

UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS
FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



TESIS

**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE BIO ACUMULACIÓN DE
HIERRO (Fe) EN LA SCIRPUS CALIFORNICUS (TOTORA) EN
HUMEDALES ARTIFICIALES PARA EL TRATAMIENTO DEL AGUA
DEL LAGO CHINCHAYCOCHA JUNÍN”**

**PRESENTADO POR EL BACHILLER:
DE LA PEÑA ALFARO ELVIS JONATAN**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AMBIENTAL
HUANCAYO-PERÚ**

2015

**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE BIO
ACUMULACIÓN DE HIERRO (Fe) EN LA SCIRPUS
CALIFORNICUS (TOTORA) EN HUMEDALES
ARTIFICIALES PARA EL TRATAMIENTO DEL AGUA DEL
LAGO CHINCHAYCOCHA JUNÍN”**

DEDICATORIA

A mi familia Jesús, Victoria, David, Jhul, Keren y Daniela por ser los más importantes en mi vida.

AGRADECIMIENTO

A partir de este momento se cierra un importante capítulo de mi vida y mediante estas líneas quiero expresar mi gratitud a todas las personas que colaboraron a que esto se hiciera realidad.

Agradezco a Dios por brindarme la oportunidad de cumplir mis metas, culminar mi carrera profesional y hacer feliz mi existencia con todo aquello que día a día se presenta en mi vida.

A mis padres Jesús De la Peña Licares, Victoria Alfaro Ancalle y toda mi hermosa familia quienes con su optimismo y fe me dan el valor para asumir con responsabilidad y fortaleza los retos que a lo largo de mi vida se presentan.

A mi asesora de proyecto Dra. Galia Manyari Cervantes por todas las horas de dedicación, por sus consejos, sugerencias y sus críticas (constructivas siempre), ya que su colaboración fue de vital importancia para la realización de este proyecto.

Al Director de Escuela Ing. José Valer Silva por todo el apoyo académico y profesional.

A todos los docentes de la Universidad Alas Peruanas- filial Huancayo, por el tiempo dedicado a nuestro aprendizaje, por sus esfuerzos, enseñanzas y por ser los forjadores de las bases de nuestra vida profesional.

A mi compañera Sheyla Muñoz Borja, quien me brindó su apoyo incondicional en el transcurso de la elaboración de mi proyecto de tesis.

A todos, mi más sincero agradecimiento.

INDICE DE CONTENIDOS

1.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.1.	Caracterización de la Realidad Problemática	1
1.2.	Formulación del Problema	2
1.2.1.	Problema General	2
1.2.2.	Problemas Específicos	2
1.3.	Objetivos	3
1.3.1.	Objetivo General.....	3
1.3.2.	Objetivos Específicos	3
1.4.	Justificación	3
1.5.	Importancia	4
1.6.	Limitaciones	4
2.	FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	5
2.1.	Marco Referencial.....	5
2.1.1.	Antecedentes de la Investigación.....	5
2.1.2.	Referencias Históricas.....	7
2.2.	Marco Legal	9
2.3.	Marco Conceptual.....	9
2.4.	Marco Teórico	12
2.4.1.	Fitodepuracion y Humedales.....	12
2.4.2.	Plantas Propias de Los Humedales.....	13
2.4.3.	Tipos de Plantas en Humedales.....	14
2.4.4.	Los Humedales Artificiales como Ecosistemas	19

2.4.5.	Microorganismos y Organismos Inferiores Heterótrofos.....	19
2.4.6.	Algas	21
2.4.7.	Vegetación	22
2.4.8.	Actuación Pasiva de la Vegetación en la Depuración	23
2.4.9.	Procesos activos de la vegetación en la depuración	23
2.4.10.	Fauna.....	27
2.4.11.	Procesos de Remoción de Contaminantes en los Humedales.....	28
2.4.12.	Sólidos en Suspensión.....	29
2.4.13.	Materia Orgánica.....	31
2.4.14.	Nitrógeno.....	34
2.4.15.	Procesos Físico-Químicos de Remoción de Nitrógeno	34
2.4.16.	Procesos Biológicos de Remoción de Nitrógeno	35
2.4.17.	Comportamiento del Sistema Respecto al Nitrógeno.....	37
2.4.18.	Fósforo.....	40
2.4.19.	Procesos Físico-Químicos de Remoción de Fósforo	40
2.4.20.	Procesos Biológicos de Transformación de los Fosfatos	42
2.4.21.	Comportamiento del Sistema Respecto al Fósforo	42
2.4.22.	Patógenos	43
2.4.23.	Metales Traza	44
2.4.24.	Importancia Fisiológica del Hierro	45
2.4.25.	Absorción y Asimilación de Hierro.....	46
2.4.26.	Absorción de Hierro por Ustilago Sphaerogena y Otros Microorganismos.....	47
2.4.27.	Absorción de Hierro por Plantas	49

2.4.28.	Papel del Hierro en el Estrés Oxidativo.....	59
2.4.29.	Absorción de Hierro por Simbiontes Diazótrofos.....	60
2.4.30.	Competencia por Hierro en la Rizosfera y Fitopatogenicidad	61
2.4.31.	Consecuencias Fisiológicas de la Carencia de Hierro	62
2.4.32.	Diferencias Inter Intraespecificas en la Habilidad para Asimilar Hierro	63
2.4.33.	Corrección de la Carencia de Hierro	64
2.4.34.	Biodisponibilidad del Fe	66
2.4.35.	Totora “Scirpus Californicus”	67
3.	PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO	70
3.1.	Metodología	70
3.1.1.	Método	70
3.1.2.	Tipo de la Investigación.....	72
3.1.3.	Nivel de la Investigación.....	72
3.2.	Diseño de la Investigación	72
3.3.	Hipótesis de la Investigación.....	73
3.3.1.	Hipótesis General.....	73
3.3.2.	Hipótesis Específicas	73
3.4.	Variables	73
3.4.1.	Variable Independiente.....	73
3.4.2.	Variable Dependiente	74
3.5.	Cobertura del Estudio.	74
3.5.1.	Universo	74
3.5.2.	Población.....	74

3.5.3.	Muestra	74
3.5.4.	Muestreo	74
3.6.	Técnicas e Instrumentos	74
3.6.1.	Técnicas de la Investigación	74
3.6.2.	Instrumentos de la Investigación	74
3.7.	Procesamiento Estadístico de la Información.	75
3.7.1.	Estadísticos	75
3.7.2.	Representación	75
3.7.3.	Técnica de Comprobación de la Hipótesis	75
4.	ORGANIZACIÓN, PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	76
4.1.	Resultados	76
4.1.1.	Resultados de Parámetros Medidos para un pH 6	76
4.1.2.	Resultados de Parámetros Medidos para un pH 7	78
4.1.3.	Resultados de Parámetros Medidos para un pH 8	80
4.1.4.	Disminución de Concentración de Fe.....	82
4.1.5.	Parámetros Promedios Según el pH	84
4.1.6.	Remoción de Fe ppm en los diferentes pH	88
4.2.	Discusión de Resultados.....	92
4.3.	Contrastación de Hipótesis	93
4.3.1.	One-way ANOVA: Conc. Fe en pH 6; Conc. Fe en pH 7; Conc. Fe en pH 8.....	93
4.3.2.	One-way ANOVA: Conc. Fe en Tiem; Conc. Fe en Tiem; Conc. Fe en Tiem; Conc. Fe en Tiem	95

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

COT: Carbono Orgánico Total

DBO: Demanda Biológica De Oxígeno.

DQO: Demanda Química De Oxígeno.

EPA: Agencia De Protección Del Medio Ambiente

FWS: Humedal De Flujo Superficial.

HAFSS: Humedal Artificial De Flujo Sub Superficial.

MAVDT: Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.

M.O Materia Orgánica.

RAS: Reglamento Técnico de Agua Potable y Saneamiento Básico

SFS: Sistema De Flujo Sub Superficial.

SINA: Sistema Nacional Ambiental.

SST: Sólidos Suspendidos Totales.

LPH: Litros Por Hora.

ppm: Partes Por Millón.

TRH: Tiempo De Retención Hidráulico

INDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Efectos del pH Sobre la Solubilidad del Fe(III).....	50
Tabla 2.2 Características de la Totora	69
Tabla 4.1 Parámetros de Análisis para pH 6.....	77
Tabla 4.2 Parámetros de Análisis para pH 6 Replica (1)	77
Tabla 4.3 Parámetros de Análisis para pH 6 Replica (2)	77
Tabla 4.4 Parámetros de Análisis para pH 7.....	78
Tabla 4.5 Parámetros de Análisis para pH 7 Replica (1)	79
Tabla 4.6 Parámetros de Análisis para pH 7 Replica (2)	79
Tabla 4.7 Parámetros de Análisis para pH 8.....	80
Tabla 4.8 Parámetros de Análisis para pH 8 Replica (1)	81
Tabla 4.9 Parámetros de Análisis para pH 8 Replica (2)	81
Tabla 4.10 Parámetros Promedio de Análisis para pH 6	84
Tabla 4.11 Parámetros Promedio de Análisis para pH 7	84
Tabla 4.12 Parámetros promedio de Análisis para pH 8.....	85
Tabla 4.13 Remoción de Fe en un humedal de pH 6.....	88
Tabla 4.14 Remoción de Fe en un humedal de pH 7.....	88
Tabla 4.15 Remoción de Fe en un humedal de pH 7.....	88
Tabla 4.16 Bioacumulación de Fe en la totora con pH 6.....	90
Tabla 4.17 Bioacumulación de Fe en la totora con pH 7.....	90
Tabla 4.18 Bioacumulación de Fe en la totora con pH 8.....	91

INDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Corte de la Base de un Tallo de Typha SPP.....	16
Figura 2.2 Sistema Radicular de Typha SPP. Afectado por la Proliferación de Algas.	22
Figura 2.3 Corte Transversal de Una Hoja de Typha SPP.,.....	25
Figura 2.4 El Sistema Transportador de Fe de U. Sphaerogena	48
Figura 2.5 Estructura Química de la Nicotinamina (arriba) y el ácido Muginéico (abajo).....	52
Figura 2.6 El Sistema Turbo de Transferencia de Electrones Asociado a la Membrana Plasmática de las Plantas con Estrategia I.	55
Figura 2.7 Macrofito Totora “Scirpus Californicus”	69
Figura 4.1 Comparación de la Reducción de Fe con pH 6.....	78
Figura 4.2 Comparación de la Reducción de Fe con pH 7.....	80
Figura 4.3 Comparación de la Reducción de Fe con pH 7.....	82
Figura 4.4 Reducción de Fe Vs Tiempo en las Pruebas Experimentales	82
Figura 4.5 Reducción de Fe Vs Tiempo en la Replicas (1)	83
Figura 4.6 Reducción de Fe Vs Tiempo en la Replicas (2)	83
Figura 4.7 Remoción de Fe ppm a Diferentes pH.....	85
Figura 4.8 Temperatura Promedio en los Humedales con Diferentes pH.....	86
Figura 4.9 Oxígeno Disuelto Promedio en los Humedales con Diferentes pH....	87
Figura 4.10 Conductividad Eléctrica Promedio en los Humedales con Diferentes pH.....	87
Figura 4.11 % de Remoción de Fe en Diferentes pH.....	89
Figura 4.12 Relación Lineal de Fe con el Tiempo en Diferentes pH	89
Figura 4.13 Bioacumulación de Fe en las Totoras con el Tiempo en Diferentes pH... ..	91

INDICE DE IMÁGENES

Imagen 01: Realizando el Muestreo de Agua en el Lago Chinchaycocha.....	104
Imagen 02: Sacando Plantaciones de Totora para las Pruebas Experimentales	104
Imagen 03: Construcción de los Humedales Artificiales.....	105
Imagen 04: Limpieza y Preparación de las Totoras Antes de ser Instaladas en los Humedales Artificiales	105
Imagen 05: Adaptación de la Totora en los Humedales Artificiales.....	106
Imagen 06: Preparación de la Concentración de Hierro en el Laboratorio.....	106
Imagen 07: Adición de Hierro en el Humedal Artificial con Plantaciones de Totora.....	107
Imagen 08: Monitoreo de Temperatura y pH en el Humedal Artificial con Plantaciones de Totora.....	107
Imagen 09: Análisis con el Espectrofotómetro.....	108

RESUMEN

Con el propósito de evaluar el potencial de bioacumulación del Hierro en aguas contaminadas, se estudió a escala de laboratorio construyendo humedales artificiales para evaluar el efecto de diferentes pH en la bio acumulación de Fe en plantaciones de totora para tal motivo se caracterizó fisicoquímicamente el agua del lago Chinchaycocha Junín analizando los siguientes parámetros, concentración de hierro de 4,15 ppm, pH 6,82, temperatura 12 °C, Oxígeno disuelto 2,8 mg/L y conductividad eléctrica 10,2 ms/cm.

La variación del índice de acides en el agua del lago Chinchaycocha en los humedales artificiales, para la remoción de Fe, se dio en un tiempo de 15 días donde se obtuvo la mayor remoción, habiendo una diferencia significativa en los diferentes humedales con diferentes pH de 6 ,7 y 8, obtenido las siguientes concentraciones de 1,36 ppm Fe, 0,81 ppm Fe y 1,15 ppm Fe, respectivamente, si continuamos con mayor tiempo de retención a 20 días se mantiene constante la concentración de Fe en los tres humedales.

La variación del tiempo de retención en los humedales artificiales fueron analizados en cuatro periodos a los 5 días, 10 días, 15 días, y 20 días en los cuales se analizaron varios parámetros con respecto a la acumulación de Fe en las plantaciones de *Scirpus Californicus* (totora), en la que se determinó que el tiempo máximo de retención es de 15 días donde se encuentran la mayor bio acumulación de Fe en las plantaciones, de igual manera se buscó relaciones matemáticas entre el tiempo y la reducción de la concentración de Fe en los diferentes humedales, para el pH 6 se encontró la ecuación $\text{Conc. Fe} = -0,1945 \cdot t + 4,1723$ con un coeficiente de correlación de 0,9917, para el pH 7 se encontró la ecuación $\text{Conc. Fe} = -0,2267 \cdot t + 4,1917$ con un coeficiente de correlación de 0,9997 y para el pH 8 se encontró la ecuación $\text{Conc. Fe} = -0,1915 \cdot t + 4,054$ con un coeficiente de correlación de 0,9989, siendo así el tiempo máximo de retención de 15 días.

La capacidad de bio acumulación de hierro en el *Scirpus Californicus* (totora) en función del tiempo de retención de 5 días, 10 días y 15 días, de igual forma respecto a la variación del índice de acides de pH 6, pH 7 y pH 8, para cada prueba experimentales obtenido los siguientes resultados, para los 15 días un valor 67,8% de Fe; 80,5% de Fe; 68,7% de Fe respectivamente, obteniendo el máximo valor de bio acumulación de un 80,5%

ABSTRACT

In order to assess the potential for bioaccumulation Iron contaminated water he was studied at laboratory scale building artificial wetlands to assess the effect of different pH on bio accumulation of Fe in plantations of reeds for this reason water is physicochemically characterized Chinchaycocha lake Junin analyzing the following parameters, iron concentration of 4,15 ppm , pH 6,82 , temperature 12 ° C , dissolved oxygen 2,8 mg/L and electrical conductivity 10,2 ms/cm .

The acidity index variation in lake water Chinchaycocha in artificial wetlands, to remove Fe, was in a time of 15 days where most removal was obtained, having a significant difference in different wetlands with different pH 6, 7 and 8, obtained the following Fe concentrations of 1,36 ppm , 0,81 ppm and 1,15 ppm Fe, respectively , if we continue with longer retention time to 20 days remains constant the concentration of Fe in the three wetlands.

The variation of the retention time in artificial wetlands were analyzed in four periods over 5 days, 10 days , 15 days, and 20 days in which several parameters are analyzed for the accumulation of Fe in the plantations of *Scirpus californicus* (reeds) , in which it was determined that the maximum retention time is 15 days where they are most bio accumulation of Fe in the plantations , just as

mathematical relationships are sought between time and reducing the concentration of Fe in different wetlands , for pH 6 was found the equation $\text{Conc Fe} = -0,1945 * t + 4,1723$ with a correlation coefficient of 0,9917 , pH 7 for the equation was found $\text{Conc Fe} = -0,2267 * t + 4,1917$ with a correlation coefficient of 0.9997 to pH 8 and the equation was found $\text{Conc Fe} = -0,1915 * t + 4,054$ with a correlation coefficient of 0,9989 . , being so the maximum retention time of 15 days.

The ability of bio iron accumulation in *Scirpus californicus* (Totora) versus retention time of 5 days, 10 days and 15 days, similarly regarding acidity index variation of pH 6, pH 7 and pH 8 for each experimental proof obtained the following results for 15 days' worth 67,8 % Fe ; 80,5 % Fe ; Fe 68,7% , respectively , obtaining the maximum value of bioaccumulation of 80,5%

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha acentuado la contaminación de los cuerpos de agua, debido al manejo inadecuado de las aguas residuales de origen industrial, minero y urbano. Ante tal situación, es necesario promover el desarrollo de tecnologías que ayuden a mejorar la calidad de los efluentes y que al mismo tiempo sean adecuadas al contexto socioeconómico del país.

Los metales son elementos que pueden encontrarse de forma natural en la superficie de aguas no contaminadas según el tipo de suelo y rocas presentes a lo largo de una corriente superficial. En concentraciones traza, muchos de estos metales son necesarios para la vida acuática y para la salud humana. Algunas veces los metales pueden encontrarse en sistemas Acuáticos en concentraciones que sobrepasan los límites permisibles, ocasionado en la mayoría de los casos por las actividades humanas.

El manejo de estas aguas residuales ha sido desde tiempo atrás un problema debido a las grandes inversiones que deben de realizarse en plantas de tratamiento con el fin de depurar esta agua antes de su vertimiento a una fuente superficial. De allí ha surgido la necesidad de investigar técnicas innovadoras para el tratamiento de estos desechos, a bajos costos, como es el caso del tratamiento con plantas acuáticas.

Las macrófitas acuáticas han sido consideradas por varios autores como una plaga debido a su rápido crecimiento, ya que en ocasiones llegan a invadir lagunas y generan varios problemas (Arrivallaga y Arredondo, 1978). Sin embargo, si las plantas acuáticas se manejan adecuadamente, su poder de proliferación, su capacidad de absorción de nutrientes y bioacumulación de otros compuestos del agua, las convierten en una herramienta útil en el tratamiento de aguas residuales (Boyd, 1970).

Las lagunas con plantas acuáticas para el tratamiento de aguas residuales, se basan en los principios ecológicos, en donde los efluentes son tratados eficientemente mediante relaciones mutuas y coordinadas de flujo de energía y nutrientes, entre las plantas acuáticas y los microorganismos degradadores (Shi y Wang, 1991).

CAPÍTULO I

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Caracterización de la Realidad Problemática

El lago de Junín es el segundo de extensión en el Perú, pertenece a la cuenca hidrográfica del río Mantaro en el departamento de Junín, como la mayoría de lugares de la sierra peruana, no ha estado libre de la actividad minera iniciada durante el periodo de la conquista, habiendo sufrido una alta degradación ecológica. Históricamente, en el Lago Junín han confluído tributarios que han arrastrado permanentemente importantes cantidades de relaves mineros conteniendo metales pesados y otras sustancias que por acumulación perjudican al ecosistema y consecuentemente al ser humano.

Uno de los principales problemas que afectan al lago es la contaminación por relaves mineros, Específicamente al noroeste de la reserva donde desagua el río San Juan, el cual por décadas ha presentado aguas con un característico color rojo ladrillo que generó la degradación de gran parte del ecosistema.

Las Empresas Mineras son los principales causantes de los impactos de origen minero que se registran en el lago. Identificado a 4 empresas mineras (3 privadas y 1 estatal) (Sociedad Minera El Brocal S.A.A. - Volcán Compañía Minera S.A.A. - Compañía Minera Aurifera Aurex S.A. y Activos Mineros S.A.C.) que tienen participación sobre las afectaciones por contaminación minera y por pasivos ambientales.

Los humedales son beneficiosos para la bio acumulación de contaminantes de metales pesados porque son sencillos de operar y no requieren de energía eléctrica para funcionar, además estos humedales no solo son utilizados para la recuperación o el tratamiento de aguas residuales mineras sino también para el tratamiento de aguas residuales domésticas. Además es necesario el control de variables como el tiempo de retención hidráulica, si el agua que se va a tratar no permanece durante un tiempo determinado el humedal no desarrollara su proceso eficientemente, por lo cual es fundamental el control de esta variable. También el control del pH es necesario ya que algunas especies (macrofitas), desarrollan la capacidad de bio acumulación en un nivel de pH (ácido, básico y neutro).

1.2. Formulación del Problema

1.2.1. Problema General

¿Cómo influye en la capacidad de bio acumulación de hierro de la *Scirpus Californicus* (totora) con la variación del índice de acides y el tiempo de retención en un humedal artificial en el tratamiento del agua del lago Chinchaycocha?

1.2.2. Problemas Específicos

- ¿Cuáles son las características fisicoquímicas del agua del lago Chinchaycocha - Junin?
- ¿Cómo influye la variación del índice de acides del agua del lago Chinchaycocha en un humedal artificial en la bio acumulación de hierro en el *Scirpus Californicus* (totora)?

- ¿Cómo influye la variación del tiempo de retención del agua del lago Chinchaycocha en un humedal artificial en la bio acumulación de hierro en el Scirpus Californicus (totora)?
- ¿Cuál es la capacidad de bio acumulación de hierro en el Scirpus Californicus (totora) en un humedal artificial del agua del lago Chinchaycocha - Junín?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Determinar la capacidad de bio acumulación de hierro de la Scirpus Californicus (totora) con la variación del índice de acides y el tiempo de retención en un humedal artificial en el tratamiento del agua del lago Chinchaycocha.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar fisicoquímicamente el agua del lago Chinchaycocha – Junín.
- Evaluar la variación del índice de acides del agua del lago Chinchaycocha en un humedal artificial en la bio acumulación de hierro en el Scirpus Californicus (totora).
- Evaluar la variación del tiempo de retención del agua del lago Chinchaycocha en un humedal artificial en la bio acumulación de hierro en el Scirpus Californicus (totora)
- Calcular la capacidad de bio acumulación de hierro en el Scirpus Californicus (totora) en un humedal artificial del agua del lago Chinchaycocha – Junín.

1.4. Justificación

El manejo de las aguas residuales con metales pesados ha sido desde tiempo atrás un problema debido a las grandes inversiones que deben de

realizarse en plantas de tratamiento con el fin de depurar esta agua antes de su vertimiento a una fuente superficial. De allí ha surgido la necesidad de investigar técnicas innovadoras para el tratamiento de estos desechos, a bajos costos, como es el caso del tratamiento con plantas acuáticas.

La Fito remediación es un método de descontaminación de aguas mediante la utilización de plantas que absorben metales pesados.

En la presente investigación se empleara la Totora que elegimos por su gran adaptación al ambiente, su rápido crecimiento y la cualidad de cubrir grandes extensiones en poco tiempo. Este método es muy práctico ya que las plantas absorben los metales por las raíces lo almacenan en su sabia bruta y lo utilizan para su metabolismo y así aprovechar al máximo las propiedades de estos elementos.

El hierro se asocia al oxígeno con facilidad lo que puede resultar en que en medio acuoso produzca su carencia o disminución del DBO.

El hierro es un metal pesado con capacidad de bioacumularse y traspasar a través de la cadena alimenticia. La inhalación crónica de concentraciones excesivas de vapores o polvos de óxido de hierro puede resultar en el desarrollo de una neumoconiosis benigna.

1.5. Importancia

El proceso de bioacumulación es una técnica de la fitorremediación en la cual este método aprovecha la capacidad de bioconcentración de diversas especies de plantas que se puede utilizar en este tipo de método.

La totora es una de las especies endémicas del área. La Totora tiene una gran adaptación al ambiente, su rápido crecimiento y la cualidad de cubrir grandes extensiones en poco tiempo favorece a la disminución de hierro en el lago Chinchaycocha.

1.6. Limitaciones

La limitación para el presente trabajo, existe poca información en lo que se refiere a los antecedentes y bibliografía que se hayan realizado en el área de estudio o especializaciones en este tipo de tecnologías innovadoras.

CAPÍTULO II

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1. Marco Referencial

2.1.1. Antecedentes de la Investigación

Según el trabajo de investigación titulado ACUMULACIÓN DE METALES PESADOS EN SUELO Y PLANTAS DE CUATRO CULTIVOS HORTÍCOLAS, REGADOS CON AGUA DEL RÍO BOGOTÁ, realizado por Carlos Andrés Rojas y Carlos Martín Jerez, determinaron que los cultivos hortícolas establecidos en la Sabana de Bogotá los productores desarrollan actividades de riego utilizando las aguas del río Bogotá a través del distrito de riego La Ramada, que cubre unas 6.400 ha. Su uso ha generado una problemática de contaminación en las especies hortícolas causando deterioro de la calidad de los productos que en su mayoría son consumidos en fresco. El presente estudio se desarrolló en plantaciones de lechuga ('Coolguard'), apio ('Tall Utah'), repollo (híbrido Delus) y brócoli (híbrido Legacy) en una finca en Soacha (vereda Canoas), Cundinamarca, ubicada en la cuenca media del río Bogotá, analizando los niveles de metales pesados plomo (Pb), cadmio (Cd), arsénico (As) y mercurio (Hg) en agua, suelo y en la

parte comestible de las plantas. Se encontró que las concentraciones de Cd en el agua del riego estuvieron cercanas a los límites establecidos por las normas vigentes nacionales e internacionales, mientras que los niveles en el suelo de las dos plantaciones estuvieron dentro del rango normal. La lechuga y el apio, a los 74 días después de transplante, con 0,40 y 0,43 mg kg⁻¹ peso fresco, respectivamente, presentaron contaminación con Cd superando el límite de la norma de la Unión Europea. Se discuten las posibles razones agroecológicas, fisiológicas y de muestreo para este comportamiento. En las cuatro hortalizas, la concentración de Pb superó la concentración máxima permitida en alimentos para lactantes y niños de corta edad establecida por la Unión Europea. En general, la lechuga acumuló niveles más altos de metales pesados que las otras tres especies.

En la investigación de la CAPACIDAD DE LAS PLANTAS NATIVAS EN AMBIENTES CON DRENAJE ACIDO PARA LA BIOACUMULACION DE METALES PESADOS Elaborado por Edell Doriza Aliaga y Edwin Palomino Cadenas, en el departamento de Ancash-Perú, en humedales alto andinos que reciben drenajes ácidos de mina. El propósito del trabajo fue evaluar la capacidad de bioacumulación de metales por parte de la comunidad vegetal nativa. Fueron cuatro los escenarios evaluados en periodos de lluvia y en estiaje: Quebrada Honda, Quillcayhuanca, Huancapeti y Mesapata. Las variables fisicoquímicas evaluadas in situ fueron pH, conductividad y temperatura. Se colectaron muestras de agua en el afluente y efluente de cada humedad, además de plantas predominantes del lugar, para su análisis utilizaron el método espectroscopia de masa de plasma inductivamente acoplado. Los metales de mayor presencia en los cuatro escenarios fueron:

Calamagrostis ligulata, Ciperus y Juncus imbricatus. Los cuales llegaron a la conclusión que las especies logran bioacumular en promedio plomo de 500 mg/L., arsénico y cobre por encima de 900 mg/L., hierro y manganeso en más de 1600 mg/L respectivamente. Por lo cual estas plantas merecen atención en los programas de biorremediación de pasivos ambientales y otros drenajes ácidos.

2.1.2. Referencias Históricas

Desde el punto de vista ecológico, los humedales naturales son lugares de extraordinario valor. Su protección está reconocida a nivel nacional e internacional, siendo el hito más significativo el denominado Convenio de Ramsar, surgido a raíz de la Conferencia Internacional sobre la Conservación de las Zonas Húmedas y de las Aves acuáticas celebrada en Ramsar (Irán) en 1971. Los humedales naturales más importantes de España, son los parques nacionales de Doñana, creado en 1969, y las Tablas de Daimiel, de 1973, ambos incluidos en la Lista Ramsar. Otras áreas húmedas de gran interés ecológico son las lagunas de Ruidera, las lagunas salinas de la Mancha, las Marismas del Guadalquivir y el Delta del Ebro.

La importancia de los humedales naturales radica tanto en sus peculiaridades biológicas vegetación y fauna especializada– como en las funciones que desempeñan en el ciclo del agua y de la materia orgánica, reciclado de nutrientes, mantenimiento de redes tróficas y estabilización de sedimentos. Tienen un importante papel como ‘depuradoras’ naturales, contribuyendo al mantenimiento de la calidad de las aguas subterráneas y superficiales. A este respecto es importante destacar que del estudio de su dinámica y actuación se derivan los denominados sistemas blandos de depuración de aguas residuales (lagunaje y humedales artificiales), que en

definitiva son sistemas desarrollados por el hombre en los que se imita la dinámica depuradora de los humedales naturales, pero con una mayor velocidad que la que se produce en los humedales naturales. Es preciso señalar que el aprovechamiento de humedales naturales para el tratamiento de aguas residuales está totalmente desaconsejado, ya que supone un grave impacto medioambiental y la posibilidad de contaminar los acuíferos y ecosistemas circundantes. Solamente si el aporte de agua residual está controlado dentro de los límites de depuración total que puede ofrecer el humedal, podría ser tolerada esta aplicación.

Los humedales artificiales son los que han sido construidos por el hombre para el tratamiento de aguas residuales. Consisten en estanques o canales de poca profundidad (normalmente <1m) en los que se implantan especies vegetales adaptadas a la vida acuática y en los que la depuración se basa en procesos naturales de tipo microbiológico, biológico, físico y químico. Su diseño es muy variado, pero siempre incluye canalizaciones, aislamiento del suelo para evitar el paso de la contaminación a los ecosistemas naturales circundantes y el control del flujo del efluente en cuanto a su dirección, flujo, tiempo de retención, y nivel del agua.

En relación con otros sistemas de depuración tecnológicos, los humedales artificiales tienen las ventajas de bajo coste, mantenimiento sencillo, eficaz capacidad depuradora de aguas residuales con contaminación principalmente orgánica, y bajo impacto visual de las instalaciones, porque la vegetación proporciona una apariencia natural. Entre sus limitaciones se pueden indicar que requieren amplias superficies de terreno y que no son apropiados para determinadas aplicaciones, como por ejemplo el tratamiento de aguas industriales con alta contaminación inorgánica. Los humedales artificiales son especialmente

apropiados para el tratamiento de aguas residuales de pequeñas poblaciones, en donde se suelen dar las circunstancias de bajo coste del terreno y mano de obra no altamente tecnificada.

2.2. Marco Legal

- Ley N° 29338 “Ley de Recursos Hídricos”
- Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM, que aprueba los estándares Nacionales de Calidad de Agua.
- Decreto Supremo N° 023-2009.MINAM, que aprueba las disposiciones para la implementación de los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental (ECA) para agua.
- Decreto Supremo N°001-2010-ANA, que aprueba el reglamento de la ley N° 29338, Ley de recursos hídricos.
- Resolución Jefatural N°202-2010-ana, que aprueba la clasificación de cuerpos de aguas superficiales y marino-costeros.
- Resolución Jefatural N° 182-2011-ANA, que aprueba el protocolo Nacional de Monitoreo de calidad de los recursos hídricos superficiales.

2.3. Marco Conceptual

- **ABIÓTICO:** proceso no biológico o mecanismo de tratamiento en un humedal artificial.
- **ABSORCIÓN:** paso de agua y de sustancias en ella disueltas al interior de una célula o de un organismo.
- **ADSORCIÓN:** adherencia por unión química o física de un contaminante a una superficie sólida.
- **AERÓBICO:** proceso que tiene lugar en presencia de oxígeno disuelto. En las zonas de las plantas depuradoras en las que tiene lugar este proceso se mantiene el agua fuertemente agitada para que haya abundante oxígeno en el agua y las bacterias puedan realizar sus procesos metabólicos.

- **AGUA POTABLE:** aquella que por reunir los requisitos organolépticos, físicos, químicos y microbiológicos, en las condiciones señaladas en el presente decreto, puede ser consumida por la población humana sin producir efectos adversos a su salud.
- **ANAERÓBICO:** proceso en sistemas de tratamiento de aguas residuales que tiene lugar en ausencia de oxígeno disuelto y recurre al oxígeno molecular disponible en la descomposición de compuestos.
- **ANÁLISIS FISICOQUÍMICO:** pruebas de laboratorio que se efectúan a una muestra para determinar sus características físicas, químicas o ambas.
- **BIOACUMULACIÓN:** acumulación progresiva de sustancias tóxicas persistentes en los seres vivos, a través de la cadena alimenticia.
- **BIÓTICO:** término que implica mecanismos biológicos o microbiológicos del tratamiento. Parte viva de un sistema.
- **CALIDAD DEL AGUA:** conjunto de características organolépticas, físicas, químicas y microbiológicas propias del agua.
- **CONTAMINACIÓN DEL AGUA:** alteración en sus características Organolépticas, físicas, químicas, radiactivas y microbiológicas del agua, como resultado de las actividades humanas o procesos naturales, que producen o pueden producir rechazo, enfermedad o muerte al consumidor.
- **FITORREMEDIACIÓN:** conjunto de métodos para degradar, asimilar, metabolizar o destoxificar metales pesados, compuestos orgánicos, radioactivos y petro derivados por medio de la utilización de plantas que tengan la capacidad fisiológica y bioquímica para absorber, retener, degradar o transformar dichas sustancias a formas menos tóxicas.
- **HALÓFITA:** planta que crece en terrenos anegados. Planta anfibia, cuyos órganos están arraigados en el fondo sumergido, y cuyos tallos emergen y desarrollan hojas y flores en el medio aéreo.

- HUMEDAL: nombre genérico para designar al hábitat de aguas abiertas y al de los terrenos inundados de manera permanente o semipermanente.
- HUMEDAL ARTIFICIAL: sistema de tratamiento de aguas residuales que se basa en procesos físicos, químicos y biológicos que se encuentran típicamente en los humedales naturales para tratar un flujo relativamente constante de aguas residuales tratadas.
- TOTORA: nombre común de un número de plantas del género *Scirpus* encontrado en humedales. *S. californicus*, todo lo cual forma rodales muy densos con un gran número de tallos cortados de ida y que mantienen una postura vertical para uno o más años.
- LAGUNA: también llamada laguna de estabilización, laguna de oxidación, etc. En los sistemas convencionales de tratamiento de aguas residuales, por lo general se utilizan para proporcionar tratamiento intermedio de las aguas residuales a través de una variedad de procesos físicos, químicos y biológicos.
- PLANTA ACUÁTICA EMERGENTE: crecen sus raíces en el suelo, con estructuras de la planta que se extienden sobre la superficie del agua. Estas plantas son herbáceas en virtud de sus relativamente descomponibles (hoja) estructuras de la planta, pero también tienen estructura interna suficiente para mantener su crecimiento vertical, incluso sin el apoyo de las aguas circundantes. La mayoría de las plantas emergentes de los humedales crecen con o sin la presencia de agua superficial, sin embargo, por lo general crecen en aguas poco profundas cerca de la orilla de un cuerpo de agua.
- RIZOMA: raíz como madre que produce raíces y tallos para propagarse en una zona circundante.

2.4. Marco Teórico

2.4.1. Fitodepuración y Humedales

Por fitodepuración (phyto = planta, depurare = limpiar, purificar) se entiende la reducción o eliminación de contaminantes de las aguas residuales, por medio de una serie de complejos procesos biológicos y fisicoquímicos en los que participan las plantas del propio ecosistema acuático. La fitodepuración ocurre naturalmente en los ecosistemas que reciben aguas contaminadas y, junto a la denominada autodepuración de las aguas, ha sido el procedimiento clásico de recuperación de la calidad del agua. Este proceso ocurre tanto en humedales naturales como en humedales artificiales creados por el hombre. (Belhateche, 1995)

Desde un punto de vista estricto, el concepto de fitodepuración puede aplicarse cuando existe la intervención de cualquier tipo de organismo fotosintético, ya sean plantas superiores (macrofitas) como algas macroscópicas o microscópicas. Sin embargo, el concepto más generalizado del término fitodepuración lleva actualmente implícito la intervención de macrofitas. Los procedimientos de tratamiento de aguas por lagunaje en los que hay intervención de micro algas no serían por tanto objeto de la fitodepuración. La fitodepuración, por tanto, se refiere a la depuración de aguas contaminadas por medio de plantas superiores (macrofitas) en los denominados humedales o sistemas acuáticos, ya sean naturales o artificiales. (Belhateche, 1995)

Los humedales naturales pueden definirse como aquellos lugares terrestres que permanecen inundados o saturados de agua durante, al menos, un tiempo lo suficientemente prolongado como para que se desarrolle en ellos un tipo de vegetación característica, palustre, que está adaptada a esas condiciones de inundación o saturación de agua, como por ejemplo, los carrizales, espadañales,

juncales o los maciegales. Son sistemas de transición entre los ambientes terrestres y los acuáticos, por lo que sus límites suelen ser difusos y su morfología variable con el tiempo, mostrando ciclos temporales más o menos acusados y un extraordinario dinamismo. Los humedales se reconocen fácilmente por un conjunto de características generales, como son la presencia de una lámina de agua poco profunda o de una capa freática en superficie sobre suelos hidromorfos, y la existencia de una vegetación especializada, ya sean plantas que viven en el agua (hidrofitos) o las que se desarrollan en terrenos permanentemente inundados o al menos saturados de agua, con bastante frecuencia (higrofitos). Uno de los rasgos más característicos de la vegetación de los humedales es su adaptación a vivir con una fuerte limitación de la disponibilidad del oxígeno en el suelo, es decir, en condiciones de anaerobiosis que normalmente no soportan las plantas terrestres. (Belhateche, 1995)

2.4.2. Plantas Propias de Los Humedales

2.4.2.1. Concepto de Macrofitas

El rasgo que mejor define a los vegetales es el hecho de que son seres vivos fotosintéticos (exceptuando plantas parásitas), por lo que su nutrición es de tipo autótrofo. La fotosíntesis les confiere la capacidad de utilizar como fuente de carbono un compuesto inorgánico, el dióxido de carbono, para desarrollarse y así generar materia orgánica; es lo que conforma la denominada producción primaria en el planeta. En el curso de la evolución, ha sucedido el desarrollo progresivo de los vegetales desde organismos muy elementales (algas unicelulares procariotas) a organismos muy evolucionados (plantas superiores) que incorporan mecanismos sofisticados de adaptación al ambiente terrestre. En función del tipo de organización y nivel de desarrollo alcanzado, se distinguen dos

grandes grupos de organismos fotosintéticos: algas (unicelulares o pluricelulares), que son organismos fotosintéticos inferiores, y embriofitas, que comprenden musgos (briofitos), helechos (pteridofitos) y plantas con semilla (espermatofitos, también denominadas plantas superiores). En los humedales naturales se pueden encontrar todos estos tipos de organismos, dando lugar a comunidades de gran biodiversidad.

Desde el punto de vista botánico, el término 'macrófita' se aplica a cualquier vegetal que es visible a simple vista (herbáceas, arbustos, árboles), en oposición al término 'macrófita', utilizado genéricamente para vegetales que no son visibles sin la ayuda de lentes ópticas (algas microscópicas). Por ello, los vegetales de talla visible que crecen en los humedales se denominan 'macrofitas acuáticas', término que desde un punto de vista amplio englobaría plantas acuáticas vasculares (angiospermas y helechos), musgos acuáticos y grandes algas.

En el área de investigación sobre humedales, ya sean naturales o artificiales, se utiliza la denominación 'macrófita' de manera no estrictamente coincidente con el concepto botánico. Así pues, el término 'macrófita' ha llegado ya a incluir el concepto de que se trata de planta acuática entre los miembros de la comunidad científica, por lo que así se utilizará este término en lo sucesivo. También hay que señalar que, debido a que los vegetales que predominan en los humedales son angiospermas (plantas con semilla), a menudo se aplica el término 'macrófita de modo restrictivo, esto es, para referirse únicamente a las plantas acuáticas con semilla. (LARA, 1999)

2.4.3. Tipos de Plantas en Humedales

En los humedales naturales coexisten áreas inundadas, en las que se mantiene una capa de agua más o menos constante (unos

centímetros a 1 m de profundidad) con áreas permanentemente saturadas de agua, que suponen una transición entre el área inundada y las zonas terrestres circundantes al humedal. Las plantas que naturalmente se desarrollan en el humedal se pueden localizar en cualquiera de esas áreas, ya sea la acuática o la de saturación de agua. Las peculiaridades ambientales determinan que las plantas que allí viven hayan desarrollado adaptaciones específicas a las condiciones de humedad.

En función del grado de adaptación que muestren las macrofitas de los humedales, se distinguen dos grandes grupos: por una parte los hidrófitos, que son plantas acuáticas en sentido estricto, y por otra, los higrofitos terrestres, que son aquellas plantas de suelos más o menos permanentemente saturados en agua. (LARA, 1999)

2.4.3.1. Plantas Acuáticas Estrictas: Hidrófitos

Se denominan hidrófitos a las plantas que viven en el agua, que muestran un grado de adaptación muy avanzado a las condiciones de vida acuática. A diferencia de los hidrófitos, las plantas terrestres están arraigadas en suelos más o menos aireados en los que circula la denominada 'atmósfera del suelo', cuya composición es próxima a la del aire. Los gases más importantes para la fisiología de las plantas son el oxígeno y el dióxido de carbono, que están en una proporción aproximada de 210 cm³ y 0,3 cm³ por litro de aire, respectivamente. En los medios acuáticos la proporción de oxígeno es muy diferente, pero la proporción de dióxido de carbono suele ser bastante parecida a la de la atmósfera del suelo. El contenido máximo de oxígeno disuelto en el agua (agua saturada de aire) es del orden de 6,4 cm³ por litro (a 20°C), pero en las aguas de los humedales el oxígeno disuelto es menor, y su proporción es un índice del grado de contaminación del agua (menos oxígeno cuanto más contaminada).

Se denominan hidrófitos a las plantas que viven en el agua, que muestran un grado de adaptación muy avanzado a las condiciones de vida acuática. A diferencia de los hidrófitos, las plantas terrestres están arraigadas en suelos más o menos aireados en los que circula la denominada 'atmósfera del suelo', cuya composición es próxima a la del aire. (TATIANA, 2005)

Figura 2.1 Corte de la Base de un Tallo de Typha SPP



(TATIANA, 2005)

2.4.3.2. Plantas Acuáticas Sumergidas:

Son aquellas que se desarrollan en la columna de agua, manteniendo todos sus órganos vegetativos por debajo de la lámina de agua. Son plantas muy interesantes en los humedales naturales a causa de su efecto oxigenador en la columna de agua; al estar los órganos asimiladores sumergidos, el oxígeno liberado por fotosíntesis pasa directamente al agua. En este grupo se encuadran especies muy comunes de los humedales naturales, como *Ranunculus aquatilis* (ranúnculo de agua) y *Potamogeton* spp., y otras que se utilizan frecuentemente en estanques ornamentales por su capacidad oxigenadora, como son *Ceratophyllum demersum* o *Myriophyllum verticillatum*. Algunas especies sumergidas

emergen sólo para florecer, como por ejemplo *Lobelia dortmanna* (lobelia de agua).

Algunas de las plantas acuáticas sumergidas de aplicación en sistemas acuáticos artificiales de depuración son *Potamogeton* spp. y *Elodea* spp. Se utilizan para oxigenar el agua en profundidad y para proporcionar soporte para la flora microbiana. (LARA, 1999)

2.4.3.3. Plantas Anfibias (Emergentes):

Son aquellas plantas que tienen parte de su estructura vegetativa dentro del agua, y otra parte fuera de ésta, como por ejemplo, el *Polygonum amphibium*. Típicamente se trata de plantas arraigadas en el suelo sumergido (fango) o suelo encharcado, y que asoman parte de su cuerpo vegetativo por encima de la lámina del agua. Las plantas anfibias también reciben la denominación de helófitas, término derivado del griego, helo, que quiere decir pantano. En este grupo se encuentran importantes especies de interés en los humedales artificiales, como las eneas *Typha domingensis*, *T. angustifolia*, *T. latifolia*, la caña común *Phragmites australis* y el esparganio, *Sparganium erectum*. La función primaria de los helofitos en los humedales artificiales es la de actuar de filtro para mejorar los procesos de floculación y sedimentación. Otras funciones son la de servir de soporte de microorganismos por desarrollo de una gran superficie de órganos sumergidos, oxigenar el agua circundante en la rizosfera, extraer nutrientes que redundan en la disminución de la carga contaminante, sombrear el agua que evita el crecimiento de las algas, actuar de barrera cortaviento que facilita la estabilización del agua y aislar térmicamente el agua. (LARA, 1999)

2.4.3.4. Plantas Flotantes:

Son plantas en las que sus órganos asimiladores están flotando en la superficie del agua. Este grupo comprende plantas de libre

flotación, que son aquellas que presentan raíces suspendidas en el agua (por ejemplo, la lenteja de agua), como plantas flotantes enraizadas, que son aquellas en las que sus raíces están ancladas en el fango del humedal, pero sus hojas están flotando en la lámina de agua (por ejemplo, los nenúfares). (GARCÍA, 2004)

Entre las plantas flotantes de aplicación a los sistemas acuáticos de tratamiento de aguas, hay que mencionar la lenteja de agua (*Lemna minor*), que tiene muy pequeño tamaño, pero es muy prolífica por multiplicarse vegetativamente, y el Jacinto de agua, (*Eichhornia crassipes*), de muy alta productividad. La función principal de estas plantas es la de proporcionar sombreo para dificultar el crecimiento de las algas, además de actuar extrayendo nutrientes. Sin embargo, en algunas circunstancias estas especies pueden llegar a ser invasivas, perjudicando el funcionamiento del humedal cuando están en grandes colonias, por limitar la difusión de oxígeno desde la atmósfera, y bloquear el paso de la luz para las plantas sumergidas.

2.4.3.5. Higrófitos Terrestres

Se denominan higrófitos a aquellas plantas que viven en ambientes húmedos. Los higrófitos terrestres, se desarrollan sobre suelos saturados de agua. Son plantas que, sin ser acuáticas, muestran un cierto grado de adaptación morfológica y fisiológica a las condiciones de saturación de agua en el suelo o sustrato en el que se desarrolle el sistema radicular. Pueden soportar condiciones de humedad inferior a saturación por espacios de tiempo no prolongados, pero no sobreviven en ambientes secos.

Algunas de estas especies, además de vivir en sustratos permanentemente húmedos, son tolerantes a la contaminación del agua, y por ello pueden emplearse en los humedales artificiales. Algunas especies corrientemente utilizadas en humedales

artificiales son higrófitos, como los juncos (*Scirpus holoschoenus* y otros *Scirpus*). Su principal función es la de contribuir a los procesos físicos de separación del agua, actuando a modo de filtro. (GARCÍA, 2004)

2.4.4. Los Humedales Artificiales como Ecosistemas

Los humedales artificiales reproducen la dinámica de los humedales naturales, y como éstos, constituyen delicados ecosistemas, que combinan procesos físicos, químicos y biológicos en un medio diseñado, construido y manejado por el hombre. La principal diferencia con respecto a los humedales naturales, es el grado de control que puede ejercerse sobre los procesos intervinientes. Algunos de los aspectos diferenciales con respecto a los humedales naturales, son el hecho de que el flujo de agua es más estable no está sometido necesariamente a fluctuaciones estacionales, el tiempo de retención está controlado por el operador, y la carga contaminante es más elevada. Sin embargo, y a semejanza de lo que ocurre en los humedales naturales la influencia de los parámetros climáticos (precipitación, radiación, temperatura) en el comportamiento del humedal es importante.

Las temperaturas bajas hacen que se retarden los procesos biológicos, pero en cambio no afectan a procesos físicos como la filtración y sedimentación. El comportamiento de los humedales artificiales es el resultado de un entramado complejo de procesos físicos, químicos y biológicos, siendo de extrema importancia la actuación e interacciones con el agua residual, de los componentes vivos del sistema: microorganismos, hongos, algas, vegetación (plantas superiores) y fauna. (LARA, 1999)

2.4.5. Microorganismos y Organismos Inferiores Heterótrofos

En este apartado se incluyen pequeños organismos heterótrofos que tienen cometidos indispensables para la depuración del agua

residual, como bacterias, protozoos, actinomicetos, hongos. Aunque son grupos de organismos muy diferentes, coinciden en la doble vertiente de ser organismos que participan en la descomposición de materia orgánica y a la vez, productores primarios de biomasa. Son organismos heterótrofos, es decir, organismos que necesariamente requieren carbono orgánico para desarrollarse en oposición a los organismos fotosintéticos, algas y plantas, cuya fuente de carbono es inorgánica. Se desarrollan naturalmente en los humedales artificiales, concentrándose alrededor de la superficie de partículas sólidas, sedimentos, y de desechos y partes sumergidas de las plantas. (Belhateche, 1995)

Las bacterias intervienen en procesos esenciales para el buen comportamiento del sistema. Así pues, son responsables de la degradación de la materia orgánica y de la remoción de la contaminación orgánica por intervenir en la liberación de compuestos gaseosos del carbono hacia la atmósfera (anhídrido carbónico, metano). También desempeñan una función esencial en el ciclo del nitrógeno, ya que hidrolizan el nitrógeno orgánico y lo transforman hacia formas asimilables para las plantas (ion amonio y nitrato); además, la actividad de ciertas bacterias anaerobias conduce a la desnitrificación, que consiste en la reducción del ion nitrato a nitrógeno gaseoso, que se libera hacia la atmósfera.

La disponibilidad del fósforo para las plantas, que es otro elemento esencial para su nutrición, también depende en cierta medida de la actividad microbiana, al transformar formas insolubles de fósforo a formas solubles fácilmente asimilables por las plantas. Otros procesos en los que participan bacterias son la reducción de compuestos de azufre a sulfuros y la oxidación de sulfuros.

Los protozoos son muy abundantes en las aguas residuales de tipo orgánico. Su papel en el tratamiento de las aguas residuales

domésticas es bien conocido, y se aprovecha para el buen funcionamiento de sistemas de tratamiento convencionales (fangos activados, filtros de percolación lenta). Son importantes organismos en la cadena trófica del sistema, ya que al alimentarse de bacterias, regulan la población bacteriana responsable de la descomposición de la materia orgánica. Otros aspectos a destacar son su contribución a flocular sólidos orgánicos en suspensión del agua residual y la excreción, como productos de su metabolismo, de orto fosfatos y amonio, compuestos inorgánicos de fósforo y nitrógeno, respectivamente, fácilmente asimilables por las plantas.

Con carácter general los hongos son organismos descomponedores de la materia orgánica. Los hongos que se encuentran en los humedales (actinomicetos y otros) son mayoritariamente organismos saprofiticos que se nutren de restos de organismos – restos de alimentos, residuos de plantas, contribuyendo, por tanto, a reducir la carga orgánica contaminante del sistema. (Belhateche, 1995)

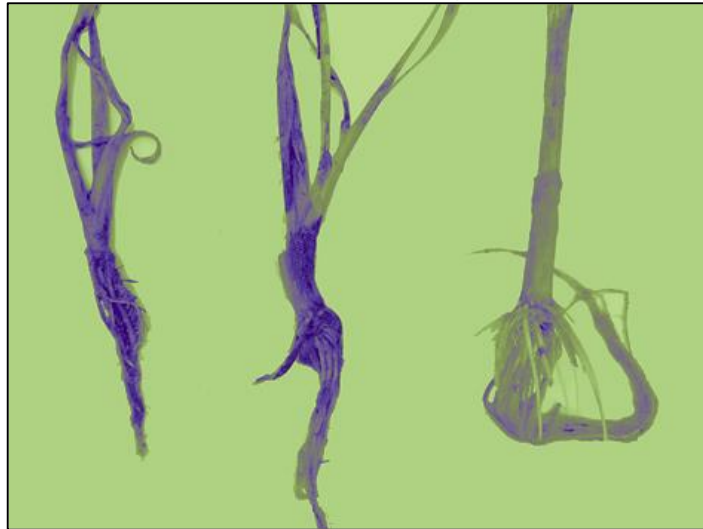
2.4.6. Algas

Las algas son organismos acuáticos fotosintéticos cuyo papel es esencial en la biosfera; así pues, se estima que las algas contribuyen con alrededor de un 90% a la fotosíntesis de la Tierra. La presencia de algas en los humedales es inherente a su condición de hábitats húmedos. Las algas, al realizar la función fotosintética, contribuyen a crear ambiente aerobio liberando oxígeno propicio para procesos oxidativos de la carga contaminante.

Sin embargo, la proliferación incontrolada de algas, que puede ocurrir cuando en el medio hay un exceso de nitratos y fosfatos (eutrofización), no es deseable, porque puede ocasionar efectos perniciosos en el sistema. Entre otros efectos, cabe señalar el

aumento de los sólidos en suspensión, turbidez, bloqueo del paso de la luz a través de la columna de agua, competencia por nutrientes con plantas superiores acuáticas y afección a las raicillas de la vegetación del humedal. (LARA, 1999)

Figura 2.2 Sistema Radicular de Typha SPP. Afectado por la Proliferación de Algas.



(LARA, 1999)

2.4.7. Vegetación

El papel de la vegetación en la eficacia de los sistemas de tratamiento de aguas residuales con macrofitas ha sido ampliamente debatido en el ámbito científico. Es indudable que la vegetación en los humedales artificiales es un componente fundamental del sistema, ya que el sistema de tratamiento está estrechamente relacionado con un tipo determinado de vegetación. Por ejemplo, no pueden desarrollarse sistemas acuáticos si no se dispone de plantas flotantes.

La vegetación desempeña papeles múltiples en el buen funcionamiento del sistema. Se trata tanto de actuaciones activas derivadas de la actividad fisiológica de la vegetación como

actuaciones pasivas, en las que no intervienen éstos, sino procesos físicos por efecto de la presencia de las plantas en el sistema. (GARCÍA, 2004)

2.4.8. Actuación Pasiva de la Vegetación en la Depuración

En el balance global de las funciones que desempeña la vegetación en los humedales artificiales, los procesos físicos suponen la función más importante de las plantas para la eficacia depuradora del sistema.

En primer lugar las macrofitas pueden ejercer funciones de desbaste, reteniendo los sólidos gruesos arrastrados por el agua residual. También, por actuar de barrera física para el flujo del agua residual, reducen la velocidad del influente, lo que favorece la floculación la sedimentación de partículas en suspensión.

Por otra parte, las partes de las plantas que están en contacto con el influente, actúan como soporte pasivo de microorganismos y crean en sus proximidades ambientes propicios para el desarrollo de estos; es decir, las plantas crean una enorme área superficial para el desarrollo de 'bio-películas', en las que crecen bacterias, protozoos, y algas microscópicas. (ANDRES, 1999)

También son de reseñar las actuaciones pasivas que se refieren a la parte aérea de las plantas. Cuando la vegetación tiene un determinado porte, como ocurre con plantas acuáticas emergentes, la vegetación tiene un cierto efecto amortiguador de las temperaturas extremas y otros fenómenos atmosféricos, ya que aísla la superficie del agua, intercepta lluvia y nieve, y reduce las pérdidas de calor que eventualmente se producen por el viento. (ANDRES, 1999)

2.4.9. Procesos activos de la vegetación en la depuración

Con respecto a las funciones que desempeñan activamente las plantas en los humedales artificiales, hay que destacar: el

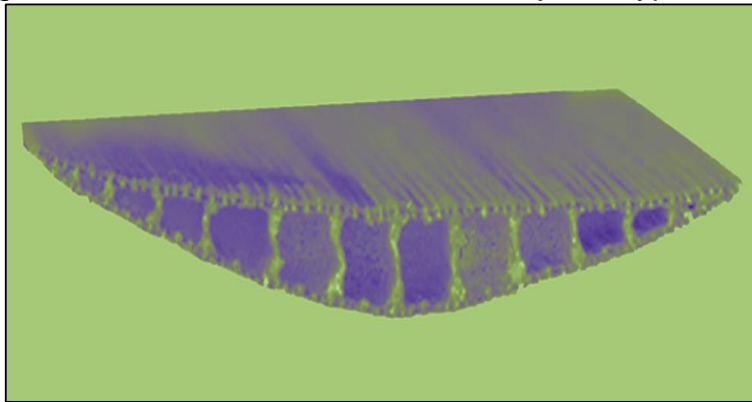
intercambio gaseoso hacia desde las hojas hacia la zona radicular en contacto con el agua residual, y la extracción de contaminantes del agua. Las plantas adaptadas a vivir en aguas con elevada carga orgánica, utilizando su propia energía procedente en última instancia de la energía solar captada por fotosíntesis, son capaces de enviar el oxígeno del aire raíces por medio de los microorganismos que viven asociados al sistema radicular de la planta. También las macrofitas pueden ejercer una depuración directa por la absorción de iones contaminantes, tanto metales pesados como aniones eutrofizantes (nitratos y fosfatos principalmente). (LARA, 1999)

2.4.9.1. Oxigenación del medio

Como ya se ha indicado, las plantas acuáticas, y particularmente, las macrofitas emergentes, han desarrollado mecanismos adaptativos a las condiciones de saturación del sustrato y de inundación. Entre estas adaptaciones hay que destacar las que se refieren a necesidad de proporcionar mecanismos de aireación de sus tejidos. La presencia de lenticelas, pequeñas aberturas en hojas y tallos, permite que el aire entre dentro de la planta, pero lo que es más importante es el desarrollo de un tejido especializado con grandes espacios huecos interconectados, el aerénquima, que permite la convección de gases a través de toda la longitud de la planta, llegando a proporcionar aire a las raíces. Finalmente, por intercambio gaseoso en las raíces se libera oxígeno al medio, redundando en la creación de un microambiente aerobio en el agua próxima a las raíces. Este microambiente estimula el desarrollo de microorganismos aerobios responsables de la degradación de la materia orgánica, resultando en la disminución de la carga contaminante del sistema. La magnitud del efecto oxigenador de las macrofitas acuáticas ha sido muy debatido en la comunidad

científica, entre otras razones por las dificultades experimentales y por la incertidumbre de la extrapolación. Por ejemplo, se indica que Phragmites puede liberar hasta 4,3 g O₂.día/m² y las plantas flotantes de 0,25 a 9,6 g O₂.día/m² (GARCÍA, 2004)

Figura 2.3 Corte Transversal de Una Hoja de Typha SPP.,



(GARCÍA, 2004)

En el que pueden observarse canales aeríferos que permiten la circulación de oxígeno hacia el sistema radicular.

2.4.9.2. Extracción de Nutrientes

El papel que desempeña la vegetación en la remoción de nutrientes y otros contaminantes del agua está estrictamente relacionado con factores intrínsecos de la planta. Obviamente, las extracciones en valores absolutos (g extraídos del elemento por unidad de superficie vegetada) dependerán del rendimiento de la planta (g de peso seco de biomasa producida por unidad de superficie) y del contenido en dicho elemento por unidad de peso seco de la planta. Las plantas acuáticas son muy productivas, por lo que la extracción de nutrientes por incorporación al tejido vegetal, puede llegar a ser muy significativa.

Como se sabe, hay tres grupos de elementos indispensables para la vida de las plantas:

- Macronutrientes: nitrógeno, fósforo, potasio, cuya proporción en la composición de la planta es del orden de 1-2%, 0,1-1% y 0,5-1% del peso seco de la biomasa respectivamente, aunque en determinadas plantas estos contenidos pueden ser muy superiores (por ejemplo, el contenido en nitrógeno de las lentejas de agua puede llegar al 7%).
- Micronutrientes: azufre, calcio, magnesio, cuya proporción es <0,5%.
- Oligoelementos: hierro, manganeso, cinc, cobre, boro, molibdeno, que son imprescindibles para la vida de las plantas pero se encuentran en proporciones muy pequeñas, del orden de ppm, en sus tejidos.

Además, hay otros elementos que tienen un cierto papel en la fisiología de algunas especies vegetales por ejemplo, cloro, silicio, cobalto—. También hay que mencionar que hay otros elementos que no siendo indispensables son acumulados por algunas plantas, aspecto que se aprovecha para la biorremediación, que es la recuperación a través de procesos biológicos de áreas (suelos, aguas) puntualmente contaminados por actividades industriales (metales pesados, hidrocarburos).

Los principales elementos contaminantes de las aguas residuales domésticas son el nitrógeno y el fósforo, generalmente en una concentración del orden de 20-85 mg/L y 4-15 mg/L, respectivamente. En una estimación conservadora para el contaminante mayoritario, el nitrógeno se asume que la vegetación contiene un 1,5% de N y que el rendimiento es del orden de 2 kg peso seco/m²/año; cosechando la biomasa aérea se elimina del sistema del orden de 30 g de nitrógeno, equivalente a la cantidad total de nitrógeno contenido en unos 380 L de agua residual. Algunos

autores indican que cosechando la biomasa se elimina del orden del 20% del nitrógeno que proviene del influente, y que la mayor proporción de remoción de este contaminante se efectúa por desnitrificación (liberación de nitrógeno gaseoso por reducción microbiológica).

Con respecto al fósforo, la cantidad que puede eliminarse del sistema por extracción de las plantas es menor, citándose cantidades del orden de miligramos por litro del agua residual. Otros autores calculan que la capacidad de las macrofitas para extraer nitrógeno y fósforo está en los intervalos de 200 a 2500 kg N/ha/año y 30 a 150 kg P /ha/año.

2.4.10. Fauna

La fauna que acompaña a los humedales artificiales principalmente está compuesta por diferentes especies insectos, y en menor medida, aves, peces, anfibios y reptiles ocasionales. Los insectos juegan un papel incuestionable en la cadena trófica, y son alimento de otros organismos superiores, como aves y peces. Sin embargo, algunos insectos pueden ser plagas de la vegetación implantada en el humedal, como por ejemplo pulgones, ácaros, y pueden llegar a causar daños significativos en las plantas.

Otros insectos, como los mosquitos, pueden ser dañinos o molestos para el hombre y en algunos emplazamientos pueden constituir una plaga importante contra la que hay que actuar.

Los mosquitos son un problema más probable en los sistemas que presentan superficie libre de agua que en los que el de flujo del agua es subsuperficial. Para evitarlo, se recurre a diseños específicos de la configuración del humedal y a predadores naturales de mosquitos.

El aspecto natural de los humedales artificiales y la disponibilidad de agua y alimento atraen a aves silvestres, que utilizan la

vegetación como refugio, redundando en la integración del sistema en el entorno; sin embargo, ello puede conllevar que se acerque público general que quede expuesto a riesgos de salud inherentes a las aguas residuales. (TATIANA, 2005)

2.4.11. Procesos de Remoción de Contaminantes en los Humedales

Dado que los humedales artificiales son sistemas biológicos, por precaución no se aconseja su uso indiscriminado para el tratamiento de aguas residuales brutas. Por tanto, antes de introducir el agua residual en los humedales artificiales es necesario eliminar o reducir el contenido de algunos contaminantes presentes en el agua bruta. En primer lugar, se realiza un pretratamiento para eliminar sólidos gruesos, arenas, materias flotantes y grasas (desbaste, desarenador, desengrasador). Después se realiza un tratamiento primario que tiene por objeto reducir el contenido en sólidos totales y en suspensión y materia orgánica, y puede realizarse por técnicas blandas como el lagunaje, o convencionales (tratamiento fisicoquímico). A continuación el agua residual podría introducirse en el sistema de humedal artificial para su tratamiento secundario, cuyo objeto es la eliminación de la materia orgánica biodegradable. Otra alternativa es realizar este tratamiento secundario por lagunaje, y utilizar el humedal para el tratamiento terciario del correspondiente efluente. Con este tratamiento se pretende la remoción de materia orgánica no eliminada en el tratamiento secundario y compuestos inorgánicos que causan eutrofización de las aguas (nitrógeno y fósforo) como mínimo hasta los límites que marca la normativa de vertidos. (CONLEY L., 1991)

Las características del influente que recibe el humedal artificial van a depender del tipo de tratamiento que antes se ha realizado. Para el caso más común, que es el de un tratamiento primario convencional, la composición típica es la siguiente: DBO 40-200

mg/L, sólidos totales 55-230 mg/L, sólidos en suspensión 45-180 mg/L, nitrógeno total 20-85 mg/L, nitrógeno amoniacal 15-40 mg/L, fósforo total 4-15 mg/L.

Obviamente los valores que tomen estos parámetros influyen en el funcionamiento del humedal, y en la medida que sean previsibles, condicionan su diseño, de modo que se favorezcan más los procesos que implican la remoción del mayor contaminante. Cuando el humedal es efectivo, se llegan a valores inferiores a 10 mg/L para DBO, sólidos totales y en suspensión, y para el nitrógeno total, inferiores a 15 mg/L.

Como ya se ha indicado, los humedales artificiales son sistemas de apariencia simple pero muy complejos en cuanto a su funcionamiento. Actúan a modo de filtro, sumidero de sedimentos y precipitados, y como motor biogeoquímico que recicla y transforma nutrientes. Se basan en un cierto equilibrio ecológico en el que interaccionan organismos vivos e intervienen procesos de muy diversa índole físicos, químicos, biológicos, hidrológicos—. Los mecanismos principales son de dos tipos: separaciones líquido/sólido y transformaciones de los componentes del agua residual. En el primer grupo de mecanismos se incluyen los procesos de sedimentación, filtración, absorción, adsorción, intercambio iónico, y lixiviado. En el segundo, reacciones de oxidación/reducción, ácido/base, precipitación, floculación, y reacciones bioquímicas en anaerobiosis/aerobiosis. (CONLEY L., 1991)

2.4.12. Sólidos en Suspensión

Se denominan sólidos en suspensión a aquellos sólidos que quedan retenidos en un filtro estandarizado de tamaño de poro 1,2 µm. Los procesos que conducen a su remoción dependen del tipo de humedal y de la categoría de partículas que contenga el agua

residual: sólidos sedimentables (tamaño $>100 \mu\text{m}$), partículas supracoloidales ($1-100 \mu\text{m}$), coloides ($10^{-3}-1 \mu\text{m}$) y sólidos solubles ($<10^{-3} \mu\text{m}$). Los sólidos sedimentables caen al fondo del sistema fácilmente por gravedad, mientras que los coloides no. (MÁLVAREZ, 1999)

En los sistemas de flujo de agua libre (flujo superficial) los sólidos en suspensión se eliminan por mecanismos de floculación /sedimentación y filtración/intercepción. Hay que señalar que además de los sólidos que contenga el influente el sistema puede también generarlos como consecuencia de restos de plantas, microorganismos y precipitados. La sedimentación ocurre por efecto de la gravedad, y en condiciones ideales se rige por la ley de Stokes, que indica que la velocidad de sedimentación es proporcional al cuadrado del diámetro de la partícula e inversamente proporcional a la viscosidad del fluido. La floculación ocurre naturalmente por unión de partículas cargadas eléctricamente que colisionan entre sí, bien por el discurrir del agua, o bien por efecto de las partes sumergidas de las plantas.

Una vez alcanzado un determinado tamaño de floculo, éstos sedimentan. Se calcula que la sedimentación de sólidos sedimentables y partículas supracoloidales ocurre, en condiciones estándar, en cerca de 3 días. El proceso de filtración del influente no suele ser muy significativo salvo que las partes sumergidas de las plantas formen un entramado denso. En cambio, el proceso de intercepción, acompañado de agrupación de partículas o adhesión de éstas a la superficie de las partes sumergidas de las plantas, sí que lo es.

En los sistemas de flujo sub-superficial la remoción de sólidos en suspensión es muy eficaz debido a que la velocidad del flujo del

influyente está ralentizada y hay una gran superficie proporcionada por el lecho de arena y grava.

Estos sistemas actúan como filtros horizontales, lo que facilita los procesos de sedimentación, floculación y adsorción. (MÁLVAREZ, 1999)

2.4.13. Materia Orgánica

Los procesos que conducen a la remoción de la materia orgánica son de dos tipos: físicos y biológicos, ambos estrechamente interrelacionados.

La materia orgánica que llega en el influente puede encontrarse en forma de partículas, coloides, supracoloides o disuelta. En los tres primeros casos, los principales procesos que conducen a su separación física son similares a los indicados para los sólidos en suspensión: floculación y sedimentación.

Además, pueden darse procesos de adsorción y absorción en la materia orgánica disuelta, procesos que genéricamente se denominan procesos de 'sorción' y que están relacionados con las características superficiales del sólido o cuerpo sobre el que se producen. (TATIANA, 2005)

En los procesos biológicos intervienen organismos vivos (micro y macroscópicos) e influyen de manera drástica factores como la disponibilidad de oxígeno, el pH del medio, y la temperatura. En estos procesos se pueden dar reacciones de oxidación/reducción, hidrólisis y fotólisis, que conducen a la biodegradación de la materia orgánica.

La materia orgánica biodegradable sirve como sustrato a múltiples organismos para desarrollarse. La disponibilidad de oxígeno en el influente, determinada a través del parámetro DBO, condiciona el tipo de microorganismos que intervienen en la degradación de la materia orgánica. Los microorganismos aerobios requieren oxígeno

como aceptor de electrones disuelto para desarrollarse y son muy eficientes en la transformación de la materia biodegradable en compuestos minerales, gases, y biomasa microbiana.

Por ello, las condiciones de aerobiosis son más adecuadas para reducir la contaminación por materia orgánica, que las de anaerobiosis. Los microorganismos anaerobios utilizan compuestos diferentes al oxígeno como aceptores de electrones, por ejemplo, nitratos, carbonatos o sulfatos, dando lugar a compuestos reducidos del tipo de óxidos de nitrógeno, nitrógeno, azufre, tiosulfato. Estas reacciones son menos eficientes que las que ocurren en ambientes aerobios, y para que la reducción de la contaminación orgánica sea significativa tiene que liberarse metano o hidrógeno.

Como ya se ha indicado, la disponibilidad de oxígeno es un factor fundamental para la remoción bioquímica de la materia orgánica. Esta disponibilidad dependerá del balance en el sistema entre el consumo (por respiración, fundamentalmente) y las aportaciones de oxígeno. Las posibles fuentes de oxígeno en el sistema provienen de la aireación superficial (oxígeno procedente de la atmósfera), fotosíntesis (oxígeno liberado por organismos fotosintéticos, a consecuencia de la fotoasimilación del carbono), y transferencia de la planta (liberación de oxígeno presente en el aerénquima).

La importancia de la disolución de oxígeno por aireación superficial depende de varios factores, como son temperatura, viento, flujo y concentración de oxígeno en el influente. Se estima que para un humedal de flujo libre superficial en condiciones medias, la transferencia de oxígeno por aireación es del orden de 0,5-0,9 g/m²/día. La contribución por oxígeno procedente de la fotosíntesis está en función de la cantidad de organismos fotosintéticos que se desarrollan en el agua. En los sistemas FWS son microorganismos fotosintéticos (fitoplancton y perifiton) y plantas sumergidas. Se

estima que en condiciones adecuadas se pueden generar del orden de 2,5 g O₂/m²/d en las horas de luz. Hay que considerar el balance global diario, ya que el consumo de oxígeno por respiración durante la noche puede llegar a equipararse con la producción diurna. Por esta razón, la concentración de oxígeno disuelto oscila en el día y no es homogénea en la columna de agua. En la zona inmediata a plantas sumergidas hay mayor concentración de oxígeno disuelto. La transferencia por difusión de oxígeno al agua residual desde las partes sumergidas de las plantas emergentes se produce como consecuencia de la existencia de vías de aireación interconectadas en los tejidos de estas plantas (aerénquima). La importancia de esta transferencia de oxígeno para la depuración del agua residual ha sido estudiada por diferentes autores, pero no se pueden inferir conclusiones determinantes porque los humedales artificiales son ecosistemas extremadamente complejos y dinámicos. Algunos autores indican que el oxígeno transferido se iguala al respirado, y que por tanto no habría una ganancia neta. Sin embargo, según otros estudios sí sugieren que habría ganancia neta, citándose un rango de 0 a 28,6 g O₂/m²/d.

Las reacciones de hidrólisis son fundamentales para transformar la materia orgánica sólida en forma de partículas, en compuestos orgánicos de más bajo peso molecular, que resultan más fácilmente atacables por microorganismos.

Las tasas de degradación dependen de la degradabilidad de estos compuestos, la temperatura y condiciones de disponibilidad de oxígeno. En condiciones aerobias, los productos finales son compuestos oxidados de nitrógeno y azufre, anhídrido carbónico y agua. En condiciones anaerobias, se producen ácidos orgánicos y alcoholes, y cuando ocurre metanogénesis los productos finales son metano, anhídrido carbónico e hidrógeno. (TATIANA, 2005)

2.4.14. Nitrógeno

El nitrógeno está presente en las aguas residuales en forma de nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amonio (NH_4^+) y nitrógeno orgánico de mayor a menor nivel de oxidación. Todas estas formas, incluido el nitrógeno gaseoso (N_2 , NO_x), forman parte del ciclo del nitrógeno porque están inter-relacionadas bioquímicamente.

La concentración de nitrógeno total en el influente del humedal, procedente de un tratamiento primario, suele estar en el rango de 8 a 85 mg/L, correspondiendo en general los valores más bajos a los efluentes de un pre-tratamiento de lagunaje, y los valores más altos a los de un pretratamiento convencional. El nitrógeno amoniaco (1-40 mg/L) y el nitrógeno orgánico son las dos formas predominantes en el influente. (ROBINSON, 1999)

En cambio, el nitrógeno nítrico suele ser muy bajo (0-1 mg/L), correspondiendo los valores más altos a los efluentes del pre-tratamiento por lagunaje. Los procesos de remoción del nitrógeno en los humedales artificiales son de tipo físico-químico y biológico.

2.4.15. Procesos Físico-Químicos de Remoción de Nitrógeno

La remoción por los procesos físicos de filtración, interceptación, floculación y sedimentación ocurre principalmente para la fracción de nitrógeno orgánico, ya que, como constituyente de materia orgánica, está asociado con sólidos en suspensión. Además, en las biopelículas que existen asociadas a las plantas emergentes y a restos vegetales se dan procesos de sorción de nitrógeno. El intercambio catiónico del ión amonio en las arcillas del sustrato del humedal puede también ocurrir, si bien su contribución está limitada a la capacidad de intercambio catiónico del sustrato. Otro proceso físico-químico a indicar es el desprendimiento de amoníaco gaseoso (volatilización), por efecto de la variación del pH del agua. El pH puede subir en puntualmente en momentos de alta actividad

fotosintética, y en condiciones determinadas de temperatura y alcalinidad el ión amonio pasa a amoníaco gas, que puede desprenderse del sistema. (Clair N. Sawyer, 2000)

2.4.16. Procesos Biológicos de Remoción de Nitrógeno

En relación a los procesos biológicos, o procesos en los que media la intervención organismos vivos, hay que mencionar: amonificación, nitrificación, desnitrificación, fijación de nitrógeno y asimilación por las plantas.

La amonificación, también denominada hidrólisis o mineralización del nitrógeno orgánico, consiste en la transformación biológica del nitrógeno que está en la materia orgánica a nitrógeno amoniacal, proceso que ocurre durante la degradación de la materia orgánica.

Puede ocurrir en condiciones aerobias o anaerobias; hay estudios que indican que en condiciones anaerobias la amonificación ocurre más lentamente que en condiciones aerobias. La velocidad con que ocurre este proceso depende del pH, y aumenta con la temperatura. Como referencia, se cita que las aguas residuales domésticas se hidrolizan totalmente en 19 horas a temperaturas de 11-14°C. El amonio formado puede sufrir procesos subsecuentes, como inmovilización por intercambio catiónico, volatilización en forma de amoníaco gaseoso, absorción por organismos fotosintéticos, asimilación por microorganismos y nitrificación.

La nitrificación es el proceso de conversión biológica del amonio a nitrato por parte de microorganismos aerobios nitrificantes, suspendidos en el agua o situados en las biopelículas de las superficies sumergidas. El proceso se realiza en dos fases; la primera es la oxidación del amonio a nitrito por bacterias del género *Nitrosomona*, y la segunda, la del nitrito a nitrato por bacterias del género *Nitrobacter*. ((EPA), 2000)

La velocidad del proceso depende del pH y la temperatura. Se requieren condiciones aerobias del orden de 4,3 g de O₂ son necesarios para oxidar 1 g de nitrógeno amónico a nitrato- y suficiente alcalinidad del orden de 7,14 gCaCO₃. El ión nitrato, al contrario que el amonio, no se inmoviliza en el sustrato, sino que permanece en el agua; de allí puede ser absorbido por plantas o microorganismos, o ser reducido (desnitrificación).

La desnitrificación, o reducción del nitrato a nitrógeno gaseoso, se produce en condiciones anaerobias por microorganismos –bacterias heterótrofas– que utilizan el nitrato como aceptor de electrones y el carbono orgánico como donante electrónico; es decir, son condiciones indispensables la ausencia de oxígeno y la disponibilidad de carbono orgánico. Entre estos dos requerimientos, el que suele ser más limitante es el de la disponibilidad de carbono, ya que en el fondo del humedal se mantienen condiciones anóxicas. Como mínimo es necesario 1 g de carbono por g de nitrógeno nítrico para su desnitrificación.

El carbono puede proceder bien de la contaminación orgánica del influente o bien de los restos de plantas y otros organismos. Los productos de la desnitrificación son nitrógeno molecular N₂, y óxido de nitrógeno N₂O. La desnitrificación tiene lugar, principalmente, en los sedimentos del humedal y en biopelículas de zonas con muy bajo oxígeno disuelto y con alta disponibilidad de carbono, como son las zonas del fondo en las que hay restos vegetales descomponiéndose o exudados de plantas. El proceso origina una cierta alcalinidad, aproximadamente 3 g de alcalinidad expresada como CaCO₃, por cada g de nitrógeno nítrico reducido, y la velocidad a la que se produce depende del pH y la temperatura. El nitrógeno gaseoso pasa a la columna de agua, quedando a disposición de organismos que pueden fijarlo, o se libera a la

atmósfera. La pérdida a la atmósfera es más fácil en las zonas del humedal que tienen la lámina de agua sin vegetar que en aquellas completamente cubiertas. (LAHORA CANO, 2004)

El proceso de asimilación del nitrógeno gas N_2 a nitrógeno orgánico se denomina fijación del nitrógeno, y se realiza por organismos que contienen enzima nitrogenasa, como algunas bacterias y algas verde-azuladas, en condiciones anaerobias o aerobias. Los lugares probables en los que puede ocurrir la fijación, en los sistemas FWS, son: la capa superficial del agua en las zonas abiertas, en los sedimentos, en la rizósfera oxidada y sobre la superficie de hojas y tallos de las plantas.

El proceso de extracción de N por las plantas consiste en la asimilación de formas inorgánicas del nitrógeno para formar compuestos orgánicos nitrogenados estructurales de la planta. Como se sabe, el nitrógeno es un macronutriente indispensable para las plantas; cuanto mayor es la tasa de crecimiento de la planta mayor es la extracción de nitrógeno. Se estima que la vegetación de los humedales extrae entre 0,5 y 3,3 g de $N/m^2/año$; entre las especies emergentes las menos exigentes son los juncos y juncias, y las más exigentes las eneas o espadañas.

Las plantas acumulan el nitrógeno principalmente en sus órganos vegetativos verdes (hojas, tallos). Para eliminar ese nitrógeno del sistema hay que retirar periódicamente del humedal la biomasa producida; de otro modo el nitrógeno se recicla en el sistema debido a la incorporación de los restos vegetales en el humedal. (LARA, 1999)

2.4.17. Comportamiento del Sistema Respecto al Nitrógeno

El nitrógeno orgánico asociado a sólidos, que llega a un sistema de depuración con macrofitas, en el que se mantenga capa de agua, sufre un proceso de separación por procesos físicos, parte se

sedimenta, otra parte se intercepta por las partes sumergidas de las plantas, otra fracción pasa a formar parte de las biopelículas, y otra parte queda en suspensión, flotando o siguiendo el flujo del agua. Los compuestos biodegradables son amonificados poco a poco por organismos aerobios o anaerobios presentes en biopelículas y sedimentos. Parte del amonio es extraído por las plantas, especialmente durante la época de crecimiento. El resto del amonio puede permanecer en el sedimento durante un tiempo o pasar a la columna de agua. En condiciones de pH elevado y temperatura adecuada, en las zonas de aguas libres sin vegetar, la volatilización del amoníaco puede llegar a ser significativa. En otras circunstancias, en las proximidades de la lámina de agua en superficies aireadas es decir, sin cubierta vegetal y otras zonas en las que exista suficiente oxígeno disuelto, el amonio puede ser nitrificado por organismos nitrificantes. También puede ocurrir algo de nitrificación en las superficies adyacentes a los rizomas de las plantas emergentes, ya que en esas superficies la planta libera algo de oxígeno.

Sin embargo, allí el proceso es poco intenso ya que las plantas están enraizadas en los sedimentos donde las condiciones son anaerobias. Lo normal es que cerca de la entrada del influente al humedal no haya nitrificación porque la carga orgánica, y por tanto, la demanda en oxígeno es alta. Por el contrario, la nitrificación ocurre en zonas más alejadas, sin vegetación, suficientemente aireadas. El nitrógeno nítrico, ya sea el formado por nitrificación o el que procede del influente, puede ser utilizado como nutriente por microorganismos y plantas, o pasar a los sedimentos. En condiciones anaerobias y en presencia de materia orgánica puede ser desnitrificado por microorganismos que se encuentren suspendidos en el agua o asociados a biopelículas, y de esta

manera, el nitrógeno gaseoso pasar a la atmósfera. (PAREDES D, 2001)

En un humedal de flujo de agua superficial, las transformaciones que sufre el nitrógeno que entra con el influente se desarrollan más o menos secuencialmente aguas abajo: separación de nitrógeno orgánico en las proximidades de la entrada, seguida de liberación de amonio, nitrificación y desnitrificación. Si hay una alta demanda en oxígeno la nitrificación puede ser despreciable.

Las plantas atenúan la secuencia indicada, debido a que crecimiento y senescencia son procesos cíclicos; la extracción de nitrógeno (asimilación por la planta) se acentúa en primavera verano y la incorporación de nitrógeno al sistema (caída y descomposición de restos vegetales) en otoño-invierno.

En términos cuantitativos, los procesos más importantes de remoción del nitrógeno en el humedal de flujo de agua superficial son: la extracción por las plantas seguida del cosechado de la biomasa, y la nitrificación seguida de desnitrificación. Estos procesos son más activos en la época estival, ya que entonces las plantas muestran una alta tasa de crecimiento absoluto y las temperaturas favorecen la nitrificación/desnitrificación.

En los sistemas de flujo subsuperficial, los procesos físicos de separación del nitrógeno orgánico asociado a los sólidos en suspensión son muy eficaces, ya que el lecho de grava/arena proporciona una gran superficie de interceptación. El sistema además, favorece reacciones anaeróbicas asociadas con la existencia de biopelículas que recubren los sólidos inertes del lecho. El nitrógeno orgánico sufre amonificación, y el amonio liberado, si está al alcance de las raíces, puede ser asimilado por las plantas; en caso contrario, discurre con el flujo del agua hacia la salida. Dado que la oxigenación en este tipo de humedales suele

ser muy pequeña, el proceso de nitrificación es prácticamente despreciable, ya que sólo puede suceder en la capa adyacente a la superficie de los rizomas o en la cercana a la superficie del lecho, aguas abajo. Este tipo de sistema es eficaz en la desnitrificación de los influentes nitrificados, debido a su condición predominantemente anaerobia, siempre y cuando exista un cierto suministro de carbono orgánico para la actividad microbiana. (LARA, 1999)

2.4.18. Fósforo

El fósforo se encuentra en las aguas residuales en forma de fosfatos, ya sea disueltos o en partículas. Los fosfatos se clasifican en ortofosfatos, fosfatos condensados (piro- meta- y poli-fosfatos) y fosfatos en compuestos orgánicos (fósforo orgánico). Los fosfatos orgánicos se forman por procesos biológicos, y en el agua residual son componentes de restos de alimentos y otros residuos orgánicos, y organismos. El fósforo inorgánico del agua residual procede generalmente de productos de limpieza; otra fuente posible son los fertilizantes agrícolas. El rango de valores de fósforo total en el influente del humedal es de 3-15 mg/L, en su mayoría como ortofosfatos (2-12 mg/L).

El fósforo, junto el nitrógeno, es uno de los elementos más importantes en los ecosistemas. Sin embargo, a diferencia de nitrógeno, no hay un compuesto gaseoso significativo del fósforo que cierre el ciclo, sino que la tendencia, en la naturaleza, es a que el fósforo se acumule en sedimentos, cuando no es constituyente de organismos. Así pues, el principal mecanismo de remoción de fósforo de las aguas residuales necesariamente está basado en la acumulación en sedimentos y biomasa. (ANDRES, 1999)

2.4.19. Procesos Físico-Químicos de Remoción de Fósforo

El fósforo que está en forma de partículas (sólidos) puede depositarse por sedimentación en el fondo del humedal, o bien

quedar atrapado entre la maraña que forman las plantas emergentes y adherirse en la superficie que forman las biopelículas, y desde allí quedar susceptible a sufrir otros procesos de tipo biológico.

Con respecto al fósforo soluble, hay que indicar que su dinámica es compleja, e incluye procesos físico-químicos de adsorción/absorción, intercambio, precipitación, solubilización, y redox. Los procesos de adsorción/absorción se dan sobre biopelículas en plantas y residuos y sobre los sedimentos del humedal. En los sedimentos suele ocurrir un intenso intercambio de fósforo con la columna de agua. Los fosfatos pueden formar precipitados insolubles de hierro, calcio y aluminio, o ser adsorbidos por las arcillas, materia orgánica (turba) y algunos compuestos inorgánicos (óxidos e hidróxidos de aluminio). Las condiciones básicas favorecen la formación de fosfatos de calcio insolubles; en condiciones ácidas pueden ocurrir precipitados de hierro y aluminio. Cuando hay cambios de pH los precipitados pueden resolubilizarse. El fosfato adsorbido en las arcillas puede liberarse por intercambio de aniones, o por un bajo potencial redox. Por ejemplo, en condiciones reductoras, los compuestos con hierro férrico se reducen a compuestos de hierro ferroso, que son más solubles y liberar el ión fosfato. También en condiciones anóxicas los fosfatos férricos y aluminicos pueden hidrolizarse ocasionando la solubilización de fosfatos. (ANDRES, 1999)

Al comienzo del funcionamiento del humedal, los procesos que conducen a la inmovilización en el sustrato/sedimento del fósforo que llega en el influente, son intensos, y por ello suele observarse una eficacia alta en la remoción de la contaminación por fósforo. Sin embargo al cabo de un tiempo algo más de un año se alcanza el límite de la capacidad de inmovilización en el sustrato/sedimento, y

entonces este mecanismo de remoción pasa a ser poco significativo.

2.4.20. Procesos Biológicos de Transformación de los Fosfatos

El fósforo orgánico disuelto, fósforo orgánico en partículas y fósforo insoluble no están disponibles para las plantas, a menos que sean transformados en fósforo inorgánico soluble. En el humedal estas transformaciones pueden ocurrir por la intervención de microorganismos que se hayan suspendidos y en biopelículas sobre superficies de plantas emergentes y en los sedimentos.

Una vez solubilizado, puede ser asimilado por plantas y otros organismos bacterias, algas y por tanto, ser temporalmente retirado del agua. (TATIANA, 2005)

Se estima que la cantidad neta de fósforo que extraen las plantas emergentes oscila entre 1,8 y 18 g P/m²/año; esta extracción sucede durante el período de crecimiento de las plantas. Después, si no se retira la biomasa vegetal (otoño), el fósforo volvería al efluente debido a la senescencia y muerte de los tejidos vegetales, que se incorporan al agua. Sin embargo, también parte del fósforo que devuelven los restos vegetales al sistema puede pasar a formar deposiciones en los sedimentos, dando lugar a su inmovilización.

2.4.21. Comportamiento del Sistema Respecto al Fósforo

La remoción significativa del fósforo se debe principalmente a la deposición e inmovilización de los fosfatos en los sedimentos; la vegetación contribuye con las extracciones de fósforo, siempre y cuando la biomasa se retire del sistema.

Como ya se ha indicado, una parte importante del fósforo del influente sigue una dinámica compleja de reciclado en el mismo sistema, que puede resumirse en la secuencia solubilización extracción-incorporación; ocasionalmente se forman precipitados o deposiciones que conducen a su inmovilización.

La remoción de fósforo por las extracciones de vegetales y otros organismos sigue un patrón estacional en los climas templados, ya que el crecimiento y senescencia de las plantas depende del clima. Típicamente, en otoño se registra una subida del fósforo en el efluente, como consecuencia de la incorporación del fósforo contenido en los restos vegetales. (LARA, 1999)

2.4.22. Patógenos

Las aguas residuales pueden contener un amplio espectro de organismos patógenos, entre los que se incluyen helmintos, protozoos, hongos, bacterias o virus. Sin embargo, para caracterizar rutinariamente el grado de contaminación del agua únicamente se realiza la determinación de un grupo de microorganismos que sirva como índice de contaminación fecal, ya que la caracterización completa sería inabordable económicamente. El indicador más común utilizado es el recuento de coliformes fecales, que en los influentes de los humedales oscila entre 0,8 y 7,0 colonias/100 mL. (TATIANA, 2005)

Los patógenos pueden encontrarse en la fracción de sólidos del influente, o en suspensión en el agua. En el primer caso, los patógenos pueden separarse del agua por los procedimientos asociados con la remoción de sólidos, es decir, por sedimentación, interceptación y adsorción/absorción. Una vez separados pueden quedar retenidos en las biopelículas o en el sedimento, o bien volver a incorporarse al flujo. En cualquier caso, para sobrevivir tienen que entrar en competencia con los otros organismos no patógenos, y soportar las condiciones ambientales del humedal. Estas condiciones no suelen ser apropiadas para su supervivencia, ya que como organismos intestinales requieren sustratos ricos y altas temperaturas. En consecuencia, la mayor parte de los patógenos no sobrevive por falta de adaptación al medio; otros

desaparecen por organismos depredadores, o si están próximos a la superficie del agua, por efecto de la radiación ultravioleta. En cambio, otros patógenos como virus y protozoos que se dispersan por esporas, son más resistentes. Por ello, en función del destino del efluente del humedal puede ser necesario hacer un tratamiento de desinfección antes de su descarga. (TATIANA, 2005)

2.4.23. Metales Traza

El influente de los humedales artificiales puede contener metales traza que haya que eliminar en el sistema. Algunos metales son necesarios en una cierta cantidad que depende del metal para el crecimiento de plantas y animales, pero en cantidades altas pueden resultar tóxicos, como por ejemplo, el cromo, cobalto o cobre. Otros, en cambio, no tienen papel biológico y son tóxicos en cantidades muy pequeñas, como el arsénico, mercurio o cadmio. Cuando se sabe fehacientemente que el agua residual tiene contaminación significativa por metales, es necesario llevar a cabo tratamientos específicos de descontaminación, que exceden a los objetivos de los humedales artificiales de tratamiento de aguas residuales de población. Algunos de esos tratamientos involucran métodos biológicos, y se denominan genéricamente 'biorremediación'.

Precisamente uno de los mecanismos que se utiliza en biorremediación es la extracción por las plantas, aprovechando la capacidad de acumulación que algunas especies vegetales tienen con respecto a algún metal. (ANDRES, 1999)

Los metales que lleva el influente de los humedales artificiales se pueden encontrar en formas solubles o insolubles en los sólidos suspendidos.

En este último caso su separación sucede por procesos parecidos a los que intervienen en la remoción de la contaminación por sólidos. También puede ocurrir su solubilización, dependiendo del pH y del

potencial redox. Los procesos de remoción de metales de tipo físico-químico son: el intercambio catiónico y formación de quelatos con el sustrato o con los sedimentos, la unión con materiales húmicos y la precipitación de sales insolubles como sulfatos o carbonatos. Estos procesos conducen a una acumulación en el fondo del humedal, y por tanto, a la separación de los metales del flujo de agua. Si los sedimentos o el sustrato del humedal se remueven puede ocurrir la resuspensión de los metales y ocasionalmente su solubilización.

Los procesos biológicos de remoción de metales se basan en la extracción por plantas, algas y bacterias. En el caso de las macrofitas, la extracción se realiza a través del sistema radicular, y la capacidad de extracción depende del tipo de metal y de la especie vegetal que se trate. Para similar capacidad de extracción, cuanta más biomasa pueda formar la planta mayor será la cantidad absoluta que se habrá eliminado del sistema. (ANDRES, 1999)

2.4.24. Importancia Fisiológica del Hierro

En plantas y otros organismos una gran parte del Fe presente se encuentra asociado con porfirinas. Las porfirinas con Fe de animales y hongos son principalmente moléculas hem, mientras que en las plantas son los citocromos los más comunes. Los citocromos se encuentran como partes funcionales de los sistemas respiratorio y fotosintético y su propiedad más importante, la función redox, se deriva de la capacidad del Fe de ser oxidado de manera reversible de Fe (II) a Fe (III). Esta capacidad se utiliza en donde se requiere realizar reacciones redox rápidas por transferencia de electrones, es decir, reacciones que no requieren transferencia de H^+ o formación/rompimiento de enlaces covalentes. La mayor parte del Fe activo en la planta se ve implicado en las reacciones redox de cloroplastos, mitocondrias y peroxisomas. El hierro se encuentra

también implicado en muchos sistemas enzimáticos en donde no se asocia a un grupo prostético o, incluso, no se asocia estructuralmente a la enzima, si bien cumple un papel que se supone importante aunque poco definido. (THEIL, 1997)

2.4.25. Absorción y Asimilación de Hierro

Aunque el Fe es el cuarto elemento más abundante de la corteza terrestre, la deficiencia de hierro es un problema común a prácticamente todas las especies de seres vivos. El Fe se presenta en dos estados de oxidación: el Fe^{+3} o férrico y el Fe^{+2} o ferroso. En presencia de O_2 el Fe^{+2} es oxidado rápidamente a Fe^{+3} , el cual es poco soluble en agua y en donde precipita como óxidos de Fe. Por lo tanto, en nuestra atmósfera rica en O_2 , la forma termodinámicamente más estable del hierro es también la de más difícil acceso para los organismos. La pregunta que surge es ¿cómo resuelven las entidades biológicas este problema? (THEIL, 1997)

Se sabe que los iones de metales pesados (como el Fe, Zn o Cu) no atraviesan libremente la membrana celular. Las formas de paso de estos metales son quelatos. Los quelatos sintetizados biológicamente y cuya función es acarrear iones de metales son llamados ionóforos, y los ionóforos específicos para el hierro son conocidos como sideróforos (Emery, 1982; Olsen et al., 1981; Kloepper et al., 1980). Un mecanismo general de acción entre las bacterias, cianobacterias y hongos, como respuesta a la carencia de hierro, es la excreción de sideróforos hacia el medio de crecimiento y la posterior recuperación de los mismos a través de un mecanismo de absorción, asociado al metabolismo energético, que involucra un reconocimiento por parte de un receptor de membrana (Emery, 1982). En muchos hábitats y bajo muchas condiciones llega a presentarse competencia por el Fe entre

diferentes organismos; lo que resuelve la cuestión a favor de uno u otro es la habilidad relativa que presentan los sideróforos de cada uno de ellos para complejar el hierro (Emery, 1982; Olsen et al., 1981; Kloepper et al., 1980; Murphy et al., 1976).

2.4.26. Absorción de Hierro por Ustilago Sphaerogena y Otros Microorganismos

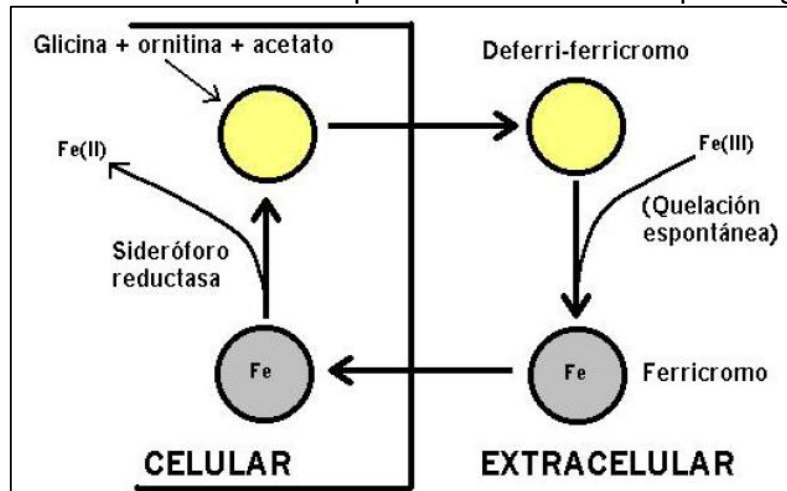
El hongo Ustilago sphaerogena fue estudiado por J. Neilands, a partir de 1950, en relación con el metabolismo del hierro ya que, bajo condiciones normales de disponibilidad de Fe en el medio de crecimiento este organismo es capaz de producir hasta un 1% de su peso seco en forma de citocromo c, una proteína que contiene hierro. En un estudio reportado en 1952 (J. Am. Chem. Soc. 74:4846-4847) Neilands observó que bajo estrés de carencia de hierro el hongo excretaba una gran cantidad de una sustancia que fue cristalizada, caracterizada y llamada por Neilands como ferricromo. Se demostró posteriormente que el sideróforo ferricromo tiene 3 grupos hidroxinámicos --CO--NOH-- los cuales se sabe son potentes agentes quelatantes del + Fe (III) (Emery, 1982).

El sistema de transporte de Fe de U. Sphaerogena es parecido al de muchos microorganismos. Cuando se detecta carencia de hierro se inducen una serie de cambios metabólicos que se traducen en mayor eficiencia en la asimilación de dicho elemento. La síntesis de proteína celular disminuye y la actividad se canaliza hacia la producción de deferriferricromo (la parte orgánica del ferricromo) sin el hierro. El deferriferricromo tiene una constante de afinidad hacia el Fe de aproximadamente 1029 (un valor de 1015 ó 1020 se considera muy alto) por lo que es capaz de solubilizar los óxidos de hierro.

El sistema transportador de Fe de U. sphaerogena es típico de muchos microorganismos. El ferricromo es un hexapéptido cíclico

que consiste de tres residuos de glicina y tres residuos de ornitina. Los N terminales de la ornitina son oxidados a hidroxilamina, $-NOH-$, y combinados con tres grupos acetilo, CH_3CO- , para dar lugar a los grupos hidroxamato que complejan el Fe. El de ferri-ferricromo presenta gran afinidad por el Fe (III) por lo que rápidamente forma complejos ferricromo Fe (III). Dicho complejo es acarreado a la célula por un sistema transportador y una vez en el interior el complejo es reducido por la sideróforo reductasa lo que causa la liberación del Fe(II) formándose de nuevo el ferricromo que al ser excretado al medio de crecimiento inicia de nuevo el ciclo. (ROBINSON, 1999)

Figura 2.4 El Sistema Transportador de Fe de *U. Sphaerogena*



(VAN WUYTSWINKEL, 1999)

Con el hierro férrico Fe (III) se asocia tres cargas positivas. Cuando el Fe (III) es quelado por el ferricromo cada grupo hidroxinámicos pierde un protón y lo que resulta es una molécula eléctricamente neutra. Al mismo tiempo, al llevarse a cabo el complejamiento, el ferricromo cambia su conformación y toma una forma globular muy regular. Este hecho implica que el receptor/acarreador de

membrana distingue entre el ferricromo que acarrea el Fe y el que aún no lo hace. Una vez en el interior de la célula, el Fe (III) es reducido a Fe (II), utilizando NADPH o NADH, por enzimas llamadas sideróforo reductasas. Ya que la constante de afinidad del ferricromo hacia el Fe (II) es muy pequeña el mencionado Fe (II) se libera inmediatamente del anillo quelante y es canalizado hacia la síntesis de grupos hem. Una vez libre de hierro, el deferriferricromo es de nuevo excretado al medio para iniciar un nuevo ciclo (Emery, 1982). Al igual que U. Sphaerogena el hongo Ustilago maydis produce un sideróforo llamado ferricromo que el cual compleja el Fe (III), este Fe-ferricromo es absorbido y en el interior de la célula el Fe (III) es reducido a Fe (II). Además de esta actividad Ardon et al. (1998) demostraron que Ustilago maydis es capaz de reducir Fe(III) complejo con sideróforos no nativos (xenosideróforos), al contrario de lo que ocurre con el ferricromo los autores encontraron que la actividad reductiva se asoció a la membrana pero no involucró transferencia intracelular del xenosideróforo. (VAN WUYTSWINKEL, 1999)

En algunos organismos el sideróforo libre de hierro no es reciclado, en vez de ello el compuesto es hidrolizado y debe sintetizarse una molécula de ligando por cada átomo de Fe que es incorporado. Tal es el caso que se observa en Escherichia coli y Fusarium roseum (Emery, 1982).

2.4.27. Absorción de Hierro por Plantas

El contenido normal de Fe en el tejido vegetativo de hortalizas es de 50-300 mg kg⁻¹ (ppm) en términos de materia seca (Zuang, 1982). Olsen et al. (1981) mencionan que, en general, la cantidad de hierro requerida por un cultivo típico por temporada de crecimiento es de 5 -10 kg ha⁻¹. El contenido de Fe (III) de muchos suelos es mucho mayor que esta cantidad aunque, como fue mencionado, el

problema con esta forma iónica radica en su escasa solubilidad (Chen y Barak, 1982; Olsen et al., 1981). En la solución de agua del suelo la concentración mínima reportada para obtener un crecimiento razonable en diferentes cultivos es de 10^{-9} molar. Incluso bajo condiciones estándar con pH=7 la concentración de Fe derivado del Fe (OH)₃ es de 2×10^{-18} molar (ver recuadro 1). Así pues, las plantas deben tener forzosamente medios de solubilizar el Fe (III) de los óxidos e hidróxidos de hierro.

Tabla 2.1 Efectos del pH Sobre la Solubilidad del Fe(III)

$Fe(OH)_3 \rightarrow Fe^{+3} + 3OH^-$
La constante de solubilidad es $k_{sp} = 2 \times 10^{-39} = [Fe^{+3}][OH^-]^3$
Por lo tanto $[Fe^{+3}] = (2 \times 10^{-39}) [OH^-]^3$
Si el pH =7 entonces $[OH^-] = 10^{-7}$ y $[Fe^{+3}] = 2 \times 10^{-18} M$
Si el pH =9 entonces $[OH^-] = 10^{-5}$ y $[Fe^{+3}] = 2 \times 10^{-24} M$
Si el pH =6 entonces $[OH^-] = 10^{-8}$ y $[Fe^{+3}] = 2 \times 10^{-15} M$
Si el pH =4 entonces $[OH^-] = 10^{-10}$ y $[Fe^{+3}] = 2 \times 10^{-9} M$

Las plantas tienen dos diferentes vías o estrategias por medio de las cuales son capaces de aumentar la disponibilidad de Fe (III) en la solución de agua del suelo: (THEIL, 1997)

2.4.27.1. Estrategia I.

Las monocotiledóneas no gramíneas y las dicotiledóneas pueden disminuir el pH en la rizosfera. La disminución en el pH solubiliza el Fe (III) y promueve la reducción del mismo a Fe (II). El Fe (III) solubilizado debe reducirse a Fe (II) antes de atravesar la membrana celular a través de la acción de proteínas reductoras asociadas a las membranas celulares. (YI, 1996)

2.4.27.2. Estrategia II.

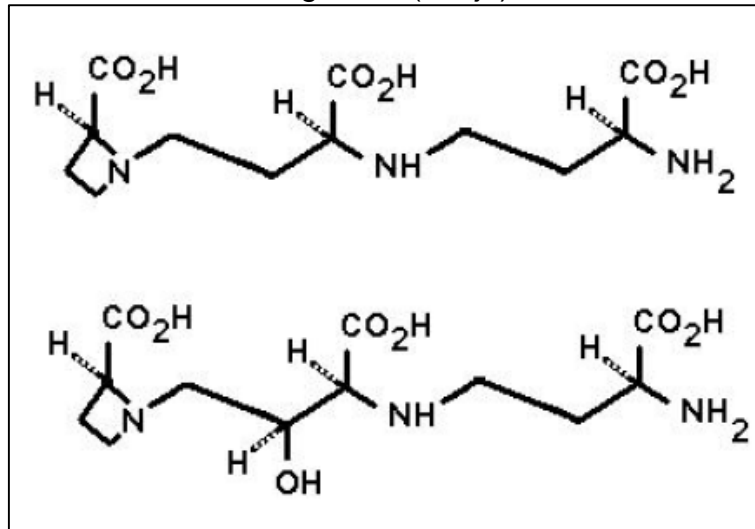
Las gramíneas excretan fitosideróforos, aminoácidos no proteínicos, que solubilizan los iones Fe^{+3} formando un complejo Fe-fitosideróforo (estrategia II). La liberación de fitosideróforos se correlaciona positivamente con diferencias genotípicas en la resistencia a la clorosis férrica. Se sabe que los fitosideróforos acarrearán también otros cationes como el Zn, Mn y Cu. (YI, 1996)

Las plantas con la estrategia I disponen de aminoácidos no proteínicos para el transporte interno de Fe (es decir, intra e intercelular) como la nicotinamina. La carencia de nicotinamina da lugar a déficit de hierro en los tejidos como se ha observado en el mutante cloronerva del tomate (*Lycopersicon esculentum*) que tiene una falla en el gene que controla la síntesis del mencionado compuesto (Ling et al., 1996). Los fitosideróforos de las gramíneas presentan estructuras químicas muy parecidas a la nicotinamina, siendo de hecho la metionina el precursor y la nicotinamina un intermediario en la síntesis (Römheld, 1991), por ello se ha dicho que la estrategia II es una extensión extratisular de los mecanismos de transporte de Fe intra e intercelulares. (VAN WUYTSWINKEL, 1999)

En la estrategia I la disminución en el pH es realizada a través de la excreción de protones (provenientes de una ATPasa asociada a la membrana plasmática) y, en menor medida, de una mezcla compleja de ácidos orgánicos, principalmente citrato y malato, los cuales pueden funcionar como agentes quelantes del hierro y como fuente de carbono para microorganismos. Se supone que la mayor actividad respiratoria de los microorganismos asociados a la rizosfera disminuye el nivel de O_2 generando microambientes facilitadores de la reducción de Fe (III). La producción y acumulación de citrato y malato en las raíces se consigue por la

inducción de mayor actividad de PEPcarboxilasa en las raíces. En el caso de las gramíneas con estrategia II estas producen ácidos orgánicos pero aparentemente no excretan protones (Bienfait, 1988). (VAN WUYTSWINKEL, 1999)

Figura 2.5 Estructura Química de la Nicotinamina (arriba) y el ácido Muginéico (abajo).



(Olsen et al., 1981)

En algunas plantas la respuesta inicial a la deficiencia de Fe es la formación de células de transferencia en la epidermis de las raíces. Estas células liberan iones H^+ además de ser la interfase en donde se lleva a cabo la reducción del Fe (III). En caso de volverse disponible el Fe en el sustrato las mencionadas células de transferencia disminuyen su actividad y terminan por desaparecer (Brown y Jolley, 1989). Según los resultados de Moog et al. (1995) la inducción de las células de transferencia, como respuesta a la carencia de Fe, puede ocurrir de manera independiente respecto a un incremento en la actividad reductiva de Fe(III). Este hecho parece indicar que las respuestas morfológicas y fisiológicas al Fe se controlan de forma separada.

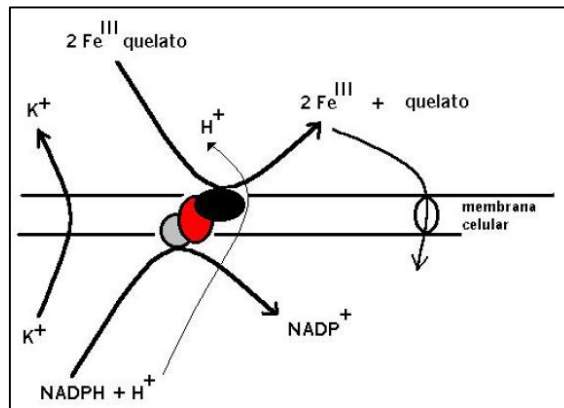
Se mencionó que asociada al proceso de acidificación de la solución del suelo, y a la consiguiente solubilización del Fe(III), las

plantas llevan a cabo la reducción del Fe(III) solubilizado a Fe(II). Este cambio parece evitar la posible competencia que pudiera surgir por parte de los sideróforos de microorganismos, que se encuentran en los suelos en cantidades significativas, y que tienden a atrapar el Fe(III) disponible. Se pensaba que esta reducción Fe(III)→ Fe(II) se realizaba en buena parte por una serie de compuestos fenólicos reductores de Fe(III) como ácido caféico y sus derivados (Olsen et al., 1981), sin embargo la cantidad de compuestos reductores producidos no es suficiente para cubrir las necesidades de Fe(II) de la planta por lo que, al parecer, dicha actividad es llevada a cabo en su mayor parte por reductasas de los complejos Fe-quelato que son proteínas asociadas a las membranas. Se supone que la función de los fenólicos se refiere más bien a mantener estable la concentración de Fe(II) para que este sea tomado por los complejos transportadores ubicados en la membrana y que se encargan de acarrearlo al interior de la célula. En la soya (*Glycine max*) el sitio de reducción Fe(III)→ Fe(II) se encuentra principalmente en las regiones de alargamiento y en proceso de maduración de la raíz así como en las raíces laterales jóvenes (Ambler et al., 1971). Algunas plantas como el melón (*Cucumis melo*) no liberan reductores a la rizosfera, pero compensan la ausencia de los mismos con una sobreproducción y excreción de protones (Brown y Jolley, 1989). Yi y Guerinot (1996) confirmaron, utilizando mutantes de *Arabidopsis thaliana*, que la actividad reductiva Fe(III) → Fe(II) ocurre de manera independiente de la excreción de protones. (VAN WUYTSWINKEL, 1999)

La reducción del Fe(III) complejoado con el quelato requiere la transferencia de electrones (e-) desde el citosol a través de la membrana plasmática. Las células vegetales de plantas con estrategia II poseen dos sistemas de transferencia de e-, un sistema

"estándar" presente en todas las células y un sistema "turbo" de alta eficiencia (Figura 3), reductor de distintos complejos Fe-quelato, que es inducido diferencialmente en las células epidérmicas de la raíz por ausencia de Fe. Al parecer el potencial reductor del sistema turbo proviene del NADPH producido por la NADP+-isocitrato deshidrogenasa citosólica. El isocitrato es formado a partir del citrato por acción de la enzima aconitasa mitocondrial (Bienfait, 1988). En este sistema turbo se encuentra la enzima Fe-quelato reductasa (FCR), que es utilizada por la mayoría de las plantas (excepto gramíneas que carecen del sistema turbo) para adquirir Fe soluble, no mostrando relación aparente con la absorción de otros cationes como el Zn y Mn (Yi y Guerinot, 1996). Según Moog et al. (1995) la enzima FCR es inducida por la deficiencia de hierro y sigue una cinética Michaelis-Menten con un Km de 45 $\mu\text{Mol Fe(III)-EDTA}$ y una Vmax de 42 $\text{nMol Fe}^{+2} \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Dada su importancia potencial en la ingeniería de plantas se busca localizar a los genes responsables de la codificación de la reductasa de Fe-quelato. Robinson et al. (1999) aislaron un gene llamado FRO2 que se expresa en raíces de *Arabidopsis thaliana* en condiciones de deficiencia de Fe. Dicho gene FRO2 parece corresponder a una reductasa de Fe-quelato y pertenece a una superfamilia génica de flavocitocromos que transportan electrones a través de membranas. De acuerdo a los autores el aislamiento de FRO2 tiene implicaciones para la generación de cultivos con mayor calidad nutricional y mejor crecimiento en suelos con bajo nivel de Fe disponible. (VAN WUYTSWINKEL, 1999)

Figura 2.6 El Sistema Turbo de Transferencia de Electrones Asociado a la Membrana Plasmática de las Plantas con Estrategia I.



(Eide et al., 1996)

La absorción de $Fe(II)$ por las plantas con estrategia I puede ser en forma complejada con ligandos de bajo peso molecular o bien en la forma iónica libre, siendo al parecer esta última forma la más común. En *Arabidopsis thaliana* la proteína IRT1 (iron-regulated transporter) es al parecer un acarreador de $Fe(II)$ en forma iónica libre asociado a la membrana. Se sabe que IRT1 se expresa en las raíces, que la síntesis es inducida por la deficiencia de Fe y que su actividad es inhibida por cadmio (Eide et al., 1996). En las plantas que utilizan la estrategia II los complejos Fe -fitosideróforo, que se encuentran en alta concentración (de 1 a 2 mMol) alrededor de las raíces, son acarreados desde el exterior hacia el interior de la célula por una proteína transportadora de alta afinidad. Como se mencionó los fitosideróforos pueden funcionar como acarreadores de otros cationes como el Zn , Mn y Cu , pero el mencionado sistema de transporte de alta afinidad es inducido exclusivamente por Fe (Römheld, 1991).

Una vez que es absorbido por las raíces el $Fe(II)$ se incorpora en primera instancia en ferritinas, que son proteínas de almacenamiento de hierro que se acumulan en los plástidos de

hojas y semillas (Clarkson y Hanson, 1980; Caris et al., 1995). El Fe es liberado de las ferritinas por la acción reductora del ascorbato (Laulhere y Briat, 1993) o de fenólicos reductores como el ácido caféico, el ácido clorogénico, el ácido dihidrocaféico y el ácido (THEIL, 1997)

3,4-dihidroxibenzoico. Según los resultados de Boyer et al. (1988) la tasa de removilización de Fe de las ferritinas depende de la concentración de fenólicos y del poder reductor de los mismos. Los mismos autores observaron que las enzimas y compuestos atrapadores de radicales como la catalasa, la superóxido dismutasa y el manitol no mostraron efecto sobre la tasa de remoción de Fe. Por el contrario el EDTA y el oxalato inhibieron la liberación de Fe.

Las ferritinas son proteínas con estructura altamente conservada en plantas y animales pero con diferente localización citológica y distinto control en respuesta al exceso de Fe. Las ferritinas de las plantas se exportan a los plástidos y se regulan transcripcionalmente en respuesta a la disponibilidad de Fe, por su parte las ferritinas de animales se encuentran en el citoplasma y su expresión se regula principalmente al nivel de traducción de mRNA almacenado. Otra diferencia importante es que los animales presentan varios tipos de ferritina dependiendo de si la misma será utilizada para almacenar Fe o para detoxificar las células en caso de exceso del mencionado elemento. En cambio, las plantas parecen mostrar un solo tipo de ferritina cuya función no se asocia con detoxificación del exceso de Fe al menos en *Arabidopsis thaliana*. Esta fue la conclusión de Lescure et al. (1991) Considerando que la vacuola posee gran capacidad de almacenar Fe y que las ferritinas de expresión constitutiva de las plantas no difieren de las ferritinas inducidas por exceso de Fe (caso contrario a lo que se observa en animales) por lo que, según los

mencionados autores, es poco probable que rápida síntesis de las mencionadas proteínas constituya una respuesta orientada a la destoxificación en caso de exceso de Fe. Sin embargo, los resultados de Becker et al. (1998), quienes utilizaron mutantes de chícharo (*Pisum sativum*) con defectos en la regulación de la absorción del hierro, mostraron que las plantas acumularon Fe en las ferritinas y precipitaron dicho metal en depósitos en forma de partículas denso-electrónicas en el citoplasma, mitocondrias y retículo endoplásmico. La conclusión de los autores fue que las respuestas observadas constituyeron un mecanismo de defensa de la planta contra la acumulación excesiva de Fe soluble el cual se sabe da lugar a estrés oxidativo. La misma conclusión fue obtenida por Deak et al. (1999) quienes trabajaron con plantas de tabaco transgénicas que sintetizaban ferritina de alfalfa en los tejidos vegetativos. El tabaco transgénico retuvo la función fotosintética normal en presencia de toxicidad causada por radicales libre generada por exceso de Fe o tratamiento con paraquat. Adicionalmente la progenie de las plantas transgénicas que acumulaba ferritina foliar exhibió tolerancia al daño necrótico causado por patógenos virales (virus de la necrosis del tabaco) o fúngicos (*Alternaria alternata* y *Botrytis cinerea*). Al parecer la captura intracelular del Fe por las ferritinas protegió a las plantas del daño oxidativo inducido por varios tipos de estrés. (THEIL, 1997)

Al ser liberado de las ferritinas del tejido radical el Fe(II) se moviliza a las restantes partes de la planta vía el xilema en donde toma de nuevo la forma Fe(III). El pH promedio del exudado de xilema de diferentes especies es 5,5, lo cual tiende a convertir el Fe(II) en Fe(III). Este último es transportado hacia las partes aéreas de la planta como citrato férrico. Existe evidencia que indica que antes de

la incorporación del hierro a las ferritinas en las hojas o semillas el Fe(III) unido al citrato debe reducirse de nuevo a Fe(II) (Laulhere y Briat, 1993). Al parecer esta reducción de Fe(III) a Fe(II) es una reacción fotoquímica inducida por la luz en el rango azul-ultravioleta (Emery, 1982).

Lobréaux et al. (1992) determinaron que en el maíz (*Zea mays*) la presencia de Fe (575×10^{-6} Mol) en plántulas expuestas a carencia de Fe indujo rápida y abundante acumulación (24 horas) del mineral así como de mRNA de ferritina en las hojas. En el caso del nivel de mRNA de ferritina en las raíces este se mostró más estable frente al estímulo de adición de hierro. Los autores encontraron que el Fe acumulado en las raíces se encontró en la fracción apoplástica. Por otra parte, Lobréaux et al. (1993) encontraron que el caso de las plantas las ferritinas, además de ser inducidas por el Fe, responden a la aplicación de ácido abscísico (ABA) exógeno, generándose un incremento transitorio de los mRNA de ferritina. La inducción del mRNA de la ferritina es muy baja en el mutante vp2 de maíz que muestra deficiencia de ABA. Los mencionados autores concluyeron que el ABA se ve involucrado en la respuesta de las plantas al Fe. Por último, el reporte de Van Wuytswinkel et al. (1999) ilustra la importancia de la regulación de la concentración de ferritinas. En dicho trabajo se obtuvieron plantas transgénicas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) con sobreacumulación de ferritinas foliares lo que originó una deficiencia inducida de Fe en los tejidos. A su vez esta deficiencia dio lugar a la inducción de actividad de Fe-reductasa en la raíz. Siguiendo lo dicho en los párrafos anteriores tal parece que la sobreexpresión de ferritina disminuye el estrés oxidativo originado por el Fe, pero la sobreexpresión arriba de cierto nivel da lugar a deficiencia de Fe. (THEIL, 1997)

Las ferritinas son sujeto de interés en los estudios de mejoramiento e ingeniería genética orientados a mejorar el aporte de Fe a la población humana. Según Theil et al. (1997) la selección de genotipos con mayor contenido de ferritina en las semillas puede ser una estrategia viable para aumentar la concentración de Fe biodisponible en la dieta. (MÁLVAREZ, 1999)

2.4.28. Papel del Hierro en el Estrés Oxidativo

Al igual que otros metales del grupo de transición el Fe puede dar lugar a estrés oxidativo. Este último término se define como la oxidación destructiva de proteínas, DNA, esteroides y lípidos insaturados de las membranas por acción de las especies y metabolitos reactivos de oxígeno (como el anión superóxido, O_2^- , y el peróxido de hidrógeno, H_2O_2) generadas en procesos endógenos. El estrés oxidativo es controlado por los niveles de compuestos reductores como los tioles glutatión y cisteína así como por la actividad de enzimas atrapadoras de radicales libres como la superóxido dismutasa y la catalasa. De acuerdo con Aust (1989) la peroxidación de lípidos requiere Fe(III) ó Fe(II) probablemente en la forma de complejos O_2-Fe . Por sí mismo el Fe es capaz de catalizar reacciones redox entre el oxígeno y biomacromoléculas, reacciones que no ocurrirían en ausencia de Fe. Por otro lado, se sabe que el hierro complejoado con ADP, histidina, EDTA, citrato y otros agentes quelantes es capaz de facilitar la formación de especies reactivas de oxígeno capaces de oxidar tioles y que dan lugar a la destrucción de lípidos por peroxidación, encontrándose que el Fe generó daño peroxidativo de lípidos, pérdida de K^+ hacia el medio externo (sugiriendo daño a las membranas), disminución de la forma reducida de glutatión e incremento de la forma oxidada, aumento en la actividad de superóxido dismutasa y disminución del contenido de clorofila. Los resultados de estos investigadores

indicaron que el efecto oxidativo del Fe se relacionó con la oxidación de tioles y con la generación de especies reactivas de oxígeno. (LAHORA CANO, 2004)

De manera análoga Caro y Puntarulo (1996) observaron que la adición de Fe-EDTA in vivo hasta llegar a una concentración exógena de 5×10^{-4} M (es decir, 500,000 veces sobre el mínimo de 10^{-9} M), da lugar a incremento en el contenido de Fe en los tejidos acompañado de estrés oxidativo en la raíz de la soya (*Glycine max*). Al nivel sub celular los autores encontraron que el contenido de Fe y la tasa de reducción de Fe-EDTA aumentaron en el micro cuerpos aislados de las raíces expuestas al Fe, en comparación con un testigo sin adición de Fe. Al compararse con los de dicho testigo, los micro cuerpos del retículo endoplásmico de las raíces en el medio con Fe mostraron un 55% de aumento en la generación de aniones superóxido, así como cuatro veces la tasa de producción de radicales hidroxilo. Por otra parte, la suplementación de Fe no afectó la actividad de enzimas antioxidantes ni el contenido total de tioles, aunque si disminuyó de manera significativa el contenido de alfa-tocoferol. A este respecto es interesante el reporte de Caris et al. (1995) quienes indican que el Fe quelatado con un sideróforo sintético (O-Trensox) no genera daño oxidativo, cosa que si ocurre con el Fe-EDTA y Fe-citrato.

2.4.29. Absorción de Hierro por Simbiontes Diazótrofos

Literalmente diazótrofo significa "comedor de di nitrógeno ó N_2 ", y se refiere a la conocida capacidad de las leguminosas para asociarse con bacterias de los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* formando tejidos simbiontes con la capacidad de reducir el N_2 a NH_3 . La deficiencia de Fe puede limitar la fijación simbiótica de N_2 modificando la supervivencia y crecimiento de los rhizobia en el suelo, restringiendo la iniciación y desarrollo de los

nódulos así como afectando negativamente la función del nódulo y el crecimiento de la planta. Tanto en los simbioses bacterianos como en las plantas hospederas se ha detectado extensa variación en la habilidad para sobrevivir y crecer bajo estrés de carencia de Fe. Se sabe por ejemplo que diferentes cepas de *Bradyrhizobium* tienen distinta capacidad de excreción de sideróforos, y que dichas diferencias parecen relacionarse con la habilidad de las bacterias para nodular las raíces en suelos calcáreos (Tang et al., 1992).

En ausencia de Fe se presentan fallas en la modulación relacionadas con escaso crecimiento y liberación de bacteroides de los hilos de infección. El resultado final es la restricción en el crecimiento de meristemas del nódulo y la ausencia de un nódulo funcional (Tang et al., 1992). En *Rhizobium leguminosarum* la carencia de Fe origina niveles reducidos de citocromos b y c así como la acumulación de porfirinas (precursores de los grupos hem), que se detectan por la fluorescencia roja-rosada al iluminar las colonias con luz UV. Por otra parte, algunos mutantes como el 116 de *Rhizobium leguminosarum*, con muy baja capacidad de asimilación de Fe dan lugar a nódulos pequeños de color blanco pero sin anomalías micromorfológicas obvias tanto en el nódulo como en los bacteroides (Nadler et al., 1990).

Para el caso de las leguminosas el manejo y producción de nuevos cultivares para suelos calcáreos requiere un enfoque integral que tome en cuenta la presencia del sistema leguminosa-simbionte diazotrófico (Tang et al., 1992).

2.4.30. Competencia por Hierro en la Rizosfera y Fitopatogenicidad

La presencia o la aplicación de ciertas bacterias con el objetivo de suprimir enfermedades causadas por patógenos del suelo pueden traducirse, aunque no es una regla, en mayor crecimiento y rendimiento de las plantas. Los mecanismos del antagonismo son la

competencia, el parasitismo, la depredación y la antibiosis. Se ha dicho que en el caso de ciertas rizobacterias (bacterias asociadas a la raíz), como *Pseudomonas*, la habilidad para complejar el Fe con sideróforos es clave como mecanismo de supresión de patógenos. Sin embargo dicha afirmación está lejos de ser un hecho demostrado (Alabouvette et al., 1996) y se ha encontrado que la producción de antibióticos e inhibidores del crecimiento pueden ser más importantes como factor supresivo (Gill y Warren, 1988).

2.4.31. Consecuencias Fisiológicas de la Carencia de Hierro

El síntoma más obvio de una fuerte carencia de hierro es la clorosis férrica foliar. La clorosis férrica es un desorden fisiológico complejo, se conocen al menos 10 causas diferentes que inducen la clorosis férrica y, al observarla, lo común es que estén actuando al menos dos de ellas conjuntamente (Peterson y Onken, 1992). La fase final de una clorosis férrica, con carencia extrema de Fe, genera necrosis y muerte de las hojas. Sin embargo, antes de ocurrir esto se observan grandes disfunciones en el aparato fotosintético. Winder y Nishio (1995) determinaron que el contenido y actividad de fijación de CO₂ de Rubisco disminuyeron en un 60% y un 66%, respectivamente, en hojas con estrés severo de Fe. El contenido de Rubisco fue dependiente de la disponibilidad de mRNAs y tanto dicha disminución en la cantidad de polipéptidos como la caída en la actividad de fijación de CO₂ se correlacionaron directamente con el contenido de clorofila. Por otra parte la activación de Rubisco por la Rubisco activasa fue también menor en 27% en las hojas estresadas.

En la cianobacteria *Oscillatoria tenuis* se observó que, dentro del rango de concentración de Fe $4,2 \times 10^{-5}$ hasta $5,1 \times 10^{-9}$, la tasa de crecimiento no se vio limitada por la capacidad fotosintética sino por otra función celular no determinada. Asimismo la carencia de Fe en

el medio de crecimiento indujo la síntesis de sideróforos extracelulares y de proteínas específicas cuya función se relacionó probablemente con el transporte de Fe hacia el interior de la célula, dicha actividad se correlacionó con la recuperación del crecimiento de las células en el medio pobre en hierro. Sin embargo, a pesar de la activación de este sistema de transporte de alta afinidad la tasa de crecimiento no llegó a los niveles observados en un medio con adecuado nivel de Fe (Trick et al., 1995).

2.4.32. Diferencias Inter Intraespecificas en la Habilidad para Asimilar Hierro

La habilidad para asimilar hierro por parte de una planta u otro organismo depende de la acción conjunta de una serie de mecanismos que fueron analizados brevemente en párrafos anteriores. Esta habilidad o eficiencia se sabe que varía bastante entre especies así como entre cultivares, cepas o variedades dentro de cada especie (Bianfait, 1988). Como un ejemplo, Brown y Olsen (1980, J. Plant Nutrition 2:661-682) encontraron que las plantas dicotiledóneas son en general más eficientes para enfrentarse a las deficiencias de hierro que las monocotiledóneas. Del mismo modo, se han detectado diferencias en aptitud para esta característica entre cultivares de especies de cultivo como la soya, frijol, tomate, girasol, maíz, cebada, sorgo, etc. Entre las gramíneas que utilizan la estrategia II se encuentran especies resistentes a la clorosis férrica (como el trigo, la cebada y el centeno) así como especies susceptibles a dicho problema (como el sorgo). Se ha demostrado que la diferencia en eficiencia depende de la cantidad de fitosideróforos excretados a la rizosfera en combinación con la acción de otros mecanismos alternativos para la absorción de Fe como la capacidad de absorción de sideróforos microbianos, la inducción de una reductasa de Fe^{+3} así como la absorción pasiva

de quelatos de hierro (Römheld, 1991). Rodriguez de Cianzio (1991) menciona que aunque la clorosis férrica es un problema extendido el mejoramiento genético orientado a esta característica se realiza en pocas especies como la avena (*Avena byzantina*), sorgo (*Sorghum bicolor*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), soya (*G. max*), cacahuete (*Arachis hypogea*), tréboles (*Trifolium spp.*), pastos forrajeros (*Botriochloa sp.*), chile (*Capsicum annuum*), cítricos (*Citrus sp.*), mango (*Mangifera indica*) y aguacate (*Persea americana*).

Algunas plantas utilizadas tradicionalmente en el tratamiento de la anemia presentan niveles muy altos de Fe en los tejidos. Como ejemplo se tiene a *Bridelia cathartica* con 356,9 ppm de Fe y a *Lanea stuhlmannii* con 352,1 ppm, ambas plantas del continente africano (Omolo et al., 1997). Probablemente el estudio de los mecanismos de absorción y acumulación de Fe de plantas como estas pueda dar mayor luz sobre los mecanismos genéticos y fisiológicos implicados. Asimismo, se requiere mayor cantidad de estudios para clarificar si la obtención de genotipos resistentes a la clorosis férrica asegura que se contará con cosechas de mayor calidad nutricional con un nivel adecuado de Fe biodisponible.

2.4.33. Corrección de la Carencia de Hierro

Un valor de Fe disponible en el suelo menor a 11 ppm se considera bajo. Los valores que se consideran óptimos se ubican entre 12 y 24 ppm y el manejo del suelo y fertilización se dirige hacia lograr y mantener dichos valores ya que normalmente existe correlación entre la concentración de Fe disponible en el suelo y el observado en los tejidos vegetales.

La materia orgánica en el suelo ejerce un efecto positivo sobre la solubilidad del hierro a través de un efecto reductor más que por el propio aporte de Fe contenido en la biomasa. Se sabe por ejemplo

que se ejerce un efecto positivo sobre las plantas al añadir materia orgánica a un suelo deficiente en Fe disponible, por otra parte la misma respuesta no se observa al añadir las cenizas provenientes de la combustión de la misma cantidad de materia orgánica. La degradación biológica de la materia orgánica aporta e^- y otros agentes reductores que bajan el potencial redox del suelo, creando microambientes de reducción (deficientes en O_2) en el suelo en donde la concentración de Fe(II) disponible para las plantas se incrementa. Se sigue de este hecho que la aplicación y mantenimiento de la materia orgánica en el suelo se traduce en adecuada disponibilidad a largo plazo de Fe (Lindsay, 1991).

Un aporte adecuado de potasio se relaciona con una mejor respuesta a la carencia de Fe, tanto en plantas que muestran la estrategia I como en aquellas que presentan la estrategia II (Hughes et al., 1992).

A corto plazo las formas de corregir la carencia de hierro son, básicamente (Zuang, 1982; Morard, s.a.):

- Aplicación de quelatos de hierro (EDTA, DTPA, HEDTA ó EDDHA) al suelo o por vía foliar, en cultivos anuales las aplicaciones al suelo son caras y poco efectivas.
- Aplicación de sales de hierro (como el sulfato de hierro) al suelo o por vía foliar, en cultivos anuales las aplicaciones al suelo son caras y poco efectivas.
- Aplicación de ácido fosfórico, sulfúrico o nítrico (o KOH si el suelo es ácido) en el agua de riego para modificar la solución del suelo. Las dosis recomendadas varían de acuerdo a la situación, pero las aplicaciones de 10 a 20 litros por hectárea por semana son comunes en sistemas de producción con riego por goteo.

Alternativamente puede realizarse el siguiente:

- Aplicación al suelo de 60-200 kg de azufre agrícola más 10-15 kg de sulfato de hierro heptahidratado (20% de Fe) por hectárea e incorporarlo con la rastra. Esta aplicación puede ser localizada solo en la cama de siembra en cuyo caso se utilizan 40-80 kg de azufre y 3-5 kg de sulfato de hierro por hectárea y se incorpora con rotocultivadora. El efecto acidificante del azufre y el sulfato facilita la absorción del Fe por parte de la planta.
- Aplicación de sulfato de amonio (300-500 kg por hectárea ó 30-50 g por m²) disuelto en agua por vía fertirriego o aplicado superficialmente y después incorporado con máquina.

La solución nutritiva aplicada por vía foliar debe contener entre 0,6 y 1,5 mg/L (ppm) de Fe, es decir, de 0,06 a 0,15 g de Fe por cada 0,1 m³ ó bien de $1,07 \times 10^{-5}$ a $2,69 \times 10^{-5}$ molar de Fe. Esta dosis puede duplicarse en caso de presentarse de nuevo los síntomas de clorosis. Si el aporte es al suelo la dosis media es de 20 a 25 kg de producto comercial por hectárea (desde 300 hasta 3000 g de Fe por hectárea). En campos de golf Glinski et al. (1992) aplicaron 1,12 kg de Fe por hectárea cada 30 días en forma de Sequestrene 330 (DTPA).

2.4.34. Biodisponibilidad del Fe

Según Gibson (1997) la estrategia tecnológica más efectiva para combatir la deficiencia de hierro en los países menos industrializados incluye varias tácticas como son: (i) suplementación de Fe a los grupos de alto riesgo, (ii) promoción del uso de alimentos fortificados así como dietas diseñadas para maximizar la biodisponibilidad de Fe en los mismos y (iii) maximización de la biodisponibilidad del Fe intrínseco en los alimentos de origen animal y vegetal. En el caso de los vegetales el Fe intrínseco es aquel que

se acumula en los tejidos a partir del suelo o de la fertilización foliar y es susceptible de incrementarse a través del manejo agronómico.

Alta concentración de Fe en el tejido vegetal no implica necesariamente que dicho elemento se encuentre disponible al ser consumido. La deficiencia de hierro en humanos es parcialmente producida por la ingestión de dietas que contienen niveles bajos de Fe biodisponible, sea por la acción de inhibidores como los taninos o el fitato, por el bajo nivel de promotores o bien por bajo nivel per se de hierro (Gibson, 1997). Se le llama biodisponible a la fracción del contenido de un elemento que es realmente utilizable por el organismo que consume el tejido vegetal. Dicha biodisponibilidad se ve modificada por multitud de factores genéticos y ambientales. Al respecto Reddy et al. (1993) demostraron que existe una relación directa entre la cantidad de Fe disponible en el suelo y la concentración de Fe en los tejidos de espinaca (*Spinacea oleracea*), pero que mayor cantidad de Fe no implica mayor biodisponibilidad del mismo. Esta última propiedad fue dependiente más bien de la concentración de Zn en la planta. Los valores de 30 ppm de Fe y de 15 ppm de Zn en el suelo optimizaron la biodisponibilidad in vitro de Fe. Considerando los anteriores datos es obvio que se tiene una gran oportunidad en el desarrollo y optimización de tecnologías de pre y postcosecha que permitan obtener granos, semillas, frutas y vegetales calidad nutricional superior.

2.4.35. Totorá “*Scirpus Californicus*”

Una de las macrófitas más conocidas y difundidas en nuestro medio es la Totorá (*Scirpus Californicus*). Esta especie fue traída del Lago Chinchaycocha-Parí, donde forma parte de la flora presente en la laguna. Esta macrófita, forma parte de la amplia gama de plantas

Fito depuradoras empleadas en los sistemas no convencionales de depuración de aguas residuales

2.4.35.1. Descripción:

Esta planta perteneciente a la familias de la ciperáceas crece en medios acuáticos (lagunas, pantanos, esteros y otros lugares donde se acumula agua como las cunetas de los caminos).

2.4.35.2. Origen:

Las distintas especies están muy difundidas en el mundo entero, encontrándose en Perú en grandes extensiones de totorales en distintas provincias. En el suelo la planta desarrolla rizomas de los cuales nacen los tallos aéreos. Estos brotes jóvenes son comestibles.

2.4.35.3. Floración:

A principios y durante todo el verano tiene su floración. Entre las hojas emerge una especie de tallo sobre el que se agrupan las flores en espiga cilíndrica compacta, de color castaño. La de arriba es la flor masculina que después de largar el polen se secará; la de abajo, separada por un corto raquis, es la flor femenina que la gente de campo cosecha y utiliza como "espiral" repelente de mosquitos, o como adorno (Brix, 1997).

2.4.35.4. Usos:

- ✓ planta medicinal
- ✓ Planta comestible
- ✓ Depuradoras de materia orgánica
- ✓ La totora posee también otros usos ya que sus hojas son utilizadas en la fabricación artesanal de sillas y sillones, canastos, etc.

Tabla 2.2 Características de la Totora

Nombre común:	Totora
Nombre botánico:	Scirpus Californicus
Tipo:	Acuática
Exposición:	Pleno sol
Hoja:	Caduca
Humedad:	Suelo encharcado
Resistencia:	Muy resistente
Dimensiones:	0,9m. Altura x 1m.Ancho

(Brix, 1997).

Figura 2.7 Macrofito Totora “Scirpus Californicus”



(Fuente propia).

CAPÍTULO III

3. PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

3.1. Metodología

3.1.1. Método

El trabajo de investigación se realizó de la siguiente manera:

a) PRIMER PASO:

Se recogerá 3 muestras de agua de la laguna Chincaycocha, para luego llevar a laboratorio y analizarlo los parámetros establecidos: concentración inicial de hierro, y los parámetros fisicoquímicos como temperatura, pH, conductividad y oxígeno disuelto.

Muestreo. Se tomara muestra de agua aleatoria simple de la laguna Chinchaycocha que servirá como línea base para la investigación.

b) SEGUNDO PASO:

- **La Construcción de los Humedales Artificiales.**

Este procedimiento consiste en la construcción de tres humedales artificiales de vidrio que tienen un área inferior de $0,0875 \text{ m}^2$ el área superior $0,1575 \text{ m}^2$ y una altura de $0,80 \text{ m}$, obteniendo un volumen total de $0,0966 \text{ m}^3$, para cada

humedal solo se utilizó el 75% de su volumen luego de agua para el tratamiento obteniendo así en cada humedal el 72,48 litros de agua con concentraciones de hierro con diferentes pH.

- **Determinación de pH.**

Procedimiento

Con el pHmetro se determina la acidez o la alcalinidad de la muestra, después que el equipo ha sido calibrado.

Se coloca el electrodo en las muestras y se enjuaga con agua destilada.

Después de colocar el electrodo el equipo arroja los resultados directamente.

- **Determinación de Hierro Total. (Spectroquant Test Hierro)**

Tomando en cuenta el tiempo en días se analizará la concentración final de hierro y la capacidad de remoción de la totora.

Analizar las muestras inmediatamente después de la toma de muestras. En otro caso conservar con ácido nítrico al 65 % (1 mL de ácido nítrico para 1 L de solución de la muestra).

Si la muestra es turbia se tiene filtrar.

Es necesario concentrar la muestra de 500ml a 25 mL por la mínima concentración de hierro en la muestra.

Si se observa presencia de materia orgánica añadir ácido clorhídrico a 0,1N.

Añadir un mL de hidroxilamina

Agregar 5 mL de acetato de amonio

Agregar 5 mL de acetato de sodio

Agregar 2 mL de fenantrolina

Aforar a 100 mL con agua destilada

Dejar 15 minutos para que se desarrolle.

Para el análisis añadir la solución en las cubetas y luego colocar en el espectrofotómetro a 510 nm UV.

3.1.2. Tipo de la Investigación

El tipo de investigación es Experimental, donde se analizara el efecto producido por la manipulación de las variables (concentración y tiempo) sobre las variables dependientes (bioacumulación y concentración en el agua). Donde se desea comprobar el efecto de las variables independientes sobre las dependientes.

3.1.3. Nivel de la Investigación

El nivel de investigación para el presente trabajo será correlacionar porque persigue fundamentalmente determinar el grado en el cual las variaciones en uno o varios factores son concomitante con la variación en otros.

3.2. Diseño de la Investigación

El diseño de investigación presenta un diseño del tipo factorial simple, donde se tiene 2 variables independientes y 3 niveles con tres replicas ($3^2 \times 3 = 27$), obteniéndose un total de 9 experimentos con sus respectivas replicas. El cual se explica el siguiente cuadro.

Dónde:

IA= índice de acides

t= tiempo

1er COMBINACION	EXPERIMENTO N° 1 IA ₁ , t ₁	EXPERIMENTO N° 2 IA ₂ , t ₁	EXPERIMENTO N° 3 IA ₃ , t ₁
2do COMBINACION	EXPERIMENTO N° 4 IA ₁ , t ₂	EXPERIMENTO N° 5 IA ₂ , t ₂	EXPERIMENTO N° 6 IA ₃ , t ₂
3er COMBINACION	EXPERIMENTO N° 7	EXPERIMENTO N° 8	EXPERIMENTO N° 9

	IA ₁ , t ₃	IA ₂ , t ₃	IA ₃ , t ₃
--	----------------------------------	----------------------------------	----------------------------------

(Fuente propia).

3.3. Hipótesis de la Investigación

3.3.1. Hipótesis General

La variación del índice de acides y el tiempo de retención en un humedal artificial para el tratamiento del agua del lago Chinchaycocha influye en la capacidad de bio acumulación de hierro de la Scirpus Californicus (totora).

3.3.2. Hipótesis Específicas

- Las características fisicoquímicas del agua del lago Chinchaycocha Junín no se encuentran dentro de los estándares de calidad del agua.
- la variación del índice de acides del agua del lago Chinchaycocha en un humedal artificial ayuda a la bio acumulación de hierro en el Scirpus Californicus (totora).
- La variación del tiempo de retención del agua del lago Chinchaycocha en un humedal artificial aumenta la bio acumulación de hierro en el Scirpus Californicus (totora)
- La capacidad de bio acumulación de hierro en el Scirpus Californicus (totora) es mayor al 50 % en un humedal artificial del agua del lago Chinchaycocha – Junín.

3.4. Variables

3.4.1. Variable Independiente

Índice de acidez

Tiempo de retención

Indicadores

- ✓ pH
- ✓ días

3.4.2. Variable Dependiente

% de acumulación de Hierro

Indicadores

Concentración de Hierro (ppm)

3.5. Cobertura del Estudio.

3.5.1. Universo

Aguas del lago Chinchaycocha

3.5.2. Población

La población está compuesta por las aguas del Lago Chinchaycocha Junín.

3.5.3. Muestra

La muestra está compuesta

3.5.4. Muestreo

Se realizó un muestreo aleatorio simple debido a que en esta técnica, cada miembro de la población tiene la misma probabilidad de ser seleccionado como muestra. Todo el proceso de toma de muestras se realiza en un paso, en donde cada muestra es seleccionada independientemente de los otros miembros de la población.

3.6. Técnicas e Instrumentos

3.6.1. Técnicas de la Investigación

Observación de procesos experimentales según la manipulación de las variables, trabajos de investigación realizados con características semejantes, libros de investigación.

3.6.2. Instrumentos de la Investigación

Los instrumentos de investigación son los reportes de los procesos experimentados por el laboratorio correspondiente, los resúmenes de los trabajos de investigación, los reportes de campo.

3.7. Procesamiento Estadístico de la Información.

3.7.1. Estadísticos

Se utilizó un software estadístico denominado Minitab, para los análisis de medidas de dispersión, correlación de Pearson

3.7.2. Representación

Las representaciones se realizó construyendo humedales artificiales y para la parte experimental, los resultados se dieron por medio de reportes de laboratorios y gráficas, las relaciones de variables mediante ecuaciones y los análisis estadísticos según el software estadístico desarrollado.

3.7.3. Técnica de Comprobación de la Hipótesis

Para el trabajo de investigación se utilizó el Análisis de varianza mediante una Anova de Fisher

CAPÍTULO IV

4. ORGANIZACIÓN, PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Resultados

Construido los humedales artificiales, se adecuaron las plantaciones de *Scirpus Californicus* por un periodo de un mes el cual se estuvo alimentando constantemente con agua de su misma habitat, las plantaciones de *Scirpus Californicus* fueron recolectadas cuando tenían una edad media, luego se alimentó la concentración de Fe a los humedales según la caracterización que se realizó a las aguas de lago Chinchaycocha, una vez terminado la adecuación para cada prueba experimental se analizaron al inicio los parámetros de Concentración Inicial de hierro (Ci), ph, temperatura °C, Oxígeno disuelto (ppm) y conductividad eléctrica (ms/cm). A diferentes condiciones de pH, y después cada 5 días, en la muestra principal, en la réplica (1) y replica (2)

4.1.1. Resultados de Parámetros Medidos para un pH 6

Comparaciones de resultados de Fe y otros parámetros respecto a las réplicas que se realizaron en cada prueba experimental

Tabla 4.1 Parámetros de Análisis para pH 6

Nº de Pruebas	Tiempo (días)	Conc. (ppm Fe)	pH	Temperatura °C	O.D. ppm	C.E. (ms/cm)
1	0	4,22	6,12	15,2	2,15	10,01
2	5	3,18	6,03	14,8	2,45	9,18
3	10	2,04	6,09	15,1	2,27	8,46
4	15	1,15	6,10	15,3	2,18	7,23
5	20	1,14	6,14	15,4	2,09	7,20

En la Tabla 4.1 se observa los resultados de los análisis en el humedal que trabajo con pH 6 durante 20 días, respecto a la concentración de Fe la Prueba N°1 es la prueba inicial y a partir de la prueba N° 5 se hace constante la concentración

Tabla 4.2 Parámetros de Análisis para pH 6 Replica (1)

Nº de Pruebas	Tiempo (días)	Conc. (ppm Fe)	pH	Temperatura °C	O.D. ppm	C.E. (ms/cm)
1	0	4,25	6,15	14,4	2,23	9,99
2	5	3,22	6,05	14,3	2,37	9,24
3	10	2,05	6,09	14,1	2,25	8,55
4	15	1,56	6,13	14,2	2,15	7,37
5	20	1,58	6,10	14,4	2,13	7,34

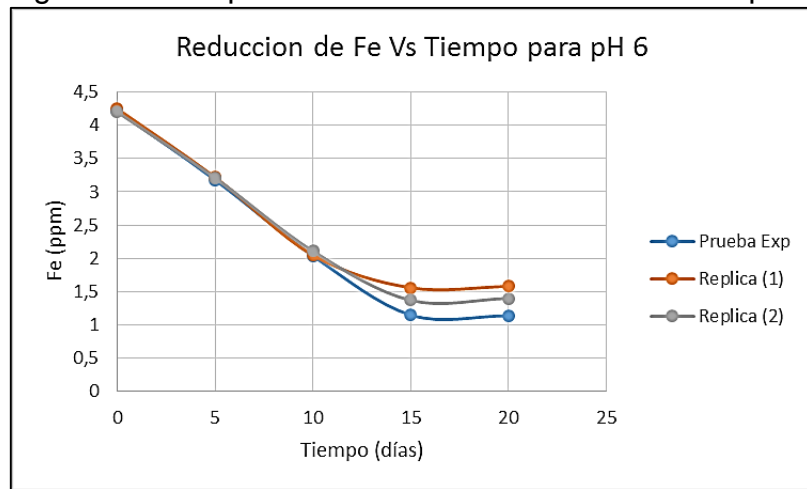
En la Tabla 4.2 se observa los resultados de los análisis en el humedal que trabajo con pH 6 durante 20 días siendo la primera réplica de la prueba experimental, no existiendo variaciones en los resultados, respecto a la concentración de Fe la Prueba N°1 es la prueba inicial y a partir de la prueba N° 5 se hace constante la concentración

Tabla 4.3 Parámetros de Análisis para pH 6 Replica (2)

Nº de Pruebas	Tiempo (días)	Conc. (ppm Fe)	pH	Temperatura °C	O.D. ppm	C.E. (ms/cm)
1	0	4,2	6,13	15,0	2,15	9,88
2	5	3,21	6,06	15,2	2,55	8,12
3	10	2,11	6,12	14,9	2,41	7,54
4	15	1,37	6,05	15,1	2,24	6,99
5	20	1,40	6,14	15,2	2,13	7,0

En la Tabla 4.3 se observa los resultados de los análisis en el humedal que trabajo con pH 6 durante 20 días siendo la segunda réplica de la prueba experimental, no existiendo variaciones en los resultados, respecto a la concentración de Fe la Prueba N°1 es la prueba inicial y a partir de la prueba N° 5 se hace constante la concentración

Figura 4.1 Comparación de la Reducción de Fe con pH 6



En la Figura 4.1 comparamos los resultados de la concentración de Fe en el agua del humedad con la especie *Scirpus Californicus* a un pH 6 y sus respectivas replicas observando la ligera variación a partir del décimo día variando entre un 0,5 ppm de Fe.

4.1.2. Resultados de Parámetros Medidos para un pH 7

Tabla 4.4 Parámetros de Análisis para pH 7

Nº de Pruebas	Tiempo (días)	Conc. (ppm Fe)	pH	Temperatura °C	O.D. ppm	C.E. (ms/cm)
1	0	4,18	7,03	14,6	2,22	9,08
2	5	3,01	6,99	14,8	2,46	7,51
3	10	2,11	7,05	14,5	2,41	7,01
4	15	0,89	7,00	14,8	2,38	5,84
5	20	0,90	7,05	14,9	2,39	6,02

En la Tabla 4.4 se observa los resultados de los análisis en el humedal que trabajo con pH 7 durante 20 días, respecto a la concentración de Fe la Prueba N°1 es la prueba inicial y a partir de la prueba N° 5 se hace constante la concentración

Tabla 4.5 Parámetros de Análisis para pH 7 Replica (1)

Nº de Pruebas	Tiempo (días)	Conc. (ppm Fe)	pH	Temperatura °C	O.D. ppm	C.E. (ms/cm)
1	0	4,21	6,99	14,9	2,17	9,88
2	5	2,99	6,99	15,0	2,37	8,02
3	10	1,57	7,03	15,2	2,03	7,21
4	15	0,73	7,05	15,4	2,11	5,98
5	20	0,73	7,02	15,1	2,08	6,01

En la Tabla 4.5 se observa los resultados de los análisis en el humedal que trabajo con pH 7 durante 20 días siendo la primera réplica de la prueba experimental, no existiendo variaciones en los resultados, respecto a la concentración de Fe la Prueba N°1 es la prueba inicial y a partir de la prueba N° 5 se hace constante la concentración

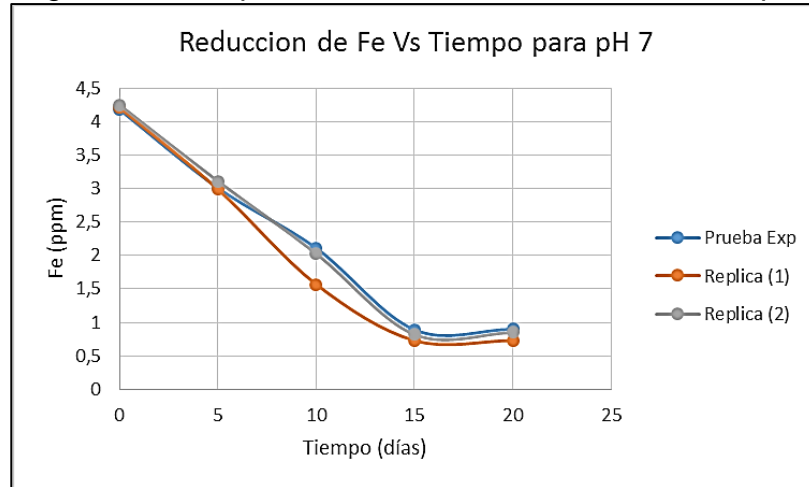
Tabla 4.6 Parámetros de Análisis para pH 7 Replica (2)

Nº de Pruebas	Tiempo (días)	Conc. (ppm Fe)	pH	Temperatura °C	O.D. ppm	C.E. (ms/cm)
1	0	4,25	7,11	15,1	2,19	9,92
2	5	3,11	6,99	15,5	2,37	8,14
3	10	2,03	7,03	15,8	2,46	7,26
4	15	0,82	7,12	15,2	2,15	5,76
5	20	0,85	7,08	15,5	2,03	6,10

En la Tabla 4.6 se observa los resultados de los análisis en el humedal que trabajo con pH 7 durante 20 días siendo la segunda réplica de la prueba experimental, no existiendo variaciones en los resultados, respecto a la concentración de Fe la Prueba N°1 es la

prueba inicial y a partir de la prueba N° 5 se hace constante la concentración

Figura 4.2 Comparación de la Reducción de Fe con pH 7



En la Figura 4.2 comparamos los resultados de la concentración de Fe en el agua del humedal con la especie *Scirpus Californicus* a un pH 7 y sus respectivas replicas observando la ligera variación de la réplica (1) respecto a los demás en el periodo de 10 días y a partir de los 15 días los resultados son semejantes.

4.1.3. Resultados de Parámetros Medidos para un pH 8

Tabla 4.7 Parámetros de Análisis para pH 8

Nº de Pruebas	Tiempo (días)	Conc. (ppm Fe)	pH	Temperatura °C	O.D. ppm	C.E. (ms/cm)
1	0	3,99	8,03	15,2	2,39	10,2
2	5	2,75	8,06	14,8	2,34	9,23
3	10	2,16	8,05	15,1	2,29	8,11
4	15	1,19	8,10	15,3	2,33	7,09
5	20	1,21	8,30	15,4	2,42	7,10

En la Tabla 4.7 se observa los resultados de los análisis en el humedal que trabajo con pH 8 durante 20 días, respecto a la concentración de Fe la Prueba N°1 es la prueba inicial y a partir de la prueba N° 5 se hace constante la concentración

Tabla 4.8 Parámetros de Análisis para pH 8 Replica (1)

Nº de Pruebas	Tiempo (días)	Conc. (ppm Fe)	pH	Temperatura °C	O.D. ppm	C.E. (ms/cm)
1	0	4,04	8,01	15,0	2,13	9,53
2	5	3,29	8,05	15,4	2,28	8,22
3	10	2,19	8,12	15,1	2,21	7,58
4	15	1,15	7,98	15,3	2,29	7,21
5	20	1,16	8,02	15,3	2,17	7,20

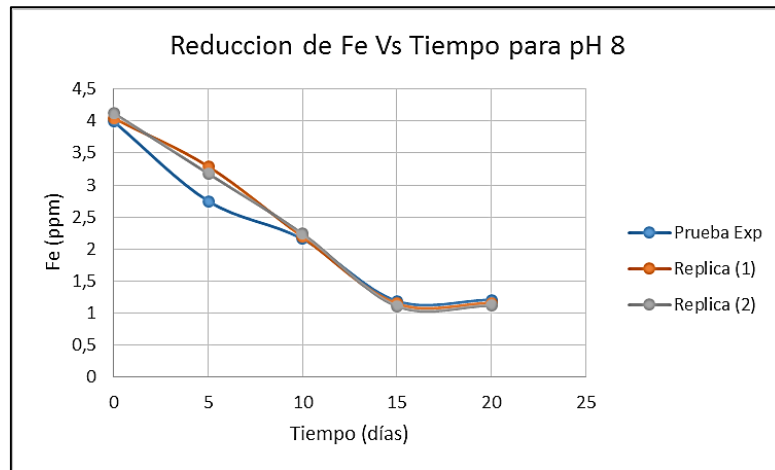
En la Tabla 4.8 se observa los resultados de los análisis en el humedal que trabajo con pH 7 durante 20 días siendo la primera réplica de la prueba experimental, no existiendo variaciones en los resultados, respecto a la concentración de Fe la Prueba N°1 es la prueba inicial y a partir de la prueba N° 5 se hace constante la concentración

Tabla 4.9 Parámetros de Análisis para pH 8 Replica (2)

Nº de Pruebas	Tiempo (días)	Conc. (ppm Fe)	pH	Temperatura °C	O.D. ppm	C.E. (ms/cm)
1	0	4,12	8,01	14,9	2,14	10,04
2	5	3,18	7,95	14,6	2,37	9,24
3	10	2,24	7,99	14,8	2,68	8,01
4	15	1,11	8,10	14,3	2,06	7,19
5	20	1,12	8,12	14,4	2,07	7,22

En la Tabla 4.9 se observa los resultados de los análisis en el humedal que trabajo con pH 7 durante 20 días siendo la segunda réplica de la prueba experimental, no existiendo variaciones en los resultados, respecto a la concentración de Fe la Prueba N°1 es la prueba inicial y a partir de la prueba N° 5 se hace constante la concentración

Figura 4.3 Comparación de la Reducción de Fe con pH 7

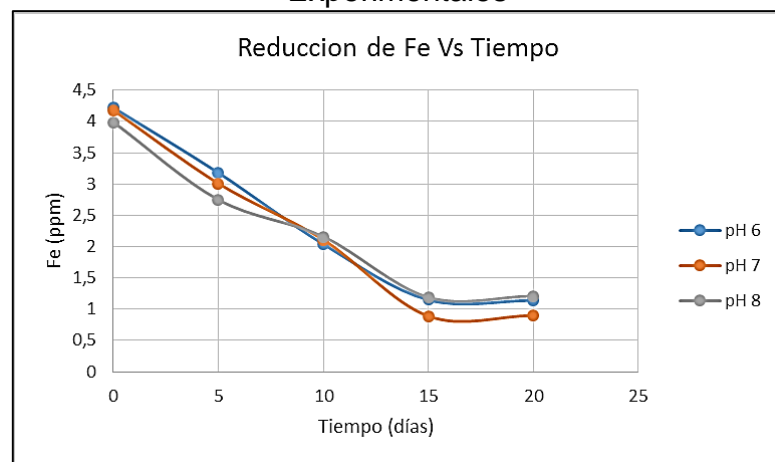


En la Figura 4.3 comparamos los resultados de la concentración de Fe en el agua del humedad con la especie *Scirpus Californicus* a un pH 8 y sus respectivas replicas observando la ligera variación de la prueba experimental respecto a sus réplicas al inicio del tratamiento y a partir de los 10 días los resultados son semejantes.

4.1.4. Disminución de Concentración de Fe

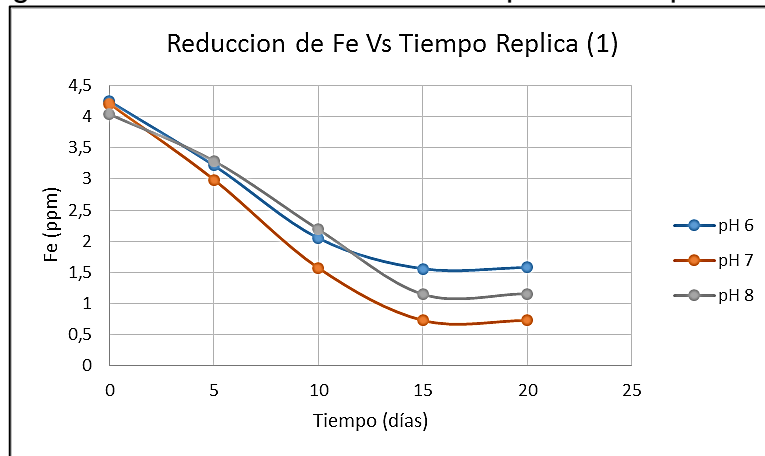
Comparaciones de Fe respecto a las variaciones de pH en las pruebas experimentales y sus réplicas.

Figura 4.4 Reducción de Fe Vs Tiempo en las Pruebas Experimentales



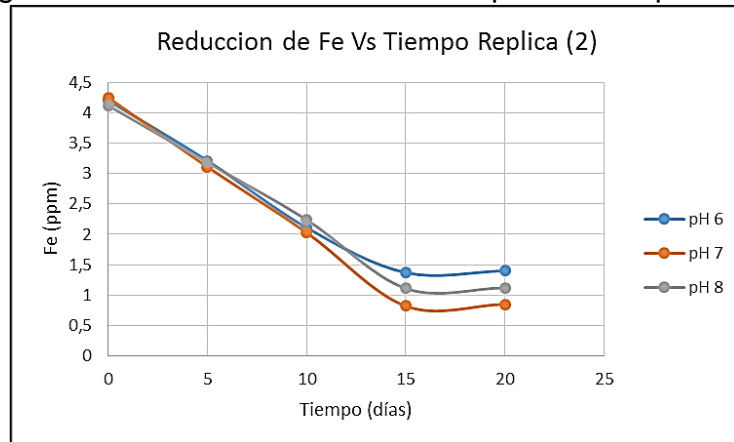
En la Figura 4.4 comparamos los resultados de la concentración de Fe en el agua de los humedales con la especie *Scirpus Californicus* respecto a tres pH 6,7 y 8 y sus respectivas replicas observando que existe mayor reducción con un pH 7 mientras que a pH 6 y 8 no existían variaciones entre ellos

Figura 4.5 Reducción de Fe Vs Tiempo en la Replicas (1)



En la Figura 4.5 comparamos los resultados de la concentración de Fe en el agua del humedad con la especie *Scirpus Californicus* respecto a tres pH 6,7 y 8 en la primera replica observando que existe mayor reducción de Fe con un pH 7 en el cual se ve una diferencia representativa, mientras que el pH 6 y 8 tiene menor reducción de Fe.

Figura 4.6 Reducción de Fe Vs Tiempo en la Replicas (2)



En la Figura 4.6 comparamos los resultados de la concentración de Fe en el agua del humedal con la especie *Scirpus Californicus* respecto a tres pH 6,7 y 8 en la segunda replica observando que existe mayor reducción de Fe con un pH 7, esto ocurre después de los 10 días va aumentando la reducción de Fe.

4.1.5. Parámetros Promedios Según el pH

Una vez comparado los resultados de las pruebas experimentales y sus replica se promediaron cada parámetro y describir el comportamiento de ellos.

Tabla 4.10 Parámetros Promedio de Análisis para pH 6

Nº de Pruebas	Tiempo (días)	Conc. (ppm Fe)	pH	Temperatura °C	O.D. ppm	C.E. (ms/cm)
1	0	4,22	6,13	14,9	2,18	9,96
2	5	3,20	6,05	14,8	2,46	8,85
3	10	2,07	6,10	14,7	2,31	8,18
4	15	1,36	6,09	14,9	2,19	7,20
5	20	1,37	6,13	15,0	2,12	7,18

En la Tabla 4.10 se observa los resultados promedios de Concentración de Fe en ppm, pH, temperatura, O.D. y C.E. en el agua del humedal con un pH de 6, teniendo como concentración inicial en la prueba N°1 y concentración final a la prueba N° 4, debido a que la prueba N° 5 se mantiene constante dentro del proceso.

Tabla 4.11 Parámetros Promedio de Análisis para pH 7

Nº de Pruebas	Tiempo (días)	Ci (ppm Fe)	pH	Temperatura °C	O.D. ppm	C.E. (ms/cm)
1	0	4,21	7,04	14,9	2,19	9,63
2	5	3,04	6,99	15,1	2,40	7,89
3	10	1,90	7,04	15,2	2,30	7,16
4	15	0,81	7,06	15,1	2,21	5,86
5	20	0,83	7,05	15,2	2,17	6,04

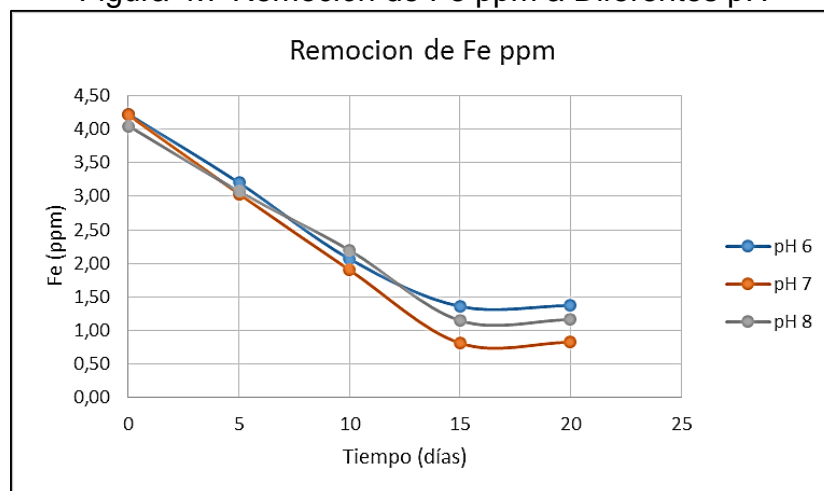
En la Tabla 4.11 se observa los resultados promedios de Concentración de Fe en ppm, pH, temperatura, O.D. y C.E. en el agua del humedal con un pH de 7, teniendo como concentración inicial en la prueba N°1 y concentración final a la prueba N° 4, debido a que la prueba N° 5 se mantiene constante dentro del proceso.

Tabla 4.12 Parámetros promedio de Análisis para pH 8

Nº de Pruebas	Tiempo (días)	Ci (ppm Fe)	pH	Temperatura °C	O.D. ppm	C.E. (ms/cm)
1	0	4,05	8,02	15,0	2,22	10,04
2	5	3,07	8,02	14,9	2,33	9,24
3	10	2,20	8,05	15,0	2,39	8,01
4	15	1,15	8,06	14,9	2,23	7,19
5	20	1,16	8,15	15,0	2,22	7,22

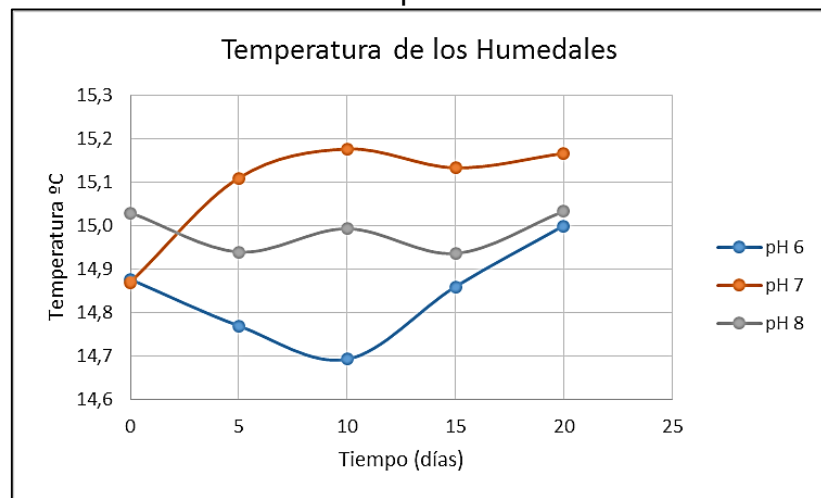
En la Tabla 4.12 se observa los resultados promedios de Concentración de Fe en ppm, pH, temperatura, O.D. y C.E. en el agua del humedal con un pH de 8, teniendo como concentración inicial en la prueba N°1 y concentración final a la prueba N° 4, debido a que la prueba N° 5 se mantiene constante dentro del proceso.

Figura 4.7 Remoción de Fe ppm a Diferentes pH



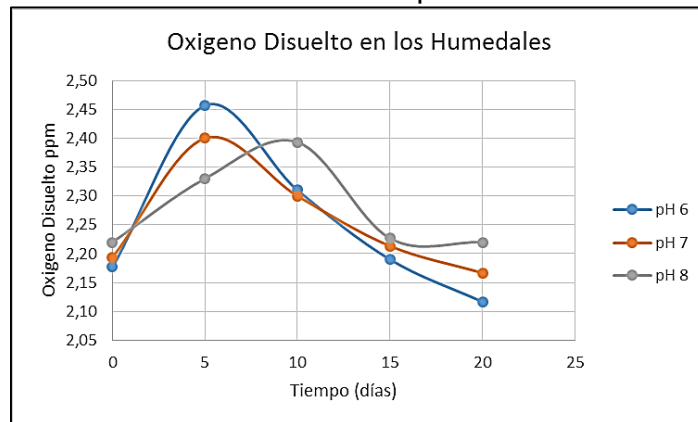
En la Figura 4.7 comparamos los resultados de la concentración de Fe promedio en el agua del humedad respecto a tres pH 6,7 y 8 observando que existe mayor reducción con un pH 7 mientras que a pH 6 y 8 no existía variaciones entre ellos durante los 15 primeros días, luego se mantiene constante la remoción de Fe en los diferentes humedales con sus pH respectivos

Figura 4.8 Temperatura Promedio en los Humedales con Diferentes pH



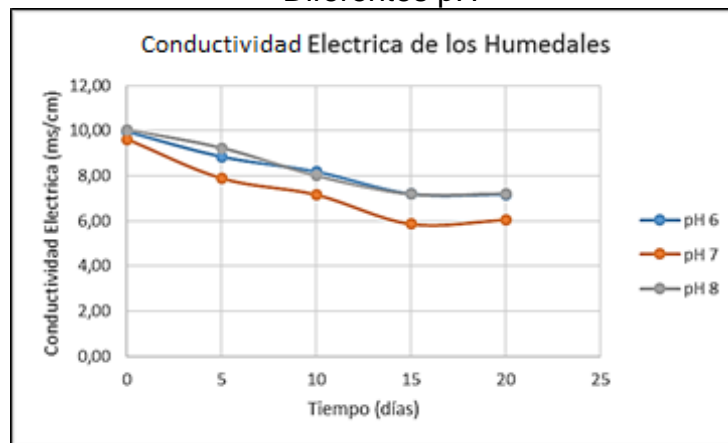
En la Figura 4.8 comparamos los resultados de las temperaturas promedio en el agua de los humedales respecto a tres pH 6,7 y 8 observando que las temperaturas varían en 0,5 °C, en los 20 días de duración de las pruebas experimentales la temperatura con pH 6 desciende hasta 14,7 °C, mientras que la temperatura con un pH de 7 se incrementa hasta 15,2 °C y la temperatura a pH 8 se mantiene casi constante en 15°Cw.

Figura 4.9 Oxígeno Disuelto Promedio en los Humedales con Diferentes pH



En la Figura 4.9 comparamos los resultados del oxígeno disuelto promedio en el agua de los humedales respecto a tres pH 6,7 y 8 observando que en los tres humedales se incrementa el oxígeno disuelto entre los 5 y 10 días posteriormente reduciéndose según transcurra el tiempo.

Figura 4.10 Conductividad Eléctrica Promedio en los Humedales con Diferentes pH



En la Figura 4.10 comparamos los resultados de la conductividad eléctrica promedio en el agua de los humedales respecto a tres pH 6,7 y 8 observando que en los tres humedales se decrece la conductividad de 3 a 4 unidades de ms/cm durante los 15 primeros días, luego manteniéndose constante.

4.1.6. Remoción de Fe ppm en los diferentes pH

Tabla 4.13 Remoción de Fe en un humedal de pH 6

Tiempo (días)	Ci (ppm Fe)	Cf (ppm Fe)	% de Remoción
0	4,22	4,22	0,0%
5	4,22	3,20	24,2%
10	4,22	2,07	51,1%
15	4,22	1,36	67,8%
20	4,22	1,37	67,5%

En la Tabla 4.13 se observa la remoción de Fe en el agua con pH de 6, obteniéndose mayor remoción a los 15 días a 67,8%

Tabla 4.14 Remoción de Fe en un humedal de pH 7

tiempo (días)	Ci (ppm Fe)	Cf (ppm Fe)	% de Remoción
0	4,21	4,21	0,00
5	4,21	3,04	27,9%
10	4,21	1,90	54,8%
15	4,21	0,81	80,7%
20	4,21	0,83	80,4%

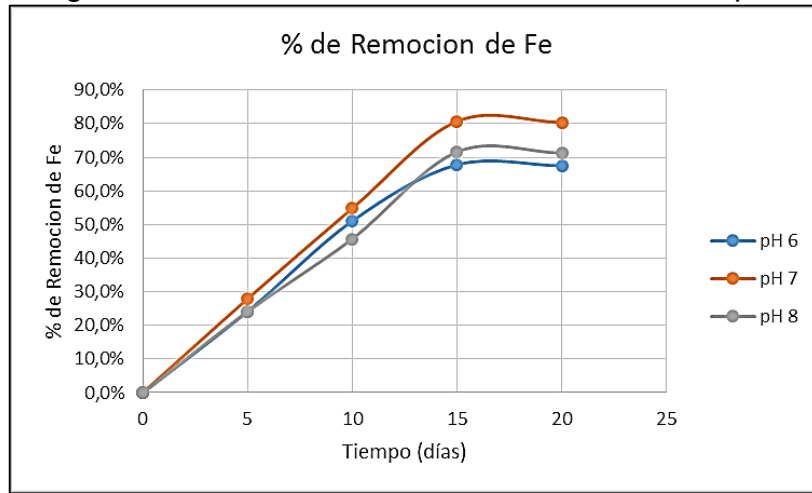
En la Tabla 4.14 se observa la remoción de Fe en el agua con pH de 7, obteniéndose mayor remoción a los 15 días a 80,7%

Tabla 4.15 Remoción de Fe en un humedal de pH 8

Tiempo (días)	Ci (ppm Fe)	Cf (ppm Fe)	% de Remoción
0	4,05	4,05	0,0%
5	4,05	3,07	24,1%
10	4,05	2,20	45,8%
15	4,05	1,15	71,6%
20	4,05	1,16	71,3%

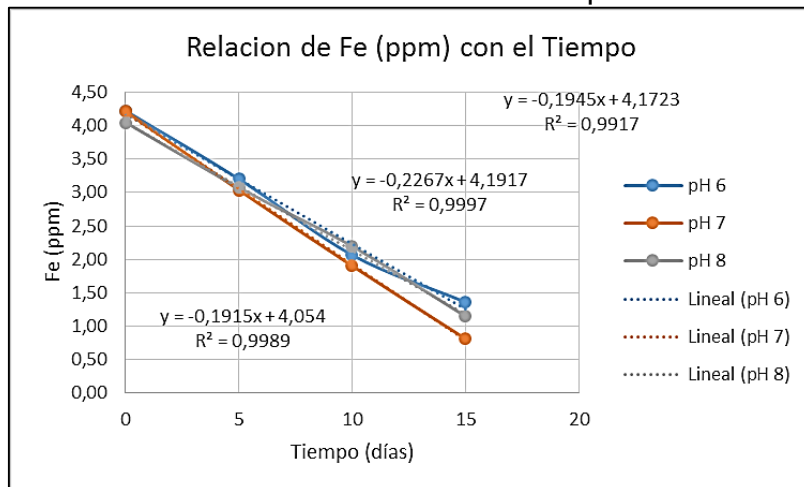
En la Tabla 4.15 se observa la remoción de Fe en el agua con pH de 8, obteniéndose mayor remoción a los 15 días a 71,6%

Figura 4.11 % de Remoción de Fe en Diferentes pH



Según la Figura 4.11 se observa que en los 15 primeros días se incrementa el % de Remoción de Fe de las aguas de los humedales obteniendo mayor remoción el humedal de pH 7, después se mantiene constante la remoción de Fe en cada uno de los humedales

Figura 4.12 Relación Lineal de Fe con el Tiempo en Diferentes pH



Según la Figura 4.12 se busca la mejor relación de la reducción de la concentración de Fe respecto al tiempo de retención dentro de los humedales, obtenido así las relaciones lineales para cada

humedal a diferentes pH, para el pH 6 se encontró la ecuación $\text{Conc. Fe} = -0,1945 \cdot t + 4,1723$ con un coeficiente de correlación de 0,9917, para el pH 7 se encontró la ecuación $\text{Conc. Fe} = -0,2267 \cdot t + 4,1917$ con un coeficiente de correlación de 0,9997 y para el pH 8 se encontró la ecuación $\text{Conc. Fe} = -0,1915 \cdot t + 4,054$ con un coeficiente de correlación de 0,9989.

La bio acumulación de Fe en las plantaciones de Totorá se determinaron solo en los tiempos de 5, 10 y 15 días a partir de ahí ya se volvía constante la bio acumulación de Fe en cada humedal a diferentes pH.

Tabla 4.16 Bioacumulación de Fe en la totora con pH 6

Nº de pruebas	tiempo (días)	Ci (ppm Fe)	Cf (ppm Fe)	Bio Retención totora	% Bio Retención totora
1	5	4,22	3,20	1,02	24,2%
2	10	4,22	2,07	2,16	51,1%
3	15	4,22	1,36	2,86	67,8%

En la Tabla 4.16 se observa la bio acumulación de Fe en ppm y el % de retención de Fe, en los tiempos de 5,10 y 15 días para un pH de 6, obtenido la máxima retención de 67,8%.

Tabla 4.17 Bioacumulación de Fe en la totora con pH 7

Nº de pruebas	tiempo (días)	Ci (ppm Fe)	Cf (ppm Fe)	Bio Retención totora	% Bio Retención totora
1	5	4,21	3,04	1,18	27,9%
2	10	4,21	1,90	2,31	54,7%
3	15	4,21	0,81	3,40	80,5%

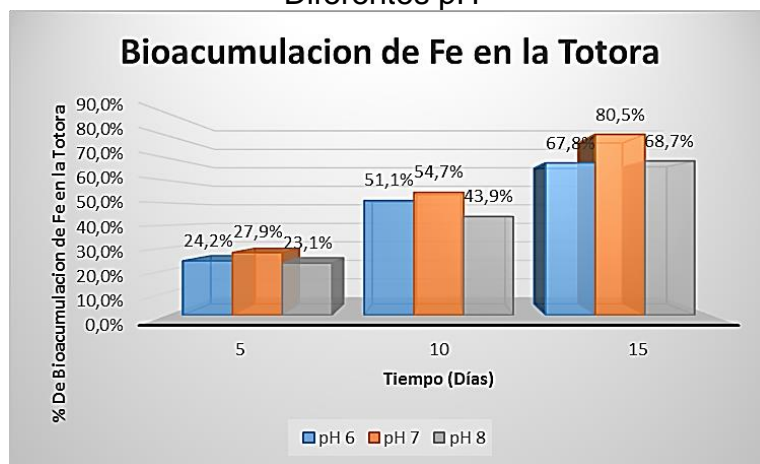
En la Tabla 4.17 se observa la bio acumulación de Fe en ppm y el % de retención de Fe, en los tiempos de 5,10 y 15 días para un pH de 7, obtenido la máxima retención de 80,5%.

Tabla 4.18 Bioacumulación de Fe en la totora con pH 8

Nº de pruebas	tiempo (días)	Ci (ppm Fe)	Cf (ppm Fe)	Bio Retención totora	% Bio Retención totora
1	5	4,05	3,07	0,98	23,1%
2	10	4,05	2,20	1,85	43,9%
3	15	4,05	1,15	2,90	68,7%

En la Tabla 4.18 se observa la bio acumulación de Fe en ppm y el % de retención de Fe, en los tiempos de 5,10 y 15 días para un pH de 8, obtenido la máxima retención de 68,7%.

Figura 4.13 Bioacumulación de Fe en las Totoras con el Tiempo en Diferentes pH



Según la Figura 4.13 se observa el porcentaje de bio acumulación de Fe en las plantaciones de totoras en los diferentes pH de operación obtenido de esta manera las mayores emociones en un tiempo de 15 días de retención del agua en los humedales y

respecto al pH se encontró la mayor bio acumulación del 80,5% a un pH neutro.

4.2. Discusión de Resultados

La caracterización fisicoquímica el agua del lago Chinchaycocha Junín se realizó utilizando un sistema de monitoreo aleatorio simple, de tres lugares distintos para obtener una muestra representativa se analizaron los siguientes parámetros, concentración de hierro de 4,15 ppm, pH 6,82, temperatura 12 °C, Oxígeno disuelto 2,8 mg/L y conductividad eléctrica 10,2 ms/cm.

La evaluación de la variación del índice de acides del agua del lago Chinchaycocha en los humedales artificiales se experimentaron en 3 niveles de pH el primero con un pH 6 ácido, segundo con un pH 7 neutro y tercero con un pH 8 básico para la acidificación se añadió HCl a 0,1N y para llevar a base se utilizó NaOH a 0,1N, realizando dos replicas para cada prueba experimental, los resultados obtenidos de remoción de Fe en ppm durante los primeros 10 días se mantenían casi constantes en los tres pH diferentes, conteniendo Fe en cada humedal las siguientes concentraciones 2,07 ppm Fe, 1,90 ppm Fe y 2,20 ppm Fe, respectivamente. Para un tiempo de 15 días se dio la mayor remoción habiendo una diferencia significativa en los diferentes humedales, obtenido las siguientes concentraciones de 1,36 ppm Fe, 0,81 ppm Fe y 1,15 ppm Fe, respectivamente, si continuamos con mayor tiempos de retención a 20 días se mantiene constante la concentración de Fe en los tres humedales con diferentes pH

La variación del tiempo de retención del agua del lago Chinchaycocha en los humedales artificiales fueron analizados en cuatro periodos a los 5 días, 10 días, 15 días, y 20 días en los cuales se analizaron varios parámetros con respecto a la acumulación de Fe en las plantaciones de Scirpus

Californicus (totora), en la que se determinó que el tiempo máximo de retención es de 15 días donde se encuentran la mayor bio acumulación de Fe en las plantaciones, de igual manera se buscó relaciones matemáticas entre el tiempo y la reducción de la concentración de Fe en los diferentes humedales, para el pH 6 se encontró la ecuación $\text{Conc. Fe} = -0,1945 * t + 4,1723$ con un coeficiente de correlación de 0,9917, para el pH 7 se encontró la ecuación $\text{Conc. Fe} = -0,2267 * t + 4,1917$ con un coeficiente de correlación de 0,9997 y para el pH 8 se encontró la ecuación $\text{Conc. Fe} = -0,1915 * t + 4,054$ con un coeficiente de correlación de 0,9989, siendo así el tiempo máximo de retención de 15 días.

La capacidad de bio acumulación de hierro en el Scirpus Californicus (totora) se determinó en función del tiempo de retención de 5 días, 10 días y 15 días, de igual forma respecto a la variación del índice de acides de pH 6, pH 7 y pH 8, para cada prueba experimentales obtenido los siguientes resultados, para una retención de 5 días se obtuvo 24,2% de Fe; 27,9% de Fe; 23,1% de Fe respectivamente según los pH, para 10 días se obtuvo 51,1% de Fe; 54,7% de Fe; 43,9% de Fe respectivamente según los pH y para los 15 días se obtuvo 67,8% de Fe; 80,5% de Fe; 68,7% de Fe respectivamente según los pH.

4.3. Contrastación de Hipótesis

4.3.1. One-way ANOVA: Conc. Fe en pH 6; Conc. Fe en pH 7; Conc. Fe en pH 8

Method	
Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	At least one mean is different
Significance level	$\alpha = 0,05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	3	Conc. Fe en pH 6; Conc. Fe en pH 7; Conc. Fe en pH 8

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	2	0,2066	0,1033	0,06	0,943
Error	12	21,1141	1,7595		
Total	14	21,3207			

Utilizando la herramienta estadística Minitab se realizó un análisis de anova y el valor P-value resulto 0,943 resultando mayor al valor de significancia del 0,05 por lo tanto se acepta la hipótesis que la variación del índice de acides en los humedales con plantaciones de totora no influyen significativamente en la bio retención de Fe.

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1,32647	0,97%	0,00%	0,00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
Conc. Fe en pH 6	5	2,444	1,244	(1,151; 3,737)
Conc. Fe en pH 7	5	2,158	1,469	(0,865; 3,451)
Conc. Fe en pH 8	5	2,326	1,253	(1,033; 3,619)

Pooled StDev = 1,32647

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

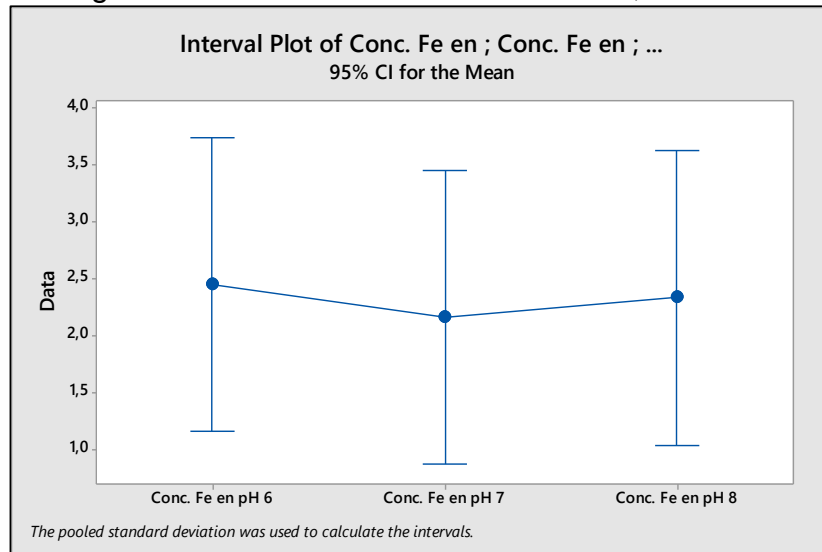
Factor	N	Mean	Grouping
Conc. Fe en pH 6	5	2,444	A
Conc. Fe en pH 8	5	2,326	A
Conc. Fe en pH 7	5	2,158	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Después del análisis de Fisher se observa en los resultados que las medias obtenido de los análisis de la concentración de Fe no tienen mucha

diferencia por lo tanto las medias están dentro de los intervalos de confianza para cada concentración de pH de esta manera pertenecen a un solo grupo.

Figura 4.14 Interval Plot of Conc. Fe en ; Conc. Fe .



En la Figura 4.14 se observa que las medias para cada uno de las corridas experimentales no tienen mucha variación manteniéndose dentro de los intervalos de confianza.

4.3.2. One-way ANOVA: Conc. Fe en Tiem; Conc. Fe en Tiem; Conc. Fe en Tiem; Conc. Fe en Tiem

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0,05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values

Factor 4 Conc. Fe en Tiempo 5 dias; Conc. Fe en Tiempo 10 dias; Conc. Fe en Tiempo 15 dias; Conc. Fe en Tiempo 20 dias

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	8,0969	2,69896	59,65	0,000
Error	8	0,3620	0,04525		
Total	11	8,4589			

Utilizando la herramienta estadística Minitab se realizó un análisis de anova y el valor P-value resulto 0,000 resultando menor al valor de significancia del 0,05 por lo tanto se niega la hipótesis que el tiempo de retención en los humedales con plantaciones de totora no influyen significativamente en la bio retención de Fe.

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,212720	95,72%	94,12%	90,37%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
Conc. Fe en Tiempo 5 dias	3	3,1033	0,0850	(2,8201; 3,3865)
Conc. Fe en Tiempo 10 dias	3	2,0567	0,1504	(1,7735; 2,3399)
Conc. Fe en Tiempo 15 dias	3	1,107	0,278	(0,823; 1,390)
Conc. Fe en Tiempo 20 dias	3	1,120	0,272	(0,837; 1,403)

Pooled StDev = 0,212720

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

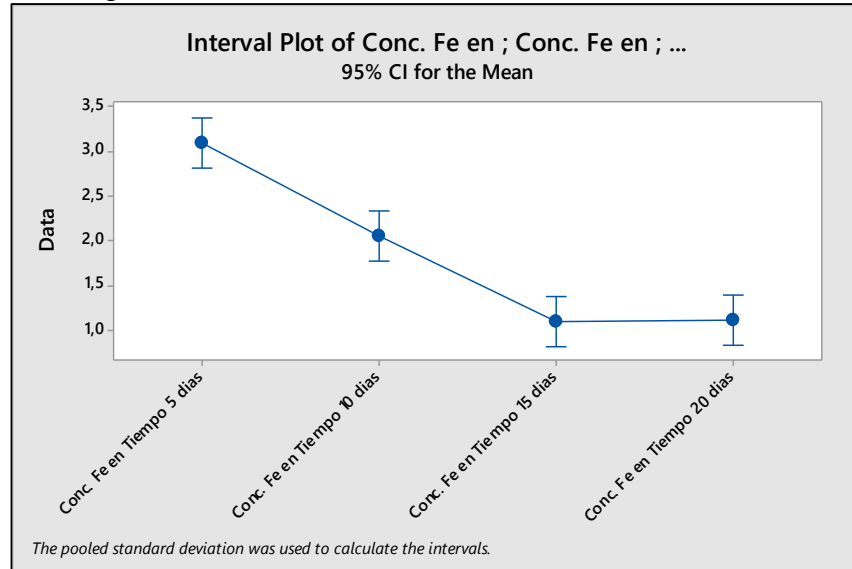
Factor	N	Mean	Grouping
Conc. Fe en Tiempo 5 dias	3	3,1033	A
Conc. Fe en Tiempo 10 dias	3	2,0567	B
Conc. Fe en Tiempo 20 dias	3	1,120	C
Conc. Fe en Tiempo 15 dias	3	1,107	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Después del análisis de Fisher se observa en los resultados que las medias obtenido de los análisis de la concentración de Fe respecto a los tiempos de retención habiendo diferencia significativa respecto al tiempo de 5 días, 10

días, 15 y 20 días de tal manera que se formaron 3 grupos diferentes debido a la bio acumulación de Fe en las plantaciones de totora.

Figura 4.15 Interval Plot of Conc. Fe en; Conc. Fe



En la Figura 4.14 se observa que las medias para cada uno de las corridas experimentales en relación al tiempo de retención obteniendo que para los 5 días, 10 días y 15 días tienen variaciones significativas

En comparación con los días 15 y 20 que se encuentran dentro de un mismo intervalo de confianza.

CONCLUSIONES

Se caracterizó fisicoquímicamente el agua del lago Chinchaycocha Junín se analizaron los siguientes parámetros, concentración de hierro de 4,15 ppm, pH 6,82, temperatura 12 °C, Oxígeno disuelto 2,8 mg/L y conductividad eléctrica 10,2 ms/cm.

Se evaluó la variación del índice de acides del agua del lago Chinchaycocha en los humedales artificiales, los resultados obtenidos de remoción de Fe, para un tiempo de 15 días donde se dio la mayor remoción, habiendo una diferencia significativa en los diferentes humedales con diferentes pH, obtenido las siguientes concentraciones de 1,36 ppm Fe, 0,81 ppm Fe y 1,15 ppm Fe, respectivamente, si continuamos con mayor tiempos de retención a 20 días se mantiene constante la concentración de Fe en los tres humedales.

Se evaluó la variación del tiempo de retención del agua del lago Chinchaycocha en los humedales artificiales fueron analizados en cuatro periodos a los 5 días, 10 días, 15 días, y 20 días en los cuales se analizaron

varios parámetros con respecto a la acumulación de Fe en las plantaciones de *Scirpus Californicus* (tatora), en la que se determinó que el tiempo máximo de retención es de 15 días donde se encuentran la mayor bioacumulación de Fe en las plantaciones, de igual manera se buscó relaciones matemáticas entre el tiempo y la reducción de la concentración de Fe en los diferentes humedales, para el pH 6 se encontró la ecuación $\text{Conc. Fe} = -0,1945 \cdot t + 4,1723$ con un coeficiente de correlación de 0,9917, para el pH 7 se encontró la ecuación $\text{Conc. Fe} = -0,2267 \cdot t + 4,1917$ con un coeficiente de correlación de 0,9997 y para el pH 8 se encontró la ecuación $\text{Conc. Fe} = -0,1915 \cdot t + 4,054$ con un coeficiente de correlación de 0,9989, siendo así el tiempo máximo de retención de 15 días.

Se determinó la capacidad de bioacumulación de hierro en el *Scirpus Californicus* (tatora) en función del tiempo de retención de 5 días, 10 días y 15 días, de igual forma respecto a la variación del índice de acidez de pH 6, pH 7 y pH 8, para cada prueba experimental obtenidos los siguientes resultados, para los 15 días un valor 67,8% de Fe; 80,5% de Fe; 68,7% de Fe respectivamente, obteniendo el máximo valor de bioacumulación de un 80,5%

RECOMENDACIONES

Los humedales receptores, pueden llegar a ser muy efectivos para la remoción de hierro pero no muy exitosos en el control de acidez. Sin embargo, con los tratamientos pasivos combinados (bióticos y abióticos integrados), tales como los Sistemas de Producción Sucesiva de Alcalinidad (SAPS), se puede mejorar sustancialmente el control de la acidez.

Los humedales anaerobios han dado mejores resultados para tratar metales pesados que los humedales aeróbicos, especialmente cuando se fundamentan en la acción de las bacteria sulfato reductoras.

Los humedales construidos ofrecen una alternativa práctica al tratamiento químico de drenajes de mina, con bajos costos de construcción, operación y mantenimiento además de remoción efectiva de muchos contaminantes tales como metales pesados y metaloides.

Aunque las plantas y los microorganismos son importantes en diferentes procesos involucrados en la retención de contaminantes por medio de humedales, la captación directa de elementos traza dentro de los tejidos

BIBLIOGRAFÍA

- (EPA), E. P. (2000). *HUMEDALES DE FLUJO SUBSUPERFICIAL*. FOLLETO INFORMATIVO DE TECNOLOGÍA DE AGUAS RESIDUALES.
- ANDRES, L. B. (1999). *DEPURACION DE AGUAS RESIDUALES MUNICIPALES CON HUMEDALES ARTIFICIALES*. ESPAÑA: TESIS DE MAESTRIA, UNIVERSIDAD POLITECNICA DE CATALUÑA.
- BELHATECHE, D. (1995). *CHOOSE APPROPRIATE WASTEWATER TREATMENT TECHNOLOGIES*. CHEM. ENG.
- CLAIR N. SAWYER, P. L. (2000). *QUÍMICA PARA INGENIERÍA AMBIENTAL*. MEXICO: MC GRAW HILL.
- CONLEY L., D. R. (1991). *AN ASSESSMENT OF THE ROCK ONE METHOD OF WASTEWATER TREATMENT*. RESEARCH JOURNAL OF THE WATER POLLUTION CONTROL: FEDERATION.
- CRITES, R., TCHOBANOGLOUS, G., CAMARGO, M., & PARDO, L. Y. (2000). *TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN PEQUEÑAS POBLACIONES*. COLOMBIA: MC GRAW HILL.
- E, R. (1977). *MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES*. UNIVERSIDAD DEL VALLE. SECCIÓN SANEAMIENTO AMBIENTAL. CALI. COLOMBIA.
- GARCÍA, J. M. (2004). *NUEVOS CRITERIOS PARA EL DISEÑO Y OPERACIÓN DE HUMEDALES CONSTRUIDOS*. COLOMBIA: MC GRAW HILL.
- H., B. (1997). *DO MACROPHYTES PLAY A ROLE IN CONSTRUCTED TREATMENT WETLAND*. WATER SCIENCE TECHNOLOGY.
- LAHORA CANO, A. “. (2004). *LOS HUMEDALES ARTIFICIALES COMO TRATAMIENTO TERCIARIO DE BAJO COSTO*.

- LARA, J. (1999). *DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES MUNICIPALES CON HUMEDALES ARTIFICIALES*. ESPAÑA: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DEL CATALUÑA.
- LLAGAS W, G. E. (2006). *DISEÑO DE HUMEDALES ARTIFICIALES PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN LA UNMSM*. LIMA: REVISTA DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES.
- MÁLVAREZ, A. (1999). *TÓPICOS SOBRE HUMEDALES SUBTROPICALES Y TEMPLADOS (DISCO COMPACTO)*, OFI CINA REGIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE LA UNESCO PARA AMERICA LATINA Y EL CARIBE. MONTEVIDEO.
- PAREDES D, K. P. (2001). *TIPO DE HUMEDALES Y MECANISMOS DE REMOCIÓN*. SEMINARIO HUMEDALES ARTIFICIALES PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES. PEREIRA.
- RITES, R. Y. (2000). *SISTEMAS DE MANEJO DE AGUAS RESIDUALES ÁRA NUCLEOS PEQUEÑOS Y DESCENTRALIZADO*. BOGOTA, COLOMBIA: MCGRAWHILL.
- ROBINSON, N. C. (1999). *A FERRIC-CHELATE REDUCTASE FOR IRON UPTAKE FROM SOILS*. NATURE.
- SALAZAR A, M. P. (2003). *ADAPTACIÓN Y EVALUACIÓN DE PLANTAS TÍPICAS DE LA ZONA CAFETERA COMO TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES POR MEDIO DE HUMEDALES ARTIFICIALES*. TESIS. UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA.
- STEARMAN, G. E. (2003). *PESTICIDE REMOVAL FROM CONTAINER NURSERY RUNOFF IN CONSTRUCTED WETALND CELLS*. EN JOURNAL OF ENVIRONMENTAL QUALITY.
- TATIANA, G. B. (2005). *DISEÑO, CONSTRUCCION Y EVALUACION PRELIMINAR DE UN HUMEDAL DE FLUJO SUPERFICIAL*. TESIS DETESIS DE GADO, UNIVERSIDAD DE LOS ANDES.

- THEIL, E. J. (1997). *A SUSTAINABLE SOLUTION FOR DIETARY IRON DEFICIENCY THROUGH PLANT BIOTECHNOLOGY AND BREEDING TO INCREASE SEED FERRITIN CONTROL*. EUR. J. CLIN. NUTR.
- VAN WUYTSWINKEL, O. G. (1999). *IRON HOMEOSTASIS ALTERATION IN TRANSGENIC TOBACCO OVEREXPRESSING FERRITIN*. . PLANT J.
- YI, Y. A. (1996). *GENETIC EVIDENCE THAT INDUCTION OF ROOT FE(III) CHELATE REDUCTASE ACTIVITY IS NECESSARY FOR IRON UPTAKE UNDER IRON DEFICIENCY*. PLANT J.

ANEXOS

Imagen 01: Realizando el muestreo de agua en el Lago Chinchaycocha.



Fuente propia

Imagen 02: Sacando plantaciones de totora para las pruebas experimentales.



Fuente propia

Imagen 03: Construcción de los Humedales Artificiales



Fuente propia

Imagen 04: Limpieza y preparación de las totoras antes de ser instaladas en los Humedales Artificiales.



Fuente propia

Imagen 05: Adaptación de la Totora en los Humedales Artificiales



Fuente propia

Imagen 06: Preparación de la concentración de Hierro en el laboratorio



Fuente propia

Imagen 07: Adición de Hierro en el Humedal Artificial con plantaciones de Totora



Fuente propia

Imagen 08: Monitoreo de Temperatura y pH en el Humedal artificial con plantaciones de totora.



Fuente propia

Imagen 09: Análisis con el espectrofotómetro.



Fuente propia