especie).

En general todos los análisis previos del ANOVA concluyen con suficiente peso estadístico que las variedades y especies anidadas si influyen significativamente en la bioindicación de toxicidad de las aguas del río Chanchas- sector Pucará, demostrando que pueden ser usadas como especies centinela con capacidad de alerta para posibles trazas de contaminación de aguas superficiales.

En consecuencia, se aceptan la hipótesis general de la investigación (Ha) y se rechaza la hipótesis nula (Ho), por lo tanto, el agua del río Chanchas es significativamente tóxica al ser evaluada mediante bioensayos con especies crucíferas.

4.3. Discusión de resultados

4.3.1. De los resultados de toxicidad en los bioensayos ambientales

Los resultados obtenidos como respuestas biológicas a la toxicidad son el producto de las respuestas naturales de las plántulas de *Brassicas* a las toxicidades de las aguas trabajadas. En los inicios del desarrollo de las plántulas ocurrieron procesos fisiológicos específicos que se vieron afectados y mermados por la actividad de ciertos componentes tóxicos de las aguas del río Chanchas-sector Pucará; señales críticas que se reflejaron en el desarrollo y crecimiento de las variedades de *Brassicas* observadas. En la investigación las señales directas de nocividad se mostraron en las respuestas biológicas variables de fitotoxicidad, las mismas que fueron reportadas en nuestros resultados bajo índices estandarizados de bioindicación de GRS, CRR e IG para posteriormente evaluar la toxicidad integral de las aguas del río bajo parámetros normalizados de IER e IGN.

Al ser el IG el producto de la interacción de CRR y GRS, el IG será el bioindicador de toxicidad por excelencia en nuestros bioensayos trabajados, este bioindicador muestra claramente la influencia en las especies por parte de las zonas biomonitoreadas en los resultados obtenidos como producto del estrés tóxico. Zuconi citado por Varnero (2017) sostiene enfáticamente que los IG al ser el bioindicador más completo tiene que estar basado en criterios de interpretación [45], así los valores $\geq 80\%$, consideran escasa cantidad de sustancias fitotóxicas y valores $\leq 50\%$ bioindican altas concentraciones de compuestos fitotóxicos. En la investigación la variedad *Brassica rapa subsp. Oleífera* (mostaza de campo) y la variedad *Brassica oleracea var. botrytis l.*(coliflor) son las que identifican con mayor notoriedad y de forma excepcional la presencia de estas sustancias ($< 50\%$), permitiendo afirmar que los puntos biomonitoreados del río Chanchas-sector Pucará no están exentos de contaminación, influenciando negativamente sobre los organismos biológicos trabajados.

Wong et al (1983) citado por Rodríguez 2014, indica que los puntos con bajos IG presentan tendencias crecientes de nitrógeno amoniacal en sus aguas superficiales, los que provocarían efectos fitotóxicos sobre la germinación de las muestras bioensayadas. En los puntos M4 y M3 se encuentran altos niveles de nitrógeno amoniacal, afirmación que se ve respaldada por los valores de las pruebas de laboratorio en dicho punto respecto a la DBO (18 mg/L), indicando actividad degradativa del nitrógeno orgánico del medio. Esto también es afirmado por Gonzales (2018), quien afirma que este compuesto fitotóxico es originado por la actividad bacteriana que oxida gradualmente las sustancias nitrogenadas a nitrito y nitratos que reducen nocivamente el oxígeno del medio y provocando entornos de reacciones químicas microbianas que van en detrimento de la calidad del agua [46]. Cabe resaltar que en la inspección visual de la zona analizada M4 (Barrio San Pablo-CPP Asca Pucará) un factor de incremento del nitrógeno amoniacal es el vertimiento de escorrentías de desagüe clandestino a las aguas del río Chanchas-sector Pucará las que afectan su calidad debido a que los pobladores de esta zona hacen una pésima disposición de excretas que van a parar al río, reflejándose en los resultados obtenidos. En esta zona también se aprecian las más elevadas concentraciones de coliformes totales

de 6×10^3 NMP/100 mL y coliformes fecales de 4×10^3 NMP/100 mL en el punto M4. Estos valores respaldan los resultados de nocividad de las aguas respecto a las afectaciones del IG obtenido en nuestros bioensayos, estos van de 47,730% a 72,825 % para todas las variedades bioensayadas.

La afectación germinativa y las respuestas biológicas reportadas de nuestra investigación son explicadas con lo afirmado por Mayer y Polsakoff citado por Romero et. Al (2014), quienes afirman que los nutrientes y procesos necesarios para la supervivencia de las plántulas en proceso de germinación decrecientan desfavorablemente ante un estrés tóxico inducido, mermando sus mecanismos de división celular, específicamente el metabolismo de ácidos nucleicos producidos en la embriogénesis de la semilla [3]. Los valores negativos del IER y el IGN son también un reflejo de la toxicidad inducida por las aguas del río Chanchas-sector Pucará, las que afectan al transporte biológico, movilidad de enzimas y proteínas de reserva de nuestras semillas de *Brassicas* bioensayadas, así como también a la generación de proteínas estructurales como las globulinas, prolaminas, gluteninas y vicelinas, las mismas que cumplen función vigorizante y alimentan a las futuras plántulas [47].

4.3.2. De la evaluación de parámetros del río Chanchas

El análisis de la calidad de agua superficial de nuestras aguas es gravitante para poder entender las afectaciones de los factores que alteran la calidad de las aguas del río Chanchas- sector Pucará. Según MINAM (2017) la calidad de agua destinada a riego de plantas no debe contener sustancias tóxicas y mucho menos metales pesados que pongan en peligro la inocuidad del alimento. Para el caso de vegetales y hortalizas de consumo casi directo los niveles de calidad exigible para las aguas de riego deben de satisfacer ciertos niveles más elevados, donde los parámetros microbiológicos influirán preponderantemente en la evaluación final que se realice [48].

Para identificar los factores ambientales relevantes en cada punto de muestreo se utilizó el análisis de componentes principales comúnmente llamado ACP donde se apreció que los parámetros de DQO, DBO, turbidez, coliformes fecales y coliformes totales se asocian de forma positiva con el punto de monitoreo M4, indicando que este punto mantiene elevados valores

de los parámetros con tendencia a la contaminación. Para los puntos M1 y M2 aguas abajo, se aprecia que estos tienen asociación negativa en cuanto a los parámetros indicadores de sustancias nocivas y toxicidad, demostrando que son los puntos con menor afectación ambiental. Por último, para el punto M3 se puede concluir que tiene gran afinidad con los niveles elevados de la conductividad y las concentraciones preocupantes y nocivas de arsénico. Esto ocurre por el exceso de materia orgánica, por las descargas directas a los ríos. También existe la disminución de oxígeno presente en el agua, en los ríos. La acumulación de nitritos y nitratos producen la eutrofización y restringen el porcentaje de oxígeno disponible [49].

4.3.3. De los efectos de toxicidad del agua y resistencia de las crucíferas

4.3.3.1. Del índice de elongación radical normalizado (EIR)

Varnero (2016), afirma que los índices de crecimiento de la raíz se ven mermados por la presencia de metabolitos fitotóxicos en el medio hídrico bioensayado, alterando sensiblemente su desarrollo celular. Las sustancias fitotóxicas de las aguas limitan el crecimiento de la raíz, pero no logran impedir la germinación de las plántulas [45]. En nuestra investigación se verifica que para todas las especies y variedades trabajada se hallaron EIR con tendencias negativas, lo que indica implícitamente la presencia de metabolitos fitotóxicos en las muestras de agua del río Chanchas-sector Pucará y sus efectos nocivos en la vida. Las variedades que mostraron evidencia de afectación por sobre las demás fueron la col corazón de buey (*Brassica oleracea var. botrytis L.*) y la mostaza de campo (*Brassica rapa subsp. Oleífera.*), las mismas que describieron curvas con puntos de inflexión para M3 y M4, ubicados dentro de los intervalos medios de toxicidad de los bioindicadores $\langle -0,25 - 0,50 \rangle$, inclusive la mostaza de campo logró identificar una ligera toxicidad media en el punto M3 (-0,260) por debajo del límite definido ($< -0,25$).

La variedad col corazón de buey (*Brassica oleracea var. capitata*) tuvo un comportamiento respecto al EIR creciente, indicando valores bajos de toxicidad en el punto M1 (-0,240) y toxicidad media en el punto M2 (-0,250), generando un comportamiento posterior de toxicidad baja con

proyección a la hormesis en puntos ríos arriba superiores a M3 y M4. Cabe indicar también que la col china (*Brassica rapa subsp. Pekinensis*) fue la variedad más resistente a los metabolitos fitotóxicos de las aguas y que a pesar de su bioindicación de toxicidad baja ($(0 - 0,25)$), sus valores de EIR en ninguno de los puntos supera el límite de toxicidad baja para los puntos analizados. También se demostró que indudablemente la *Brassica rapa subsp. Oleífera* (mostaza de campo) fue la especie con mayor afectación por nocividad de las aguas y sus componentes fitotóxicos contenidos; mostrando que tanto para los puntos M2, M3 y M4 bio indican toxicidades medias preocupantes, convirtiéndola de esta forma en la mejor especie centinela de las trabajadas. Es importante mencionar también que la *Brassica oleracea var. botrytis l.*(coliflor) respalda los resultados de la mostaza de campo, indicando niveles de toxicidad media por debajo del umbral límite ($< -0,25$).

4.3.3.2. Del índice de germinación normalizado (IGN)

Los índices de germinación determinados en la investigación mostraron capacidad de bioindicación para tres variedades de *Brassicas* trabajadas (mostraron gradientes de toxicidad media), y en sólo una que es la variedad col china (*Brassica oleracea var. botrytis l.*) las muestras observadas mostraron menor afectación fitotóxica de las aguas para todos los puntos estudiados, no teniendo variación significativa respecto a los IGN determinados. Zacarías (2020) afirma que existe diferencia entre las variedades de una especie respecto a la sensibilidad que presentan a compuestos fitotóxicos, los cambios graduales que muestran una especie o variedad depende del medio externo adverso y sobre todo de la fisiología resistente que promueve la supervivencia de la plántula [17]. Esta afirmación explica por qué en nuestra investigación la mostaza de campo (*Brassica rapa subsp. Oleífera*) y la Coliflor (*Brassica oleracea var. botrytis l.*) mostraron afectaciones y sensibilidades en cuanto al estrés ecotoxicológico impuesto en los bioensayos, mostrando IGN por debajo de -1,25 que indican presencia fitotóxica significativa media de compuestos dañinos

para M3 y M4. Además, se demostró que la mostaza de campo (*Brassica rapa subsp. Oleifera*) es la especie centinela con mayor relevancia en nuestra investigación para alertar la presencia de contaminación en las aguas del río Chanchas-sector Pucará.

4.3.3.3. Del análisis de varianza ANOVA anidada para el análisis de efectos significativos en los indicadores de toxicidad y fitotoxicidad

Para probar la real significancia de las variedades bioensayadas en la identificación y sensibilidad a la posible toxicidad de las aguas del río Chanchas-sector Pucará, se realizó el análisis de varianza ANOVA de carácter anidado, la misma que asocio en toda su dimensión estadística a los factores variedad y especie de *Brassicas*.

Estos resultados dieron una tendencia normal ($p > 0,05$) se concluye así con la sensibilidad al efecto muestral de los mismos.

Además, podemos indicar con suficiente respaldo estadístico ($\alpha = 0,05$) que para la germinación relativa de las semillas de Brassicas (GRS) existe influencia significativa de los puntos de muestreo, la interacción puntos de monitoreo con especie y la anidación variedad (especie) esto por presentar valores de $p < 0,05$. Para el crecimiento relativo de radícula (CRR) y el índice de germinación (IG), mostraron influencia estadística significativa los siguientes factores: Puntos de muestreo, la interacción de los puntos de muestreo con la especie y los puntos de muestreo con la anidación variedad (especie).

Para el caso del indicador de toxicidad del índice de germinación normalizado (IGN) podemos inferir con suficiente respaldo estadístico que los puntos de muestreo, la anidación variedad (especie) y los puntos de muestreo por especie generan efectos significativos sobre este indicador de toxicidad de las aguas del río Chanchas-sector Pucará.

Por último, el índice de elongación radical normalizado (EIR), nos muestra que hubo influencia significativa sobre este bioindicador en los puntos de muestreo, anidación variedad (especie), interacción de puntos de muestreo por especie analizada y la interacción de los puntos de muestreo con la anidación variedad (especie).

CONCLUSIONES

- 1) La evaluación de la toxicidad de las aguas del río Chanchas-sector Pucará mostró señales importantes y significativas de tototoxicidad, los bioindicadores trabajados tradujeron las alteraciones de los procesos germinativos desarrollados en la embriogénesis en valores cuantificables para su bioindicación. Los IG indicador final de los CRR y GRS bioindicaron altas concentraciones de compuestos fitotóxicos para los puntos M3 y M4 <50% (rango de indicación 47,730% a 72,825%) y valores bajos de toxicidad para los puntos M1 y M2 (>80%), siendo la *Brassica rapa Subsp Oleífera* (mostaza de campo) y *Brassica oleracea Var Botritis l.* (coliflor) las responsables de la bioindicación. En cuanto al IER las tendencias negativas demostraron toxicidad de las aguas analizadas, mostrando toxicidades medias para los puntos M3 y M4 aguas arriba del sector Pucará (valores <-2,50), siendo la variedad mostaza de campo *Brassica rapa Subsp Oleífera* la variedad que alcanzó niveles de toxicidad media máximas en comparación de sus competidoras (-0,340). En el caso de los IGN se concluye que los valores alcanzan toxicidades altas para los puntos M3 y sobre todo para el M4 en el cual se indica presencia fitotóxica de significancia media con la mostaza de campo *Brassica rapa Subsp Oleífera* y *Brassica oleracea Var Botritis l* (rango de indicación de -0,250 a -0,280).
- 2) Los parámetros de calidad de agua evaluados para el río Chanchas-sector Pucará fueron obtenidos como contraste y respaldo a los bioensayos trabajados, estos mostraron un valor de DBO de 18 mg/L superior al límite exigido por el ECA en el punto de muestreo M4, lo cual indica la presencia de carga orgánica. Los coliformes fecales de igual manera superan ampliamente el ECA en todos los puntos de muestreo llegando a valores de 6000 NMP/100 mL para el punto M4. En el caso de los inorgánicos no se encontraron trazas de Pb y el Cu más sí niveles preocupantes de As (máximos de 3,786 mg/L) los cuales superan el ECA y comprometen la seguridad alimentaria y salud pública de los pobladores y consumidores de productos agrícolas del sector. Por último, el análisis de componentes principales (ACP) para nuestros parámetros analizados (96,499% de la varianza explicada) asocian de forma positiva y nociva la DQO, DBO, turbidez, coliformes totales y coliformes fecales al punto M4 demostrando que es el punto con mayor afectación producto de la contaminación ambiental.
- 3) La zona del sector del río Chanchas que generó mayores efectos adversos y nocivos significativos en los bioensayos trabajados es el punto de biomonitoreo M4 (Barrio

San Pablo), el mismo que se encuentra aguas arriba de los demás puntos del río (comparación múltiple de medias de Tukey al 95%).

- 4) La especie de crucífera que desarrolló mayor resistencia a la toxicidad del río Chanchas fue la col china (*Brassica rapa subsp. Pekinensis*), la misma que en los indicadores de EIR e IGN demuestran afectación baja negativa ($>-2,5$), incluso con tendencias a la horméisis.

RECOMENDACIONES

- Extender los bioensayos de fitotoxicidad a otras especies hortícolas con el objetivo de definir la especie centinela por excelencia capaz de bioindicar con alta significancia y precisión los niveles de toxicidad de aguas del medio.
- Ampliar el universo de pruebas para la trazabilidad de metales pesados en las aguas superficiales del río Chanchas, ampliando el monitoreo a sedimentos y aguas subterráneas que sirven de riego a los biohuertos hortícolas y parcelas con actividad agrícola del sector analizado.
- Investigar los factores que influirían en los porcentajes de germinación de semillas de otros cultivos andinos, tales como luz, tiempo de imbibición y tamaño de semillas.
- Se recomienda considerar en futuros trabajos similares a este, evaluar un mayor número de parámetros establecidos en el D. S. 004-2017-MINAM de los Estándares de Calidad Ambiental de agua.
- Se recomienda realizar el estudio tomando muestras del agua de río en diferentes meses del año para conocer la influencia de este en la respuesta de las plantas a estudiar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ARGUELLO, Andres. *Evaluación de la toxicidad del agua de la cuenca del río guayllabamba mediante bioensayos con Lactuca Sativa* [online]. 2018. ISBN 9788566800197. Dostupné z: <http://journal.stainkudus.ac.id/index.php/equilibrium/article/view/1268/1127> %0A<http://publicacoes.cardiol.br/portal/ijcs/portugues/2018/v3103/pdf/3103009.pdf>%0Ahttp://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-75772018000200067&lng=en&tlng=
- [2] LALLANA, Maria del C., Cristina E. BILLARD, José H. ELIZALDE a Víctor H. LALLANA. Bioensayo de germinación de Lactuca sativa (L.): Determinación de calidad de agua en represas para riego. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. 2015, **40**(1), 29–38. ISSN 03704661.
- [3] RODRÍGUEZ ROMERO, Alexis Joseph, Cristopher Alberto ROBLES SALAZAR, Ricardo Arturo RUÍZ PICOS, Eugenia LÓPEZ LÓPEZ, Jacinto Elias SEDEÑO DÍAZ a Angélica RODRÍGUEZ DORANTES. Índices de germinación y elongación radical de Lactuca sativa en el biomonitoreo de la calidad del agua del río Chalma. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 2014, **30**(3), 307–316. ISSN 01884999.
- [4] ORLANDO, Juan a Cossio WILLIAMS. *Plan Ambiental Detallado (PAD) del Tramo Modificado de la Línea de Transmisión 220kV S . E . Huayucachi - S . E . Zapallal (L-2221)*. 2022. ISBN 0002321011031.
- [5] CHANCASANAMPA, Paola a Diana RAMOS. Impacto De La Actividades Antropicas Sobre La Calidad De Agua En La Subcuenca Del Río Chanchas - Huancayo”. 2020.
- [6] SOBRERO, Maria Cecilia a Alicia RONCO. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga Lactuca sativa L. *Imta*. 2004, 55–67. ISSN 1098-6596.
- [7] ANTONIO, Brack Egg, Aranda Arce CARLOS, MANUEL, Bernales Alvarado MANUEL ERNESTO, Bustamante Morote RICHARD, Campos Baca LUIS, Capurro Villarán FABIOLA, Sánchez Moreno MARIANO CASTRO, Delgado Zegarra JAIME, Gomero Osorio LUIS a Galarza Contreras ELSA. Diagnóstico ambiental del Perú. *Ministerio del Ambiente* [online]. 2018, (025), 31. Dostupné z: <https://sinia.minam.gob.pe/documentos/diagnostico-ambiental-peru>
- [8] RENGIFO. *Aproximación diagnóstica y propuesta de políticas generales en materia de salud ambiental*. 2016. ISBN 9789972804670.

- [9] CASTILLO M. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas*. 2004. ISBN 9685536333.
- [10] SIA. Minas abandonadas de la región Junín. *Ministerio de Energía y Minas*. 2016, 1–23.
- [11] CARTEA, María Elena, Marta VILAR, Marta FRANCISCO a Margarita LEMA. Cultivo de variedades tradicionales de brásicas en la agricultura ecológica. 2016, 1–20.
- [12] ELIZALDE, José H.I., María del Carmen LALLANA, María N. FOTI, Silvana GÓMEZ a Francisco J. FERNÁNDEZ. Evaluación de la fitotoxicidad de aguas residuales del municipio de Oro Verde, entre ríos, mediante el ensayo de toxicidad aguda en semillas. *Revista Científica Agropecuaria* [online]. 2016, **20**((1-2)), 67–77. Dostupné z: http://www.fca.uner.edu.ar/rca/Volumenes Anteriores/Vol Ante 20/PDF Trabajos/RCA_226 F.pdf
- [13] CEBALLOS. Prueba de toxicidad aguda sobre la germinación y desarrollo de *Raphanus sativus* L. por exposición a aguas residuales de una planta tratadora de Cd. Valles, S.L.P. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias*. 2020, **11**(11), 1–12.
- [14] MAÑAS RAMÍREZ, María Pilar. Análisis de fitotoxicidad de aguas residuales procedentes de estaciones depuradoras de la provincia de Albacete. *Sabuco: revista de estudios albacetenses* [online]. 2017, (12), 13–41. ISSN 1577-2969. Dostupné z: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6607041.pdf%0Ahttps://dialnet.unirioja.es/servlet/extart?codigo=6607041>
- [15] GIRALDO, Didiana a Juan CHIRIVI. Evaluación piloto de toxicidad aguda del río Fucha. 2019, (82), 1–23.
- [16] VALERIO, Marlon Escoto, Juan Fernández GARCÍA a Francisco Martín PEINADO. Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on a bioassay with lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Science of the Total Environment* [online]. 2007, **378**(1–2), 63–66. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2007.01.007
- [17] SACARÍAS. Efecto del Agua Subterránea Procedente de Pozos Tubulares de La Provincia de Melgar en La Germinación y Crecimiento de Quinoa, Alfalfa y Lechuga. *Universidad Nacioanal del Altiplano de Puno- Facultad de Ciencias biológicas-Escuela Profesional de Biología*. 2020.

- [18] BELTRÁN, Raúl a Katty GONZA. Cytotoxicity and genotoxicity of the waters of the Jequetepeque and Moche rivers in the environmental bioindicator *Vicia faba* L. *Scientia Agropecuaria* [online]. 2017, **8**(3), 203–213. ISSN 2306-6741. Dostupné z: doi:10.17268/sci.agropecu.2017.03.03
- [19] LENCINAS, HUAMÁN. TOXICIDAD DEL EFLUENTE DE LA LAGUNA DE ESTABILIZACIÓN EL ESPINAR MEDIANTE BIOENSAYOS CON *Daphnia pulex* y *Lactuca sativa* L. *UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA*. 2019, 141.
- [20] RETUERTO, M. TOXICIDAD EN AGUAS SUPERFICIALES DE LA ESTACIÓN 6 DEL RIO CHILLÓN UTILIZANDO EL BIOENSAYO *Lactuca sativa* - 2015. *Universidad Nacional "Hermilio Valdizán"* [online]. 2015, 84. Dostupné z: https://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13080/2155/TM_Retuerto_Figueroa_Monica.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- [21] IANNACONE O., José a Lorena ALVARIÑO F. Efecto Ecotoxicológico de tres Metales Pesados Sobre el Crecimiento Radicular de Cuatro Plantas Vasculares. *Agricultura Técnica* [online]. 2005, **65**(2), 198–203. ISSN 0365-2807. Dostupné z: doi:10.4067/S0365-28072005000200009
- [22] CCUNO, Sandra. *Evaluación de la calidad del agua del río Azángaro y su efecto en la germinación y crecimiento de plántulas indicadoras de toxicidad vegetal - tomate (*Solanum Lycopersicum*) y lechuga (*Lactuca Sativa*)*. B.m., 2020. UNIVERSIDAD ANDINA NÉSTOR CÁCERES VELÁSQUEZ.
- [23] VILCAPOMA ARECHE, Deyse. Fitoextracción de cadmio y zinc en suelos contaminados utilizando *Lactuca sativa* var . White Boston , en la Estación Agropecuaria Experimental El Mantaro - Junín 2019. 2019, **0**, 35.
- [24] LOAYZA QUISPE, Jessenia Lizbet a Pedro Angel CANO ROJAS. Impacto De Las Actividades Antropicas Del Agua De La Subcuenca Del Rio Shullcas-Huancayo-Junin. 2015.
- [25] PICA GRANADOS, Yolanda. *Ensayos Toxicológicos Y Métodos De Evaluación De Calidad De Aguas Estandarización, Intercalibración, Resultados Y Aplicaciones*. 2004. ISBN 968-5536-33-3.
- [26] NARCIS PRAT. Calidad de Agua, contaminación y toxicidad: Algunas ideas y conceptos básicos. *Andanzas y Desventuras de un ecólogo en los juzgados del Reyno* [online]. 2019, 14. Dostupné

- z: http://www.ub.edu/fem/docs/divulgacio/NPrat_calidad_agua.pdf
- [27] PLANES, Estela a Julio FUCHS. Cuales Son Los Aportes De La Ecotoxicología a Las Regulaciones Ambientales. *Ciencia e Investigación* [online]. 2015, **65**, 45–62. Dostupné z: <http://aargentinapciencias.org/2/images/RevistasCeI/tomo65-2/5-Planes-cei65-2-5.pdf>
- [28] JARAMILLO, Je a Cipriano a DÍAZ. El cultivo de las crucíferas. Brócoli, coliflor, repollo y col china. *Corpoica*. 2006, 1–176.
- [29] INC. Plantas crucíferas y la prevención del cáncer. *Instituto Nacional del Cáncer*. 2012, 12–16.
- [30] FORNARIS, Guillermo. Conjunto Tecnológico para la Producción de Repollo: Características de la planta. *Universidad de Puerto Rico* [online]. 2014, (158), 1–4. Dostupné z: <http://136.145.11.14/eea/wp-content/uploads/sites/17/2016/03/PIMIENTO-Características-de-la-Planta-v2005.pdf>
- [31] TOAPANTA M. “Introducción de cinco híbridos de coliflor (*Brassica oleracea* L. var. *Botrytis*) en el barrio Quillan Loma-parroquia Izamba” [online]. 2013. ISBN 0604358598. Dostupné z: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/5772/1/Tesis-57IngenieríaAgronómica-CD184.pdf>
- [32] FUEYO, Miguel. La coliflor: Un cultivo rentable para la horticultura asturiana. *Serida* [online]. 2015, **2**, 9–14. Dostupné z: <http://serida.org/pdfs/1489.pdf>
- [33] ESPEJO. Respuesta de variedades de col china (*Brassica pekinensis* (Lour.) Rupr.) a diferentes niveles de fertilización. *Universidad Mayor de San Andrés Facultad de Agronomía Carrera de Ingeniería Agronómica*. 2005, 105.
- [34] WILLIAMS, Paul. Brassica rapa Brassica rapa. 2019, 8–15.
- [35] CAMERONI, G. Ficha técnica de semillas de Mostaza. *F.T.* 2013, 6.
- [36] POZO, Marina. Aplicación de método biológico para evaluar la calidad de agua: germinación de semillas de Lactuca sativa. 2020.
- [37] HERNÁNDEZ SAMPIERI, Roberto a Christian Paulina MENDOZA TORRES. *Metodología de la investigación: las tres rutas cuantitativa, cualitativa y mixta*. 2018. ISBN 978-1-4562-6096-5.
- [38] CARRASCO. Metodología de investigación, pautas para hacer Tesis. *Pautas para haer la tesis*. 2013, 1.
- [39] ATLANTIC INTERNATIONAL UNIVERSITY. Método hipotético deductivo

- y experimentum crucis. *AIU cursos*. 2012.
- [40] OLMEDO. Diseño de la planta de tratamiento de aguas residuales para el sistema de alcantarillado del anexo de asca – pucara. *UNCP*. 2019, 150.
- [41] DEL AGUA, A. N. *Protocolo nacional para el monitoreo de la calidad de los recursos hídricos superficiales* [online]. 2016. Dostupné z: <http://repositorio.ana.gob.pe/handle/20.500.12543/209>
- [42] SAG. Calidad sanitaria y Microbiológica para aguas de riego. *SAG-Calidad de aguas para riego*. 2014, 1–9.
- [43] FERTILAB. El Problema del Arsénico en las Aguas de Riego [online]. 2016, 5. Dostupné z: <https://www.fertilab.com.mx/Sitio/notas/182-El-Arsenico-en-las-Aguas-de-Riego.pdf>
- [44] GUERRERO, Homer Jimmy Torres. Evaluación de la fitotoxicidad del biotransformado de imidacloprid en suelos de la comunidad el milagro, parroquia La Carolina, provincia Imbabura. *PUCE*. 2018, 1–41.
- [45] VARNERO, María Teresa, Claudia ROJAS a Roberto ORELLANA. Índices de Fitotoxicidad de residuos orgánicos durante el copostage. *Revista ciencia del Suelo y nutrición Vegetal*. 2016, 7(1), 28–37. ISSN 0718-2791.
- [46] GONZÁLEZ LOURDES. Nitrógeno amoniacal, importancia de su determinación. *Revista Académica UTP: Mente & Materia* [online]. 2013, 4, 12–13. Dostupné z: <https://revistas.utp.ac.pa/index.php/mente-y-materia/article/view/334>
- [47] MATILLA, Angel J. Desarrollo y germinación de las semillas. Fundamentos de Fisiología Vegetal,. *Fundamentos de Fisiología vegetal* [online]. 2008, (July), 537–558. Dostupné z: <https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2016/08/matilla-2008.pdf>
- [48] MINAM. Estandares de calidad ambiental del agua. 2017, 1–134.
- [49] LÓPEZ, José, Norma TORRES, Ricardo SALDIVAR, Ilena REYES a Bulmaro ARGÜELLO. Técnicas Para Evaluar Germinación, Vigor y Calidad Fisiológica de Semillas Sometidas a Dosis de Nanopartículas. *Centro de Investigación en Iquímica Aplicada (CIBQ)*. 2016, 129–140.

ANEXOS

Anexo 01. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES			
			TIPO DE VARIABLE	DIMENSIÓN	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
<p>Problema General ¿Cuál es la toxicidad del agua del río Chanchas obtenida mediante bioensayos con especies crucíferas?</p> <p>Problemas específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Cuál será la calidad del agua del río Chanchas? • ¿Cuál es el punto biomonitoreado de las aguas del río que presenta mayor toxicidad? • ¿Cuál es la especie crucífera que presenta mayor resistencia a la toxicidad de las aguas del río Chanchas? 	<p>Objetivo general Evaluar la toxicidad del agua del río Chanchas mediante bioensayos con especies crucíferas.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la calidad del agua del río Chanchas. • Determinar el punto biomonitoreado de las aguas del río Chanchas que presenta mayor toxicidad. • Determinar la especie crucífera que presenta mayor resistencia a la toxicidad de las aguas del río Chanchas. 	<p>Hipótesis general El agua del río Chanchas es significativamente tóxica al ser evaluada mediante bioensayos con especies crucíferas.</p> <p>Hipótesis específicas</p> <ul style="list-style-type: none"> • La calidad del agua del río Chanchas no es significativamente buena. • Los puntos biomonitoreados presentan significativamente toxicidad en las aguas del río Chanchas. • Las especies crucíferas presentan significativamente resistencia a la toxicidad de las aguas del río Chanchas. 	<p>Variables Independientes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aguas del río Chanchas - sector Pucará • Especies crucíferas <p>Variables dependientes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Respuestas biológicas de las crucíferas 	<ul style="list-style-type: none"> • Puntos de muestreo • Parámetros del agua • Brassica oleracea • Brassica rapa • Índices de fitotoxicidad • Índices de toxicidad 	<ul style="list-style-type: none"> • M1 • M2 • M3 • M4 • Físicoquímicos • Microbiológicos • Col (Brassica oleracea var. capitata) • Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.) • Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis) • Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifera) • Germinación Relativa de Semillas (GRS) • Crecimiento relativo de radícula (CRR) • Índice de germinación (IG) • Índice de germinación normalizado (IGN) • Índice de Elongación Radical (IER) 	<ul style="list-style-type: none"> • Coordenadas UTM • °C • mg/L • NMP • NTU • ppm • Unidad • % • Baja • Moderada • Muy alta • Hormesis

Anexo 02

Resultados de los parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y metales pesados del río chanchas-sector pucará



LABORATORIO DE ENSAYOS "AMBIENTAL LABORATORIOS S.A.C"

INFORME DE ENSAYO N° AL/IE-2022-010

NOMBRE DEL CLIENTE	: BETSY SOBERO QUILCA.
DOMICILIO LEGAL	: Antonio Lobato N° 1202 El Tambo.
SOLICITADO POR	: Betsy Sobero Quilca.
REFERENCIA DEL CLIENTE	: Evaluación de la Toxicidad de las Aguas del Río Chanchas – Sector Pucara, Usando Bioensayos Ambientales para Especies de Crucíferas.
PROCEDENCIA	: Río Chanchas – Sector Pucara.
ORDEN DE SERVICIO N°	: AL/OS – 2022 – 022.
CANTIDAD DE MUESTRAS	: 04 frascos de plástico.
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRA	: 18/04/2022.
PERIODO DE ENSAYO	: 19/04/2022 – 26/04/2022.
TOMA DE MUESTRA	: Por el cliente.
CONDICIÓN DE LA MUESTRA	: Los resultados de análisis se aplican a la muestra(s) tal como se recibió.

I. DESCRIPCIÓN Y UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL MONITOREO:

Código del Cliente	Código de Laboratorio	Coordenadas		Fecha de Monitoreo	Hora de Monitoreo	Producto Declarado
		Este	Norte			
M1	M-22037	483281.26	8655658.60	18/04/2022	17:47	Agua Superficial
M2	M-22038	483367.00	8655567.00	18/04/2022	17:47	Agua Superficial
M3	M-22039	483454.00	8655484.00	18/04/2022	17:47	Agua Superficial
M4	M-22040	483519.00	8655418.00	18/04/2022	17:47	Agua Superficial

II. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método de Referencia	Descripción
Demanda Bioquímica de Oxígeno	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5210 B, 23nd Ed.2017	Biochemical Oxygen Demand (BOD). 5-Day BOD test.
Demanda Química de Oxígeno	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5220 D, 23nd Ed.2017	Chemical Oxygen Demand (COD). Closed Reflux, Colorimetric Method.
Turbidez	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 2130 B, 23nd Ed. 2017	Turbidity, Nephelometric Method.
Coliformes Totales	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 9221 B, 23nd Ed.2017	Multiple-Tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. Standard Total Coliform Fermentation technique.
Coliformes Fecales*	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 9221 E-1, 23nd Ed.2017	Multiple-Tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. Fecal Coliform Procedure.

* Coliformes Fecales es lo mismo que Coliformes Termotolerantes.

AMBIENTAL LABORATORIOS S.A.C.
JEFE DE LABORATORIO

El presente informe es redactado íntegramente en AMBIENTAL LABORATORIOS S.A.C, su adulteración o su uso indebido con fines de fraude constituye un delito contra la fe pública. Está prohibido la reproducción parcial o total salvo autorización escrita de AMBIENTAL LABORATORIOS S.A.C. Las muestras serán conservadas en un periodo máximo de 15 días de haber ingresado al laboratorio, excedido el tiempo se procederá a su eliminación. Estos resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Página 1 de 2

Oficina principal: Av. Ferrocarril N° 661 – Chilca – Huancayo. Laboratorio: Av. Ferrocarril S/N – Barrio Chanchas - Huayucachi
Cel.: 998900666 - 956000691 Email: ambiental.lab@ambientallaboratorios.com.pe

INFORME DE ENSAYO N° AL/IE-2022-010

III. RESULTADOS:

Código del Cliente	Ensayo	Resultado	Unidad
M1	Demanda Bioquímica de Oxígeno	14.0	mg/L
	Demanda Química de Oxígeno	23.0	O ₂ mg/L
	Turbidez	3.92	NTU
	Coliformes Totales	5.0 x 10 ³	NMP/100 mL
	Coliformes Fecales	2.0 x 10 ³	NMP/100 mL
M2	Demanda Bioquímica de Oxígeno	12.0	mg/L
	Demanda Química de Oxígeno	22.0	O ₂ mg/L
	Turbidez	3.36	NTU
	Coliformes Totales	5.0 x 10 ³	NMP/100 mL
	Coliformes Fecales	2.0 x 10 ³	NMP/100 mL
M3	Demanda Bioquímica de Oxígeno	14.0	mg/L
	Demanda Química de Oxígeno	25.0	O ₂ mg/L
	Turbidez	4.12	NTU
	Coliformes Totales	5.0 x 10 ³	NMP/100 mL
	Coliformes Fecales	2.0 x 10 ³	NMP/100 mL
M4	Demanda Bioquímica de Oxígeno	18.0	mg/L
	Demanda Química de Oxígeno	32.0	O ₂ mg/L
	Turbidez	6.00	NTU
	Coliformes Totales	6.0 x 10 ³	NMP/100 mL
	Coliformes Fecales	4.0 x 10 ³	NMP/100 mL



Huancayo, 26 de Abril del 2022

AMBIENTAL LABORATORIOS S.A.C.

Ing. Iryán H. Laurente Galarza
JEFE DE LABORATORIO
CIP N° 1738/2

LAB-FR-004 VERSIÓN 02 / F.E. 01/2022

El presente informe es redactado íntegramente en AMBIENTAL LABORATORIOS S.A.C, su adulteración o su uso indebido constituye delito contra la fe pública, Está prohibido la reproducción parcial o total salvo autorización escrita de AMBIENTAL LABORATORIOS S.A.C. Las muestras serán conservadas en un periodo máximo de 15 días de haber ingresado al laboratorio, excedido el tiempo se procede a su eliminación. Estos resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Página 2 de 2

CADENA DE CUSTODIA DE MONITOREO - AGUA Y SUELO

2405-2022-022
CÓDIGO: LAB-FR-001
VERSION: 01
F.E: 12/2020

Cliente: Betsy Gabeiro Cevallos Lugar de muestreo: Rio Chanchas - Sector Pucara N° de informe de ensayo: MF-2022-010
 RUC: _____ Proyecto: Evaluación de la toxicidad de las aguas del Rio Chanchas - Sector Pucara, usando Bioensayos Ambientales para especies de Invertebrados
 N° de cotización: MF-2022-022-1 Tel.: _____ PARAMETROS: _____
 E-mail: _____

N° DE MUESTRA	CÓDIGO DE LABORATORIO (1)	PUNTO DE MONITOREO 6 CODIGO DEL CLIENTE	MUESTREO		MATRIZ (4)	UBICACION UTM (3)	N° DE FRASCOS POR PUNTO DE MUESTREO		VOLUMEN TOTAL	OBSERVACIONES
			FECHA (d-m-a)	HORA (24:00)			P	V		
01	M-22037	M1	18/04/22	17:47	AS	49228.81.26	1	2	2L	DBO5
02	M-22038	M2	18/04/22	17:47	DS	4833658.00	1	2	2L	DOO
03	M-22039	M3	18/04/22	17:47	DS	8653887.00	1	2	2L	Tubos de Col. Fecal
04	M-22040	M4	18/04/22	17:47	DS	4833479.00	1	2	2L	Col. Total
						4855984.00				
						4655478.00				
TOTAL						4				

RECIBIDO
 HORA: 19:45:2022

DATOS: MUESTREO POR/ANALISTA DE CAMPO: _____ RESPONSABLE O SUPERVISOR EN CAMPO: _____
 NOMBRES Y APELLIDOS: Betsy Gabeiro Cevallos
 FIRMA: Betsy Gabeiro Cevallos
 OBSERVACIONES: _____
 LABORATORIO - RECEPCION DE MUESTRAS: _____
 MUESTRAS RECIBIDAS INTACTAS: _____
 TIPO DE RECIBIDO ADECUADO: _____
 MUESTRAS DENTRO DEL PERIODO DE ANALISIS: _____
 CONSERVACION DE MUESTRAS: _____
 FRIO: _____
 AMBIENTE: _____
 Monitoreado por: Amambial Laboratorios Cliente: X

Oficina principal: Av. Ferrocarril N° 661 - Chillca - Huancayo. Laboratorio: Av. Ferrocarril S/N - Barrio Chanchas - Huayucachi
 Cel.: 9989000566 - 956000691 Email: ambiental.lab@ambientallaboratorios.com.pe

- 1 Cliente : AMBIENTAL LABORATORIOS S.A.C.
- 2 Dirección : Av. Ferrocarril N° 681 - Chilca - Huancayo.
- 3 Datos del Instrumento :

.Instrumento de Medición : Medidor de Oxígeno	.N° de serie del Instrumento : AK.13719
.Marca : LT Lutron	.N° de serie del sensor : No indica
.Modelo : DO-5510HA	.Alcance : 0,00 mg/L a 20,00 mg/L
.Identificación : EQ-005-LAB *	.Resolución : 0,1 mg/L
- 4 Lugar de calibración : Laboratorio de Aguas - Green Group PE S.A.C.
- 5 Fecha de calibración : 2021-09-16
- 6 Método de calibración

La calibración se realizó por comparación de la indicación del Instrumento con valores asignados a materiales de referencia de oxígeno, según procedimiento GGP-08 Calibración de Medidores de Oxígeno Disuelto – Green Group.

7 Condiciones Ambientales

	Temperatura (°C)	Humedad (%H.R.)	Presión (mbar)
Inicial	24,8	61,1	996,4
Final	25,1	63,3	996,5

8 Trazabilidad

Materiales de Referencia	Código Interno	N° Lote/Certificado	F. Vencimiento
Solución estándar de Oxígeno Zero	GGP-S-13,31	14289	2022-03-19
Barómetro	GGP-02	P-0225-2021	2022-01-18

9 Resultados de Medición

Referencia (mg/L)	Lectura del Instrumento (mg/L)	Error (mg/L)	Incertidumbre (mg/L)
0,0	0,0	0,0	0,1
8,1	8,2	0,1	0,1

10 Observaciones

- a) Los resultados están dados a la temperatura de 25 °C.
 - b) El número 10-01 se encuentra grabado en el sensor.
- * Dato proporcionado por el usuario.

- La Incertidumbre de medición expandida reportada es la incertidumbre de medición estándar multiplicada por el factor de cobertura $k = 2$, de modo que la probabilidad de cobertura corresponde aproximadamente a un nivel de confianza del 95%.
- Los resultados emitidos son válidos solo para el Instrumento y sensor de oxígeno disuelto, en el momento de la calibración.
- Se recomienda al usuario recalibrar a intervalos adecuados, los cuales deben ser elegidos con base a las características del trabajo realizado, el mantenimiento, conservación y el tiempo de uso del instrumento.

El certificado de calibración solo puede ser difundido completamente y sin modificaciones, sin firma y sellos carecen de validez. La incertidumbre declarada en el presente certificado ha sido estimado siguiendo las directrices de: "Guía para la expresión de la incertidumbre de medida" primera edición, septiembre 2008 CEN.



Fecha de emisión

2021-09-16


ISAÍAS CURÍ MELGAREJO
 Jefe de Laboratorio de Calibración
 GREEN GROUP PE S.A.C

LA IMPRESIÓN DE ESTE CERTIFICADO CONSTITUYE UNA COPIA DEL ORIGINAL. EN VERSIÓN ELECTRÓNICA (FIRMA DIGITAL SEGÚN LEY N° 27269 LEY DE FIRMAS Y CERTIFICADOS DIGITALES) FO-[LC-PR-01]-03

Av. Aviación 4210 - Surquillo

Central: 560-6134 / 273-3550

www.greengroup.com.pe

EL USO INDEBIDO DE ESTE CERTIFICADO DE CALIBRACION CONSTITUYE DELITO SANCCIONADO CONFORME A LEY.

1 Cliente : AMBIENTAL LABORATORIOS S.A.C
 2 Dirección : Av. Ferrocarril N° 661 Chilca-Huancayo
 3 OTI : 177C
 4 Datos del Instrumento
 .Instrumento de Medición : Turbidímetro .Alcance : 0,00 NTU a 1000 NTU
 .Marca : VELP SCIENTIFICA .Resolución : 0,01 NTU / 0,1 NTU / 1 NTU
 .Modelo : TB1
 .N° de serie : 2612773
 .Identificación : EQ-003-LAB
 5 Lugar de Calibración : Laboratorio de Aguas - Green Group PE S.A.C.
 6 Fecha de Calibración : 2022-03-10

7 Método de Calibración

La calibración fue realizada por comparación y ajuste con patrones utilizados de acuerdo a lo establecido en el manual de fabricante.

8 Condiciones Ambientales.

	Temperatura (°C)	Humedad relativa (% hr)
Inicial	24,6	65,3
Final	24,9	63,8

9 Trazabilidad

Patrón Usado	Código Interno	N° Lote/Certificado	F. Vencimiento
MRC de formazin 0 NTU	GGP-S-08.4	A0199	2022-07-31
MRC de formazin 20 NTU	GGP-S-10.9	A0127	2022-05-31
MRC de formazin 100 NTU	GGP-S-16.9	A1174	2023-06-30
MRC de formazin 800 NTU	GGP-S-11.11	A1008	2023-01-31

10 Resultados de Medición

Indicación del instrumento (NTU)	Valor del patrón (NTU)	Corrección (NTU)	Incertidumbre (NTU)
0,08	0,08	0,00	0,01
20,1	19,7	-0,4	0,1
100	100,3	0,3	0,6
798	802	4	0,6

11 Observaciones

- a) La precisión del instrumento declarado en el manual del fabricante es: $\pm 2\%$ de la lectura más la luz difusa.
- La Incertidumbre de medición expandida reportada es la incertidumbre de medición estándar multiplicada por el factor de cobertura $k=2$ de modo que la probabilidad de cobertura corresponde aproximadamente a un nivel de confianza del 95%.
 - Los resultados emitidos son válidos solo para el instrumento calibrado, en el momento de la calibración.
 - Se recomienda al usuario recalibrar a intervalos adecuados, los cuales deben ser elegidos con base a las características del instrumento.
- La incertidumbre declarada en el presente certificado ha sido estimado siguiendo las directrices de: "Guía para la expresión de la incertidumbre de medida" primera edición, septiembre 2008 CEM.
- El certificado de calibración solo puede ser difundido completamente y sin modificaciones, sin firma y sellos carecen de validez.



* Fecha de Emisión
2022-03-11


 ISAIAS CURI MELGAREJO
 Jefe de Laboratorio de Calibración
 GREEN GROUP PE S.A.C

LA IMPRESIÓN DE ESTE CERTIFICADO CONSTITUYE UNA COPIA DEL ORIGINAL EN VERSIÓN ELECTRÓNICA (FIRMA DIGITAL SEGÚN LEY N° 27299 LEY DE FIRMAS Y CERTIFICADOS DIGITALES)

FO-[LC-PR-01]-03



INFORME DE ENSAYO RCJ-INFORME-22-MA-0021

REV. 2.1

Página 1 de 1

A solicitud de : Betsy Sobero Quilca
Por cuenta de : Betsy Sobero Quilca
Tipo de muestra : Agua
Tipo de Análisis : Reconocimiento

Referencia : Nota de Servicio

Cantidad de Muestras : 4
Fecha de Recepción : 18/04/2022
Fecha de Ensayo : Del 19/04/2022
 Al 19/04/2022

Métodos : Absorción Atómica
 Potencimetría

ID. Laboratorio	ID. Cliente	ELEMENTOS					
		Cu	Pb	As	pH	CONDUCTIVIDAD	
Método		AAS	AAS	AAS	POTENCIOMETRIA	POTENCIOMETRIA	
Unidad		mg/L	mg/L	mg/L		µS/cm	
Límite de Cuantificación							
MA-22/00273	M1-RIO-CHANCAS-PUCARA	<0.001	<0.001	3.238	6.9	168	
MA-22/00274	M2-RIO-CHANCAS-PUCARA	<0.001	<0.001	3.225	6.9	172	
MA-22/00275	M3-RIO-CHANCAS-PUCARA	<0.001	<0.001	3.786	7.1	174	
MA-22/00276	M4-RIO-CHANCAS-PUCARA	<0.001	<0.001	2.481	7.0	168	

Los resultados mencionados en este documento proceden de muestras proporcionadas por el cliente o por un tercero a nombre del cliente. Laboratorios RCJ Labs Universal no es responsable del origen o fuente de la cual las muestras han sido tomadas.
 El informe de ensayo solo es válido para la muestra del lote sometida a análisis, no pudiendo extenderse los resultados del informe a ningún otro lote que no haya sido analizado.
 Pasado el plazo de almacenamiento de 90 días para remanentes o pulpas y 30 días para Rechazos o gruesas, se procederá a descartar. Favor no considerar esta información si se presentan instrucciones al inicio del servicio.

Huancayo, 28 de Abril de 2022

M. Calvo

RCJ LABS UNIVERSAL
ING. MICHAEL C. DELERO ROMERO
 CIP N° 233781
 Responsable Lab. Químico

Anexo 03.

Panel fotográfico

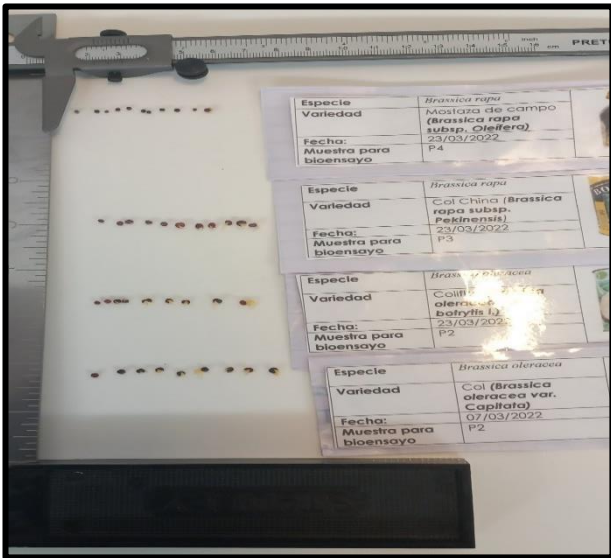
04-A: Selección de semillas de crucíferas (*Brassicas*)



04-C: Pruebas de fitotoxicidad para los bioensayos

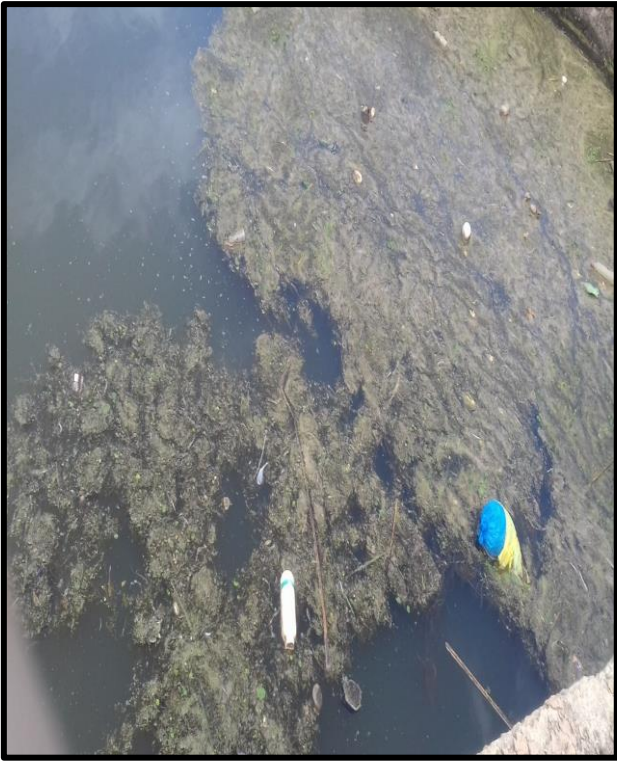


04-D: Registro de datos para calcular los índices de germinación



04-E: Toma de muestras de agua superficial río Chanchas- sector Pucará





Anexo 05.

Matriz de resultados para el desarrollo de radícula (cm)

CELDA / BANDEJ AS	TESTIGO				PUNTO DE MUESTREO M1				PUNTO DE MUESTREO M2				PUNTO DE MUESTREO M3				PUNTO DE MUESTREO M4				
	<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		
	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis L.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis L.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis L.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis L.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis L.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	
R1	C1	0.7	2.5	1.4	0.3	1.5	2.6	2.1	0.3	1.5	2.5	1.6	0.3	1.6	1.9	2.5	0.4	1.7	1.9	2.3	0.3
	C2	1.3	1.8	1.3	0.0	1.9	2.4	2.2	0.0	1.4	1.8	1.3	0.4	1.8	2.6	2.6	0.0	1.8	2.4	2.4	0.0
	C3	0.8	1.7	1.4	0.2	1.7	2.4	2.0	0.4	0.8	1.7	1.6	0.0	1.3	0.0	2.2	0.5	0.0	2.2	2.2	0.5
	C4	0.6	1.8	1.2	0.3	0.9	2.3	1.8	0.4	0.8	2.0	1.2	0.4	1.3	2.3	2.4	0.5	1.7	0.0	2.4	0.3
	C5	0.8	2.5	1.4	0.0	1.5	2.6	0.0	0.0	1.0	2.7	1.5	0.0	1.6	2.2	0.0	0.0	1.7	2.1	0.0	0.0
	C6	1.5	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	2.2	0.0	1.6	0.0	1.7	0.0	0.0	0.0	2.0	0.4	0.0	2.1	1.9	0.3
	C7	0.0	0.8	1.7	1.1	0.9	1.7	2.0	0.6	0.0	1.0	1.8	1.1	1.4	2.2	1.8	0.0	1.7	2.2	1.8	0.0
	C8	1.4	0.0	0.8	0.6	1.7	1.4	1.7	0.0	1.4	0.0	0.8	0.0	2.0	2.2	2.2	0.0	1.5	2.0	2.0	0.0
	C9	0.7	1.6	0.0	0.0	1.3	1.1	0.0	0.0	0.0	1.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	1.7	0.0	0.0	0.0
	C10	0.9	1.8	0.0	0.2	0.9	0.0	1.0	0.0	0.7	1.7	0.0	0.0	0.9	1.9	0.0	0.3	0.0	1.8	0.0	0.0
	C11	1.4	2.0	1.9	0.9	0.7	2.2	1.4	0.0	1.6	0.6	1.5	0.0	1.8	1.7	1.2	0.0	1.6	1.7	0.0	0.4
	C12	1.3	0.0	1.5	2.1	0.3	0.0	0.9	0.5	0.5	2.0	1.4	0.0	0.0	1.3	1.2	0.3	0.0	1.5	1.8	0.0
	C13	2.1	2.4	1.6	0.6	0.5	1.0	0.8	0.8	0.5	1.6	1.7	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	1.6	0.0	2.0	0.0
	C14	1.2	3.1	1.3	0.7	0.0	1.6	1.3	0.0	0.9	1.7	1.3	0.5	1.3	0.0	1.2	0.0	1.3	1.8	2.0	0.0

C15	2.0	1.8	2.3	1.3	1.4	0.6	1.7	0.7	0.9	2.5	1.3	0.0	0.0	1.2	1.1	0.5	1.4	1.7	0.0	1.2
C16	1.8	0.0	2.1	0.6	0.0	1.5	0.7	1.0	1.2	0.0	1.4	0.0	0.0	0.0	1.1	1.0	1.6	1.8	1.4	0.0
C17	1.9	2.1	1.5	1.0	1.6	1.2	1.4	0.3	0.0	0.8	1.8	1.2	1.3	1.2	2.4	0.6	1.0	1.7	1.1	0.3
C18	1.3	1.9	1.6	1.4	1.3	1.2	1.1	0.0	1.5	0.0	0.8	0.4	1.2	1.1	1.3	0.2	1.1	0.0	1.8	0.0
C19	1.2	1.3	2.1	0.7	1.1	2.4	1.6	0.5	0.6	1.6	0.0	0.0	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9	0.0
C2	2.2	0.0	2.1	0.7	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.9	0.0	0.0	0.0	1.2	2.6	0.4	1.8	1.8	2.7	0.3
C21	1.1	2.2	1.4	0.5	1.2	1.3	0.0	0.8	0.8	0.2	1.5	0.0	1.2	2.6	1.1	0.3	0.0	0.0	0.0	1.8
C22	2.2	3.0	1.7	0.5	1.6	2.4	0.4	0.0	1.1	0.9	1.3	0.0	1.1	0.0	0.0	0.5	1.5	0.0	1.1	0.2
C23	1.1	3.0	2.2	0.4	1.7	0.8	0.5	1.2	0.7	1.6	1.6	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	1.4	1.2	0.0
C24	1.3	2.5	0.0	0.5	0.0	1.3	1.2	1.1	0.8	1.8	1.3	0.3	1.4	0.0	1.1	0.4	1.2	0.0	0.0	0.9
C25	1.5	2.3	2.2	0.0	1.3	2.1	0.4	0.2	0.8	2.5	1.3	0.0	1.2	1.1	1.2	0.6	0.0	1.3	1.8	0.4
C26	1.6	2.1	2.2	0.9	0.7	2.4	0.0	0.9	1.6	0.0	1.5	0.0	0.0	1.3	1.2	0.0	0.0	1.3	0.6	0.3
C27	1.1	2.3	2.4	0.7	0.0	1.0	0.4	0.4	0.0	1.0	1.7	1.1	1.3	2.4	2.3	0.4	1.2	1.2	1.2	0.3
C28	0.0	2.3	3.0	0.9	0.8	2.4	1.0	0.7	1.6	1.5	1.0	0.3	1.2	1.2	2.8	0.3	1.5	1.1	0.0	0.0
C29	2.0	2.8	1.8	0.6	1.3	0.4	0.5	0.0	0.6	1.7	0.0	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	2.3	1.3	0.0
C3	0.0	1.4	1.6	0.5	0.6	0.0	0.0	0.0	0.3	1.9	0.0	0.0	0.2	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	0.2
C31	1.8	1.8	2.1	0.3	0.9	1.2	0.0	0.6	0.9	0.2	1.7	0.6	1.1	0.0	0.0	0.2	1.4	1.5	0.9	0.2
C32	2.0	1.5	0.0	0.0	2.9	1.9	1.3	0.9	1.3	2.1	1.6	0.0	0.0	1.3	1.1	0.0	1.2	1.3	0.7	0.2
C33	1.4	0.0	1.7	0.9	1.3	0.8	0.6	0.7	0.8	1.9	1.6	0.3	0.0	1.3	1.3	0.4	1.3	1.3	1.8	0.2
C34	0.0	2.3	1.4	1.0	0.0	1.9	0.7	0.6	0.6	2.1	1.1	0.5	1.2	1.2	1.8	0.5	0.0	1.2	0.0	0.1
C35	1.8	2.3	2.3	0.5	1.1	1.8	0.0	0.5	0.8	0.0	1.5	0.2	1.1	1.3	1.2	0.4	1.2	0.0	1.7	0.3
C36	0.0	0.0	1.8	1.2	0.0	2.2	2.5	0.0	0.0	2.2	1.6	0.0	0.0	1.2	1.1	0.0	1.5	1.2	1.6	0.0
C37	1.8	1.7	2.0	0.0	1.5	1.6	1.3	0.6	1.4	1.1	1.8	1.3	1.3	1.2	1.1	0.3	0.0	1.3	0.0	0.8
C38	2.0	1.3	1.6	0.9	0.0	1.6	0.9	0.0	1.6	0.0	1.0	0.2	1.1	1.8	1.1	0.0	0.0	1.3	1.7	0.0
C39	1.9	2.7	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	1.8	0.0	0.2	0.3	0.0	0.0	0.3	1.1	0.0	1.1	0.0
C4	1.5	2.7	2.3	1.0	0.4	0.0	0.0	1.2	0.5	1.8	0.0	0.0	0.0	2.4	1.3	0.0	0.0	1.4	0.0	0.1
C41	1.1	2.3	2.2	0.5	0.7	0.0	0.8	0.2	0.9	2.8	1.7	0.9	0.0	1.2	2.5	0.5	0.8	1.9	1.3	0.2

	C42	1.8	0.0	1.7	1.2	0.5	2.0	1.5	0.0	1.4	2.0	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.3	1.2	0.0	0.3
	C43	0.0	2.0	1.2	0.0	1.3	0.0	0.0	0.7	0.7	0.0	1.5	0.2	1.5	1.1	1.2	0.2	0.0	0.0	1.7	0.2
	C44	1.9	1.6	1.9	1.0	0.0	2.1	1.4	0.0	0.7	2.0	1.3	0.0	1.2	2.7	1.8	0.4	1.2	0.0	1.0	0.1
	C45	0.0	2.3	2.2	0.9	0.7	1.7	1.2	1.0	1.0	2.8	1.5	0.6	1.1	1.1	1.2	0.5	0.8	0.0	1.7	0.4
	C46	1.1	2.5	0.0	0.0	1.7	2.5	0.0	0.0	1.7	2.4	1.5	0.0	0.0	1.1	1.2	0.6	0.8	1.2	1.9	1.5
	C47	1.2	1.6	0.0	0.3	0.8	2.7	0.3	0.0	0.0	0.0	1.7	1.1	0.0	2.7	1.3	0.3	1.1	1.3	1.9	0.1
	C48	2.0	1.2	1.3	0.5	1.1	1.1	0.5	1.1	1.5	0.0	1.0	0.0	1.1	0.0	1.2	0.0	0.0	1.4	1.5	0.0
	C49	1.4	2.0	1.7	0.4	0.8	2.7	0.6	0.9	0.0	1.8	0.0	0.0	2.8	1.2	1.1	0.0	1.2	1.2	0.6	0.4
	C50	1.5	2.2	0.0	0.7	0.9	1.0	1.4	0.0	0.6	1.7	0.0	0.4	0.0	1.1	0.0	0.2	1.3	0.0	1.6	0.2
R2	C1	1.6	2.0	2.3	1.0	1.4	2.4	1.1	0.0	1.0	2.9	1.7	0.0	1.2	2.8	0.0	0.0	1.0	1.5	0.0	0.3
	C2	2.3	3.1	0.0	0.5	0.4	1.1	0.9	0.6	1.4	2.1	1.4	0.5	2.3	0.0	0.0	0.5	1.7	1.2	1.2	0.8
	C3	2.2	2.0	1.4	1.2	0.9	0.0	1.4	0.4	0.8	1.9	1.4	0.5	1.3	1.1	0.0	0.3	0.0	0.0	1.2	0.3
	C4	1.1	2.2	0.0	0.4	0.3	2.8	0.7	0.0	0.7	2.1	1.2	0.3	0.0	2.8	0.0	0.5	0.0	1.8	1.1	0.0
	C5	1.8	3.1	2.2	1.0	0.0	2.7	2.6	0.4	0.9	2.8	1.4	0.3	2.1	0.0	1.1	0.0	1.5	0.0	1.4	0.2
	C6	1.4	2.8	2.4	0.6	1.2	0.5	1.6	0.5	1.6	0.0	1.6	0.0	0.0	1.8	0.0	0.0	1.7	1.9	0.0	0.1
	C7	1.3	1.4	1.7	0.4	0.7	2.8	1.5	1.1	0.0	1.2	2.0	1.1	2.9	2.4	1.2	0.3	0.0	1.7	1.6	0.6
	C8	1.1	1.1	1.8	0.5	0.0	2.1	0.0	0.0	1.3	0.0	0.9	0.2	1.3	0.0	1.2	0.4	1.8	0.0	0.0	0.1
	C9	1.6	2.5	1.8	0.5	0.7	0.6	1.0	1.0	0.7	2.0	0.0	0.0	2.7	2.3	1.1	0.4	1.3	1.5	1.3	1.2
	C10	1.8	2.5	1.3	0.3	1.3	2.7	0.9	0.0	0.0	2.0	0.0	0.2	0.2	0.0	0.0	0.5	1.6	1.6	1.9	0.0
	C11	2.0	2.4	2.3	0.4	1.6	0.0	1.8	0.5	1.3	0.4	1.8	0.3	0.0	2.9	1.2	0.3	0.0	1.8	1.6	0.1
	C12	1.8	1.1	1.7	1.0	0.0	0.0	0.6	0.7	1.4	2.3	1.7	0.0	0.0	1.1	1.2	0.0	0.0	0.0	1.1	0.0
	C13	2.1	3.3	2.5	0.5	1.3	1.5	0.0	0.0	1.1	1.7	1.6	0.6	2.6	1.3	0.0	0.5	1.3	1.8	1.3	0.2
	C14	2.1	3.0	2.3	1.2	0.5	2.4	1.7	0.3	0.0	0.0	1.3	0.8	0.0	1.2	1.3	0.5	1.4	0.0	1.3	0.3
	C15	0.0	2.7	1.7	1.1	1.1	2.5	0.3	1.1	1.1	0.3	1.6	0.4	0.0	1.3	1.8	0.3	0.0	1.4	0.0	1.6
	C16	2.0	2.2	1.7	1.0	1.1	1.0	1.4	0.6	0.0	2.0	1.8	0.0	1.1	1.2	0.0	0.8	0.0	0.0	1.7	0.0
	C17	1.4	2.6	1.6	0.8	0.9	2.0	0.0	0.5	0.0	1.2	2.0	1.1	1.3	0.0	1.3	0.0	1.2	1.3	1.5	0.3
	C18	1.1	1.4	1.3	0.8	0.0	2.2	0.0	0.0	1.6	0.0	0.9	0.4	1.2	0.0	1.2	0.5	1.2	0.0	0.0	1.0

C19	1.9	1.7	2.3	0.7	1.6	0.0	0.3	0.6	0.8	0.2	0.0	0.0	1.1	1.1	1.2	0.0	0.0	1.5	1.5	0.3
C2	0.0	1.4	1.1	0.9	1.3	1.7	0.5	0.4	0.0	0.2	1.2	0.3	1.2	1.3	1.1	0.0	1.7	0.0	1.6	0.1
C21	2.2	2.2	1.4	0.4	0.0	1.1	0.0	0.0	0.9	0.0	1.7	0.0	1.8	2.8	1.2	0.8	0.0	1.7	0.0	0.0
C22	1.6	1.3	0.0	0.5	0.8	2.4	0.0	0.0	1.6	2.1	1.6	0.0	0.0	1.2	3.0	0.0	1.2	1.6	1.2	0.0
C23	0.0	1.2	2.0	0.0	1.5	2.2	1.6	0.8	0.0	1.8	1.6	0.2	0.0	0.0	2.4	1.0	0.0	0.0	1.5	0.2
C24	2.3	1.4	2.0	0.3	0.5	0.6	1.1	0.0	0.0	0.0	1.1	0.3	2.1	1.2	2.7	0.8	1.5	1.4	0.0	0.0
C25	1.7	2.8	2.4	0.6	0.0	2.1	1.6	0.5	1.0	2.6	1.6	0.0	0.2	0.0	2.8	0.3	1.5	1.2	0.0	0.9
C26	1.6	2.7	1.2	0.4	0.4	1.7	1.1	0.0	1.8	0.0	1.9	0.3	2.1	0.2	1.2	0.0	0.0	1.4	1.3	0.0
C27	1.9	2.4	1.9	0.9	1.4	0.9	0.0	0.7	0.0	1.1	1.8	0.0	1.1	0.0	1.3	0.3	1.7	0.0	1.9	0.0
C28	1.2	2.7	1.2	1.1	0.0	0.0	1.6	0.5	1.4	2.4	1.0	1.0	0.0	1.2	2.8	0.8	1.2	1.2	0.0	0.0
C29	1.2	1.1	0.0	0.4	1.5	0.6	1.4	0.0	0.7	1.8	0.4	0.0	2.1	0.0	0.0	0.3	1.5	1.5	1.3	0.2
C3	2.0	3.2	2.5	0.7	1.3	1.5	0.9	0.2	0.5	2.3	0.0	0.6	0.0	2.8	1.2	0.0	1.2	0.0	1.5	0.2
C31	1.4	3.1	2.3	0.0	1.2	0.8	0.0	0.0	0.9	0.0	1.8	0.0	2.1	1.2	2.6	0.0	1.5	0.0	1.7	0.0
C32	1.8	1.7	2.1	0.0	1.8	1.3	2.7	0.4	1.5	2.2	1.6	0.0	1.3	1.1	0.0	0.2	1.8	1.6	1.1	0.3
C33	1.7	2.2	1.2	0.6	2.5	2.0	0.9	0.6	1.0	1.8	0.0	0.7	1.1	0.0	1.1	0.0	1.8	0.0	1.2	2.0
C34	1.6	2.6	1.6	0.9	0.9	2.6	0.6	0.8	0.8	2.3	1.2	0.8	0.0	0.0	1.2	0.0	0.0	1.2	0.0	0.3
C35	1.2	3.3	1.7	1.2	1.0	0.0	1.6	0.7	0.9	0.4	1.6	0.2	1.1	1.2	1.3	0.3	1.2	1.3	1.9	0.2
C36	1.8	0.0	1.2	0.8	1.0	1.4	1.8	0.0	2.0	0.0	1.7	0.8	1.3	1.2	1.2	0.2	1.3	1.8	0.0	0.0
C37	0.0	1.7	1.8	1.1	0.9	1.4	2.6	0.9	0.0	1.5	1.9	1.4	0.2	0.0	1.1	0.5	0.0	0.0	1.1	0.0
C38	1.3	2.4	1.3	1.2	0.9	2.4	1.8	1.2	1.4	1.7	1.1	0.0	0.0	0.0	2.8	0.4	1.1	1.5	1.2	0.0
C39	1.8	3.1	2.2	0.6	2.6	0.3	0.5	0.4	0.8	2.0	0.0	0.7	0.0	1.2	1.2	0.5	0.0	1.1	1.9	0.3
C4	1.4	3.3	1.5	0.8	1.6	1.2	2.8	0.4	0.0	2.2	0.8	0.7	0.0	0.0	1.1	0.0	1.5	1.8	1.2	0.0
C41	1.5	2.1	2.0	1.2	1.8	2.6	1.1	0.0	1.2	2.9	1.9	0.4	1.2	1.2	1.2	0.3	1.2	2.3	1.9	0.0
C42	1.7	2.6	1.7	0.9	0.9	0.0	1.0	1.0	1.7	2.1	1.8	0.0	0.0	0.2	1.1	0.0	1.6	0.0	1.6	0.3
C43	1.9	2.7	2.5	0.5	0.7	2.5	0.0	0.2	1.0	1.8	0.0	0.6	1.2	1.1	2.8	0.5	0.0	1.2	0.0	0.6
C44	2.2	2.2	3.0	0.0	1.5	1.5	1.6	0.4	0.6	2.3	1.1	0.7	0.0	1.2	0.0	0.5	1.5	1.4	1.2	0.0
C45	1.3	1.5	1.2	0.9	2.5	1.6	1.4	1.1	0.0	0.0	1.6	0.8	1.5	0.0	1.1	0.4	0.0	1.2	1.3	0.0

	C46	2.2	2.4	2.5	0.6	0.6	1.0	0.7	0.7	1.9	0.0	1.8	0.6	1.3	0.2	1.2	0.5	0.0	0.0	2.6	0.0
	C47	2.1	1.8	1.8	0.8	1.8	1.7	0.9	0.0	0.0	1.4	1.9	1.3	1.1	1.6	1.2	0.4	1.7	0.0	0.0	0.7
	C48	1.8	2.9	2.5	0.8	0.9	0.0	1.5	0.8	1.5	0.0	0.9	0.0	1.2	2.9	0.0	0.0	0.0	1.5	1.5	0.0
	C49	2.3	2.7	0.0	0.0	1.1	2.6	0.0	0.5	0.7	2.0	0.0	0.0	0.0	3.0	1.1	0.0	0.6	0.0	1.1	0.4
	C5	1.6	1.8	0.0	0.0	0.8	2.4	2.6	0.9	0.0	2.3	0.0	0.3	1.1	0.0	1.2	2.0	1.6	1.2	1.8	0.2
R3	C1	2.2	1.8	1.9	0.0	0.0	1.6	0.0	0.4	1.2	0.0	1.9	0.5	0.0	2.8	1.2	0.0	0.0	1.6	1.1	0.1
	C2	1.5	2.7	1.6	1.1	0.0	1.5	0.9	0.0	1.6	2.4	1.8	0.3	0.2	1.2	1.3	0.3	1.1	0.0	1.9	0.1
	C3	1.8	1.4	2.0	1.1	0.5	0.6	1.1	1.5	0.0	1.9	1.8	0.6	0.0	0.0	0.0	2.0	1.6	0.0	1.2	1.8
	C4	1.9	1.3	2.5	0.0	1.4	0.3	1.5	0.0	0.0	2.1	1.1	0.6	1.3	1.2	2.8	0.3	1.2	1.5	1.8	0.0
	C5	1.1	0.0	1.2	0.6	1.4	0.0	1.8	0.0	1.1	0.2	0.0	0.9	1.2	0.0	2.8	0.4	1.3	1.2	0.0	0.1
	C6	1.1	0.0	3.1	0.7	1.0	2.6	2.1	1.1	1.8	0.7	1.8	0.0	1.1	0.0	1.8	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0
	C7	2.3	1.9	1.2	0.5	0.0	1.6	2.8	0.9	0.0	1.5	2.0	1.5	0.0	1.2	0.0	0.5	0.3	1.7	1.6	0.7
	C8	1.4	2.0	1.2	0.4	1.7	1.8	2.1	1.1	1.4	0.0	0.0	0.4	1.3	0.0	3.0	0.0	1.2	0.0	1.9	0.4
	C9	2.9	1.8	1.9	0.9	1.1	0.5	0.9	0.0	0.6	1.2	1.6	0.4	1.1	2.9	1.2	0.4	2.8	0.0	2.1	0.0
	C1	1.6	2.0	1.2	1.0	1.3	2.2	0.0	0.8	0.7	1.6	0.0	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.2	2.2	0.3
	C11	2.2	1.1	1.3	1.0	1.1	2.4	2.0	0.7	1.1	1.5	2.1	0.4	1.4	1.2	1.1	0.0	1.7	1.7	1.2	0.2
	C12	2.1	1.8	1.6	0.5	1.8	1.0	0.0	0.5	1.6	2.7	1.9	0.0	0.9	1.1	1.2	0.3	0.0	0.0	1.3	0.0
	C13	1.1	2.2	0.0	0.6	0.0	3.0	1.3	0.8	1.2	1.9	1.8	0.5	1.1	0.0	0.0	0.3	1.3	1.3	1.4	0.3
	C14	2.0	2.3	1.9	0.6	0.9	0.0	1.5	0.4	0.0	0.0	1.2	0.8	1.2	0.0	1.1	0.0	1.8	0.0	0.0	0.0
	C15	1.2	0.0	2.4	1.0	1.1	2.5	1.3	0.9	1.1	1.8	0.0	0.0	1.2	2.2	0.0	0.5	1.9	1.8	1.5	0.0
	C16	1.2	1.8	1.8	1.1	1.5	1.6	1.4	1.0	1.8	0.6	1.8	0.4	0.0	1.2	1.8	0.3	1.1	1.6	0.9	0.2
	C17	1.7	1.2	1.4	0.0	0.0	2.4	2.0	0.0	0.0	1.5	1.6	1.6	1.2	2.3	3.0	0.5	1.6	0.0	1.3	0.3
	C18	1.5	2.1	1.8	0.9	0.0	3.1	0.0	1.3	1.4	0.0	0.8	0.2	0.4	0.0	1.1	0.3	0.0	2.8	1.5	0.0
	C19	0.0	1.7	1.4	1.0	0.8	2.4	2.3	0.0	0.0	1.9	0.0	0.0	1.3	2.9	1.3	0.3	1.2	0.0	1.4	0.0
	C2	1.3	1.6	2.2	1.0	1.7	0.0	1.1	1.1	0.7	1.8	0.3	0.5	0.0	1.2	1.1	0.8	1.5	1.3	1.1	0.1
	C21	1.1	1.6	1.2	0.4	1.6	1.3	2.2	1.1	1.0	2.3	1.5	0.6	0.0	1.1	3.0	0.0	0.0	1.2	1.4	0.0
	C22	1.5	2.0	1.3	1.1	0.0	2.7	0.0	0.6	1.7	0.0	1.8	0.0	1.1	2.9	1.2	1.0	1.8	0.0	0.0	1.2

C23	1.3	0.0	2.2	2.1	0.6	1.1	1.7	0.0	1.2	0.0	1.7	0.0	1.2	0.0	1.2	0.0	0.0	1.3	1.1	0.9
C24	1.1	1.5	1.1	0.6	2.7	0.0	0.4	0.5	0.8	2.4	1.4	0.4	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	1.7	0.6	0.0
C25	0.0	2.7	1.7	0.0	1.7	1.9	1.7	0.0	1.2	0.0	1.9	0.5	1.1	0.0	1.3	0.0	1.6	0.0	0.3	0.5
C26	2.3	2.4	2.1	0.4	0.9	2.6	1.4	0.8	2.0	0.7	1.7	0.0	1.2	1.1	1.3	0.3	1.7	1.6	0.0	0.2
C27	2.0	2.5	2.1	0.5	1.5	2.9	2.1	0.6	0.0	1.7	1.9	0.8	1.8	0.0	0.0	0.4	0.0	1.8	2.9	0.0
C28	1.4	0.0	2.1	1.2	1.3	0.0	1.4	0.7	1.6	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	1.2	0.4	1.7	1.7	0.1	0.1
C29	1.1	0.0	1.3	1.1	0.4	0.9	0.0	0.0	0.0	2.3	0.3	0.0	0.2	1.3	1.2	1.2	1.3	0.0	1.7	0.0
C3	1.8	1.7	1.2	0.6	1.1	1.4	1.1	0.7	0.7	2.5	0.0	0.4	0.0	0.0	1.1	0.6	1.7	0.0	0.8	2.8
C31	2.1	1.6	2.3	0.7	0.5	1.1	0.5	0.0	1.3	0.0	1.6	0.0	1.2	0.0	1.1	0.5	1.4	1.3	1.3	0.1
C32	1.7	2.6	1.6	0.7	0.3	2.7	1.6	1.0	1.6	2.6	1.9	0.4	1.3	2.9	2.8	0.0	1.6	1.1	0.0	0.3
C33	0.0	3.3	1.8	0.0	1.0	1.8	1.3	0.7	0.0	2.0	1.8	0.5	1.2	0.0	1.1	0.5	0.0	0.0	1.6	0.0
C34	1.7	1.9	1.2	0.4	0.7	1.8	0.9	0.0	0.9	2.5	1.5	0.8	1.2	0.0	0.0	0.3	0.0	1.4	1.8	0.1
C35	1.3	2.4	1.9	1.1	0.0	2.5	0.4	0.8	1.1	3.1	2.0	0.0	1.3	1.1	1.2	0.5	1.3	1.2	0.0	0.0
C36	0.0	2.3	2.4	0.0	1.5	2.9	0.0	0.6	1.9	0.0	1.8	0.2	1.2	1.1	0.0	0.8	1.1	0.0	0.9	0.2
C37	1.4	3.0	2.9	0.4	0.0	2.5	0.7	0.5	0.0	1.7	1.4	1.2	1.3	0.0	1.0	0.2	1.8	2.1	1.3	0.7
C38	1.8	2.1	1.3	0.0	1.3	0.4	2.3	0.5	1.6	0.0	0.9	0.0	0.0	1.1	1.1	0.0	1.6	1.6	1.5	1.3
C39	1.2	2.5	1.5	1.1	1.3	0.0	0.8	0.6	0.0	2.4	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	1.3	0.2
C4	1.8	3.1	1.8	1.2	1.5	2.2	1.2	1.1	1.5	2.6	0.0	0.5	1.8	1.1	1.3	0.6	0.0	1.8	1.3	0.0
C41	1.6	2.7	2.4	1.7	1.3	2.7	2.0	1.6	1.3	0.0	1.4	0.5	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	1.8	1.6	1.8
C42	1.6	1.7	2.4	1.2	1.8	1.9	0.9	0.0	1.7	0.7	1.9	0.6	1.1	1.8	0.0	0.4	1.5	1.4	1.2	0.0
C43	1.1	2.3	1.5	0.5	1.2	1.6	1.2	0.9	1.0	2.1	1.8	0.5	1.1	1.1	1.2	1.0	0.0	1.3	1.7	1.2
C44	1.4	2.6	2.1	0.7	1.6	1.7	1.0	0.6	1.0	0.0	1.5	0.8	1.3	1.1	1.3	0.0	1.2	0.0	2.3	1.4
C45	1.1	3.0	2.4	1.0	0.5	1.4	1.0	0.7	1.3	2.7	0.0	0.3	0.0	1.3	1.1	3.0	1.2	1.7	0.3	0.3
C46	1.1	2.9	1.8	0.3	1.6	2.9	2.2	0.7	2.0	0.9	0.0	0.0	2.0	2.7	1.1	0.4	0.0	1.6	1.7	0.0
C47	1.7	3.1	1.5	2.1	0.6	2.5	1.7	0.6	0.0	0.0	1.9	1.5	1.1	0.0	1.2	0.3	1.5	0.0	3.0	0.0
C48	1.8	1.7	1.3	0.5	0.6	0.0	1.4	0.4	1.7	0.0	1.0	0.7	0.2	2.4	1.2	0.0	1.3	1.1	1.8	0.2
C49	0.0	1.3	1.9	0.6	1.9	2.0	1.7	0.5	0.8	2.6	0.4	0.0	2.5	1.1	3.1	0.0	0.0	2.2	0.8	0.0

	C5	1.1	2.2	2.1	0.8	0.7	0.0	1.9	0.0	0.6	3.0	0.6	0.6	0.0	1.2	1.1	0.3	0.0	1.8	1.4	0.0
R4	C1	0.0	1.1	2.3	1.0	1.2	2.0	0.5	0.5	1.1	2.8	2.0	0.0	1.1	1.1	1.1	0.0	1.5	0.0	0.0	0.3
	C2	1.8	2.6	0.0	1.1	0.4	1.4	0.0	0.2	1.7	3.0	2.0	0.6	1.2	1.3	0.0	0.3	1.8	1.9	1.6	0.3
	C3	1.2	3.0	2.1	1.0	0.0	1.4	1.3	1.0	0.0	2.2	2.0	0.6	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0	1.3	0.0	0.7
	C4	0.0	2.4	2.4	0.8	0.9	0.6	1.4	0.6	0.0	2.6	1.4	0.6	0.0	2.8	1.2	0.4	0.0	1.8	1.8	0.3
	C5	2.2	2.6	0.0	0.8	2.3	2.7	1.5	1.2	0.9	0.0	1.7	0.0	1.1	1.2	0.0	0.4	1.5	1.1	2.8	0.3
	C6	1.9	1.1	1.8	0.5	0.0	0.5	2.1	1.1	2.0	1.1	1.9	0.7	0.0	0.0	1.1	0.5	1.7	0.0	1.7	0.1
	C7	1.4	2.1	2.4	1.0	0.0	2.7	1.3	1.5	0.6	1.7	2.2	1.6	1.8	1.2	1.3	0.9	1.5	1.7	1.6	2.3
	C8	2.1	1.7	1.6	0.4	0.9	2.5	0.0	1.2	1.5	0.4	1.0	0.2	1.1	1.2	1.2	0.7	0.0	0.0	1.3	0.2
	C9	2.1	1.9	1.2	0.0	2.1	2.2	2.3	0.0	1.0	2.6	0.0	0.5	1.1	1.2	1.3	0.0	1.7	1.5	1.8	0.0
	C1	0.0	2.4	1.9	0.8	1.4	2.1	0.7	1.1	0.0	0.3	0.0	0.0	1.5	1.2	2.4	0.4	1.5	1.7	1.8	0.0
	C11	1.8	1.1	0.0	0.0	2.2	2.8	2.6	1.5	1.0	0.0	2.4	0.7	2.3	0.0	2.8	0.5	1.5	1.3	0.0	0.0
	C12	1.7	2.8	1.8	1.0	0.0	1.0	1.0	0.9	1.7	2.7	1.7	0.4	1.1	1.3	2.8	0.4	0.0	1.2	2.6	0.3
	C13	1.9	2.8	1.3	0.9	1.4	2.2	0.0	0.3	0.9	0.0	0.0	0.6	1.1	0.0	1.3	0.0	1.6	2.0	2.4	0.2
	C14	2.2	1.8	2.1	1.0	2.1	0.7	1.5	0.7	0.7	2.6	1.4	0.9	0.2	3.3	0.0	0.0	0.8	2.1	1.6	0.2
	C15	1.5	3.0	2.0	0.6	2.2	0.8	2.1	1.1	1.2	0.3	1.9	0.4	0.0	1.1	1.1	0.4	0.0	0.0	2.4	0.0
	C16	2.1	1.9	2.2	0.4	0.9	2.5	1.5	0.6	2.2	0.7	2.3	0.0	1.2	1.2	0.0	0.0	0.0	1.3	0.0	0.1
	C17	1.5	2.3	1.7	0.8	1.1	1.6	0.0	0.0	1.5	1.9	2.2	1.6	1.4	0.2	2.3	0.5	1.7	1.9	3.3	0.2
	C18	1.8	1.8	2.2	0.6	0.0	2.2	0.7	0.8	0.0	0.0	1.0	0.2	0.0	0.0	1.1	0.3	1.5	0.0	1.4	1.9
	C19	0.0	2.6	1.8	0.4	0.8	2.2	0.0	1.2	0.0	2.6	0.6	0.2	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	1.4	0.0	0.3
	C2	0.0	0.0	0.0	1.6	2.2	1.2	2.5	0.0	1.7	2.9	0.0	0.2	0.0	1.2	1.1	0.5	1.3	1.5	0.0	1.8
	C21	1.3	1.5	1.6	0.6	1.4	2.5	2.5	1.2	1.1	0.0	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	0.0	1.7	0.0
	C22	1.1	3.0	1.6	0.5	0.9	0.0	0.7	0.4	1.9	0.0	2.1	0.7	1.1	1.1	1.1	0.3	1.2	1.4	1.5	0.3
	C23	1.9	3.3	2.3	1.0	1.3	0.0	1.2	0.4	1.1	2.1	2.1	0.3	0.0	2.5	0.0	0.3	0.0	1.2	1.4	0.3
	C24	1.9	2.9	2.3	0.6	0.9	2.5	0.0	0.5	0.0	2.7	1.5	0.8	1.1	0.0	2.2	0.0	0.5	1.5	1.6	0.0
	C25	0.0	1.9	2.9	0.5	0.0	1.3	2.0	0.0	1.2	2.6	1.8	0.6	1.2	1.3	1.2	0.5	1.6	0.0	1.6	2.8
	C26	1.2	2.8	2.0	0.5	0.6	3.0	0.0	0.4	2.3	1.0	1.9	0.0	1.8	0.0	1.3	0.0	1.7	1.8	0.0	1.6

C27	1.1	2.4	1.1	0.6	2.4	2.4	0.0	0.7	2.2	1.7	2.3	0.0	0.0	0.0	1.2	2.0	1.2	1.8	0.0	0.1
C28	1.4	1.4	1.8	0.3	1.0	1.9	2.3	0.0	2.0	1.2	1.3	0.4	1.2	1.3	1.3	0.0	0.0	1.7	1.8	1.8
C29	2.0	2.4	2.0	0.7	0.6	0.0	2.2	1.0	1.5	0.0	0.0	0.3	1.1	0.0	1.1	0.5	1.4	0.0	1.3	0.0
C3	1.7	2.4	2.0	1.1	1.6	0.7	2.5	0.7	0.0	2.5	0.0	0.4	1.3	1.1	0.0	0.9	0.0	1.2	1.6	0.3
C31	1.7	3.0	2.2	1.2	1.8	2.7	1.7	0.0	1.2	0.0	2.5	0.8	0.0	1.1	1.1	3.0	1.4	1.4	0.3	0.0
C32	2.1	1.1	2.2	0.0	1.6	2.1	2.5	0.0	1.7	0.6	2.3	0.3	1.1	1.2	2.8	0.0	1.6	0.0	0.0	1.5
C33	1.6	3.0	1.4	0.7	1.1	2.0	1.4	0.5	1.1	2.5	2.2	0.0	0.0	1.2	1.1	0.0	1.3	1.2	1.2	0.0
C34	2.0	1.8	0.0	0.7	1.6	2.0	2.0	0.0	0.0	0.4	1.5	0.9	0.2	1.2	2.5	0.4	1.7	1.3	0.0	0.1
C35	1.5	2.8	1.1	0.5	0.0	1.2	1.5	0.6	1.1	0.0	2.0	0.4	1.1	1.3	1.2	0.4	0.0	0.0	1.7	0.0
C36	1.3	2.2	1.4	0.0	0.8	0.0	1.9	0.6	2.2	2.5	2.1	0.4	0.0	0.0	1.0	0.4	1.8	0.0	1.9	0.1
C37	1.3	1.4	1.2	0.9	1.6	1.2	0.9	0.7	0.0	2.0	2.3	1.6	1.8	2.2	0.0	0.4	1.3	1.7	0.4	0.0
C38	1.8	2.6	2.7	3.0	0.0	2.4	1.0	0.0	2.0	1.0	1.2	0.3	0.0	2.2	0.0	0.0	1.8	1.4	0.0	0.2
C39	2.0	2.7	2.1	0.4	1.3	2.1	0.0	0.4	1.2	2.2	0.0	0.0	1.1	2.9	0.0	0.4	0.0	1.8	1.8	0.0
C4	1.6	1.5	1.9	0.3	2.8	0.4	0.7	0.0	0.5	2.6	0.0	0.6	1.2	1.1	1.2	0.0	1.3	1.7	1.2	0.0
C41	2.2	1.5	0.0	0.0	2.0	2.9	0.0	0.2	1.3	0.0	2.8	0.5	0.0	1.2	1.2	0.0	1.1	0.0	1.8	0.2
C42	1.2	1.8	1.2	0.8	0.0	0.0	1.8	0.7	1.9	2.5	0.0	0.4	1.1	0.3	0.0	0.0	0.0	1.4	0.0	0.8
C43	1.9	1.8	0.0	0.8	0.6	0.8	1.9	0.8	1.1	0.6	2.1	0.0	0.0	1.3	1.1	0.5	1.9	0.0	1.7	0.0
C44	1.7	2.6	1.3	0.6	0.6	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	1.6	1.2	1.1	1.3	1.2	0.4	1.7	0.0	1.3	0.3
C45	1.8	1.9	1.7	0.6	2.1	0.3	1.4	0.9	1.0	2.6	1.7	0.5	1.2	1.3	0.0	0.9	0.0	1.8	0.0	0.0
C46	2.5	1.4	1.2	1.0	1.9	1.7	2.4	0.4	2.5	1.2	0.5	0.2	0.0	0.0	1.2	0.3	1.1	1.5	0.8	0.2
C47	0.0	2.5	1.4	3.1	1.3	2.0	0.0	0.5	2.0	2.0	0.0	0.0	0.0	1.2	0.0	0.5	0.0	1.6	1.1	0.0
C48	1.7	2.3	0.0	0.3	0.0	0.0	1.4	0.0	1.9	0.8	1.4	0.6	0.0	1.2	1.2	0.0	0.5	1.1	0.0	0.1
C49	2.0	0.0	2.1	0.8	0.0	2.6	2.1	1.1	1.1	0.0	0.0	0.5	0.3	1.2	1.0	0.0	0.0	0.0	1.3	0.8
C5	2.0	2.6	1.3	2.6	1.1	2.8	2.4	0.6	0.0	2.9	0.8	0.8	1.1	1.1	1.1	0.6	0.0	1.6	0.0	0.0

Nota: 0.0 = Semillas no germindas

Anexo 06.

Resultados

06-A: Semillas no Germinadas

CELDA	PUNTO DE MUESTREO M1				PUNTO DE MUESTREO M2				PUNTO DE MUESTREO M3				PUNTO DE MUESTREO M4			
	<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>	
	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>
R1	7	8	8	10	9	9	12	21	9	10	10	26	18	15	13	18
R2	4	1	6	6	7	8	10	15	14	12	9	17	17	17	12	17
R3	5	6	1	7	9	8	7	13	12	15	11	13	15	20	12	15
R4	7	2	8	5	11	7	11	12	11	12	11	11	19	12	15	18
PROMEDIO	5.75	4.25	5.75	7.00	9.00	8.00	10.00	15.25	11.50	12.25	10.25	16.75	17.25	16.00	13.00	17.00

06-B: Semillas Germinadas en bioensayos de 50 celdas para cada especie de crucífera

CELDAS	PUNTO DE MUESTREO M1				PUNTO DE MUESTREO M2				PUNTO DE MUESTREO M3				PUNTO DE MUESTREO M4			
	<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>	
	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>
R1	43	42	42	40	41	41	38	29	41	40	40	24	32	35	37	32
R2	46	49	44	44	43	42	40	35	36	38	41	33	33	33	38	33
R3	45	44	49	43	41	42	43	37	38	35	39	37	35	30	38	35
R4	43	48	42	45	39	43	39	38	39	38	39	39	31	38	35	32
PROMEDIO	44.25	45.75	44.25	43.00	41.00	42.00	40.00	34.75	38.50	37.75	39.75	33.25	32.75	34.00	37.00	33.00

06-C: Cálculo de la longitud media de Radícula

CELDAS	PUNTO DE MUESTREO M1				PUNTO DE MUESTREO M2				PUNTO DE MUESTREO M3				PUNTO DE MUESTREO M4			
	<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>	
	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>
R1	1.470	2.071	1.776	0.738	1.129	1.734	1.192	0.683	1.015	1.743	1.440	0.575	1.303	1.617	1.595	0.409
R2	1.715	2.278	1.866	0.750	1.179	1.748	1.343	0.640	1.153	1.797	1.485	0.588	1.442	1.555	1.526	0.509
R3	1.582	2.123	1.796	0.860	1.195	1.917	1.460	0.792	1.284	1.889	1.515	0.624	1.180	1.693	1.532	0.591
R4	1.737	2.198	1.829	0.876	1.410	1.833	1.664	0.758	1.456	1.858	1.800	0.603	1.171	1.382	1.440	0.600
PROMEDIO	1.63	2.17	1.82	0.81	1.23	1.81	1.41	0.72	1.23	1.82	1.56	0.60	1.27	1.56	1.52	0.53

06-D: Germinación relativa de radícula (GRS)

CELDAS	PUNTO DE MUESTREO M1				PUNTO DE MUESTREO M2				PUNTO DE MUESTREO M3				PUNTO DE MUESTREO M4			
	<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>	
	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>
R1	95.349	97.619	90.476	72.500	95.349	95.238	95.238	60.000	74.419	83.333	88.095	80.000	79.070	83.333	90.476	77.500
R2	93.478	85.714	90.909	79.545	78.261	77.551	93.182	75.000	71.739	67.347	86.364	75.000	69.565	65.306	84.091	68.182
R3	91.111	95.455	87.755	86.047	84.444	79.545	79.592	86.047	77.778	68.182	77.551	81.395	71.111	72.727	89.796	69.767
R4	90.698	89.583	92.857	84.444	90.698	79.167	92.857	86.667	72.093	79.167	83.333	71.111	76.744	72.917	83.333	73.333
PROMEDIO	92.66	92.09	90.50	80.63	87.19	82.88	90.22	76.93	74.01	74.51	83.84	76.88	74.12	73.57	86.92	72.20

06-E: Cálculo del crecimiento relativo de radícula (CRR)

CELDAS	PUNTO DE MUESTREO M1				PUNTO DE MUESTREO M2				PUNTO DE MUESTREO M3				PUNTO DE MUESTREO M4			
	<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>	
	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>
R1	76.833	83.717	67.116	92.577	69.034	84.121	81.072	77.966	88.662	78.069	89.776	55.508	88.049	77.241	89.043	56.993
R2	68.742	76.732	71.949	85.333	67.209	78.917	79.605	78.384	84.096	68.255	81.800	67.879	83.080	65.997	78.652	63.556
R3	75.534	90.293	81.321	92.031	81.165	88.969	84.379	72.557	74.579	79.772	85.281	68.734	92.631	74.197	78.233	70.117
R4	81.179	83.377	91.006	86.562	83.836	84.530	98.438	68.821	67.405	62.859	78.750	68.528	82.682	69.936	89.219	72.681
PROMEDIO	75.57	83.53	77.85	89.13	75.31	84.13	85.87	74.43	78.69	72.24	83.90	65.16	86.61	71.84	83.79	65.84

06-F: Índice de Germinación (IG)

CELDAS	PUNTO DE MUESTREO M1				PUNTO DE MUESTREO M2				PUNTO DE MUESTREO M3				PUNTO DE MUESTREO M4			
	<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>	
	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis L.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifera)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis L.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifera)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis L.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifera)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis L.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifera)</i>
R1	73.259	81.724	60.724	67.119	65.823	80.115	77.212	46.780	65.981	65.057	79.088	44.407	69.620	64.368	80.563	44.169
R2	64.259	65.771	65.408	67.879	52.598	61.201	74.178	58.788	60.330	45.968	70.646	50.909	57.795	43.100	66.139	43.333
R3	68.820	86.188	71.364	79.189	68.539	70.771	67.159	62.432	58.006	54.390	66.136	55.946	65.871	53.961	70.250	48.919
R4	73.628	74.692	84.505	73.096	76.037	66.919	91.406	59.645	48.594	49.763	65.625	48.731	63.454	50.995	74.349	53.299
PROMEDIO	69.99	77.09	70.50	71.82	65.75	69.75	77.49	56.91	58.23	53.79	70.37	50.00	64.18	53.11	72.83	47.43

06-G: Índice del porcentaje de germinación normalizada (IGN)

CELDA	PUNTO DE MUESTREO M1				PUNTO DE MUESTREO M2				PUNTO DE MUESTREO M3				PUNTO DE MUESTREO M4			
	<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>	
	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>
R1	-0.047	-0.024	-0.095	-0.275	-0.047	-0.048	-0.048	-0.400	-0.256	-0.167	-0.119	-0.200	-0.209	-0.167	-0.095	-0.225
R2	-0.065	-0.143	-0.091	-0.205	-0.217	-0.224	-0.068	-0.250	-0.283	-0.327	-0.136	-0.250	-0.304	-0.347	-0.159	-0.318
R3	-0.089	-0.045	-0.122	-0.140	-0.156	-0.205	-0.204	-0.140	-0.222	-0.318	-0.224	-0.186	-0.289	-0.273	-0.102	-0.302
R4	-0.093	-0.104	-0.071	-0.156	-0.093	-0.208	-0.071	-0.133	-0.279	-0.208	-0.167	-0.289	-0.233	-0.271	-0.167	-0.267
PROMEDIO	-0.07	-0.08	-0.10	-0.19	-0.13	-0.17	-0.10	-0.23	-0.26	-0.25	-0.16	-0.23	-0.26	-0.26	-0.13	-0.28

06-H: Índice de elongación del radical (IER)

CELDAS	PUNTO DE MUESTREO M1				PUNTO DE MUESTREO M2				PUNTO DE MUESTREO M3				PUNTO DE MUESTREO M4			
	<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>		<i>Brassica oleracea</i>		<i>Brassica rapa</i>	
	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>	<i>Col (Brassica oleracea var. capitata)</i>	<i>Coliflor (Brassica oleracea var. botrytis l.)</i>	<i>Col China (Brassica rapa subsp. Pekinensis)</i>	<i>Mostaza de campo (Brassica rapa subsp. Oleifer a)</i>
R1	-0.232	-0.163	-0.329	-0.074	-0.310	-0.159	-0.189	-0.220	-0.113	-0.219	-0.102	-0.445	-0.120	-0.228	-0.110	-0.430
R2	-0.313	-0.233	-0.281	-0.147	-0.328	-0.211	-0.204	-0.216	-0.159	-0.317	-0.182	-0.321	-0.169	-0.340	-0.213	-0.364
R3	-0.245	-0.097	-0.187	-0.080	-0.188	-0.110	-0.156	-0.274	-0.254	-0.202	-0.147	-0.313	-0.074	-0.258	-0.218	-0.299
R4	-0.188	-0.166	-0.090	-0.134	-0.162	-0.155	-0.016	-0.312	-0.326	-0.371	-0.213	-0.315	-0.173	-0.301	-0.108	-0.273
PROMEDIO	-0.24	-0.16	-0.22	-0.11	-0.25	-0.16	-0.14	-0.26	-0.21	-0.28	-0.16	-0.35	-0.13	-0.28	-0.16	-0.34