

**UNIVERSIDAD DE INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**



**PROTOCOLO, CRITERIOS Y RECOMENDACIONES**  
**PARA EL MONITOREO DE MERCURIO EN**  
**NIVELES INFERIORES DE LA RED TRÓFICA**  
**ACUÁTICA DE POZAS MINERAS ABANDONADAS**  
**EN LA AMAZONÍA PERUANA**

**TESIS**

Para optar el título profesional de Ingeniera Ambiental

**AUTOR**

María Paz García Veramatus (ORCID: 0000-0002-4700-5410)

**ASESORES**

Patrick Alain Venail Zorro (ORCID:0000-0003-1126-280X)

Monica Moreno Brush (ORCID: 0000-0003-3604-5852)

Lima – Perú

2024

## **DECLARACIÓN JURADA**

Yo, Mónica Cecilia Santa María Fuster identificada con DNI No 18226712 en mi condición de autoridad responsable de validar la autenticidad de los trabajos de investigación y tesis de la UNIVERSIDAD DE INGENIERIA Y TECNOLOGIA, DECLARO BAJO JURAMENTO:

Que la tesis denominada “PROTOCOLO, CRITERIOS Y RECOMENDACIONES PARA EL MONITOREO DE MERCURIO EN NIVELES INFERIORES DE LA RED TRÓFICA ACUÁTICA DE POZAS MINERAS ABANDONADAS EN LA AMAZONÍA PERUANA” ha sido elaborada por la Srta. María Paz García Veramatus, con la asesoría de Patrick Alain Venail Zorro, identificado con carnet de extranjería N°002609583 y Mónica Cristina Moreno Brush identificada con DNI 41888019 y que se presenta para obtener el título profesional de Ingeniero ambiental, ha sido sometida a los mecanismos de control y sanciones anti plagio previstos en la normativa interna de la universidad, encontrándose un porcentaje de similitud de 0%.

En fe de lo cual firmo la presente.



Dra. Mónica Santa María Fuster  
Directora de Investigación

En Barranco, el 29 de mayo 2024

*Dedicatoria:*

*A mi familia y amigos, por celebrar mis logros y apoyarme en los momentos difíciles.*

*Agradecimientos:*

*Este proyecto de investigación no habría sido posible sin el apoyo de diversas personas e instituciones. Agradezco a mis asesores, Patrick Venail, por acompañarme y guiarme en cada etapa desde el inicio; y Monica Moreno, cuyo conocimiento sobre la contaminación por mercurio en la Amazonía, así como su claridad y orientación, fueron fundamentales.*

*Agradezco al Centro de Innovación Científica Amazónica (CINCIA), en particular a Claudia Vega, Coordinadora del programa de mercurio, cuyo asesoramiento, tiempo y apoyo fueron cruciales para convertir este proyecto en una realidad. A Jessica Pisconte, asistente del programa de mercurio, por su paciencia y dedicación durante mi estadía en Puerto Maldonado. A Shamir Delgado, Larry Huacarpuma, Liz Huamani y Julia Tinco, quienes brindaron asistencia valiosa en el trabajo de campo o en el laboratorio. A Julio Araujo y Camila Timana del programa de ecosistemas acuáticos de CINCIA, por compartir su experiencia y sugerencias conmigo.*

*Quiero expresar mi reconocimiento al equipo del Centro de Investigación y Tecnología del Agua y al departamento de Ingeniería Ambiental de la UTEC, así como a Lynn Marín y Alonso Reyes por facilitarme los equipos necesarios. Un agradecimiento especial a mi amiga Chiara Manassero, quien viajó conmigo desde Lima hasta Puerto Maldonado, ayudándome durante el trabajo de campo e identificación de muestras. Por último, hago reconocimiento a la Tambopata Reserve Society (TReeS) por facilitar la divulgación de resultados de este proyecto.*

# TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
<b>RESUMEN</b> .....	9
<b>ABSTRACT</b> .....	10
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	11
<b>CAPÍTULO I</b> .....	17
<b>1. MARCO TEÓRICO</b> .....	17
1.1 La minería de oro artesanal y de pequeña escala (MAPE).....	17
1.2 La MAPE en Madre de Dios .....	18
1.3 El mercurio .....	19
1.3.1 Ciclo biogeoquímico del mercurio .....	19
1.3.2 Metilación del mercurio.....	20
1.3.3 Factores que controlan la bioacumulación y biomagnificación de metilmercurio	21
1.4 Bioacumulación de mercurio en zooplancton y macroinvertebrados acuáticos.....	22
1.4.1 Zooplancton .....	22
1.4.2 Macroinvertebrados .....	24
1.4.3 Relación entre el hábitat acuático y la bioacumulación de mercurio en zooplancton y macroinvertebrados .....	27
<b>CAPÍTULO II</b> .....	29
<b>2. MARCO METODOLÓGICO</b> .....	29
2.1 Planificación del trabajo .....	30
2.1.1 Recopilación de información y definición de objetivos .....	30
2.1.2 Identificación del área de estudio y sitios de colecta.....	30
2.1.3 Disponibilidad de recursos .....	31
2.2 Diseño del trabajo de campo y laboratorio.....	32
2.2.1 Diseño del protocolo de colecta, identificación y preparación de muestras.....	32
2.2.2 Diseño del protocolo de análisis de mercurio.....	34

2.3	Ejecución del proyecto piloto.....	35
2.3.1	Descripción del área de estudio y sitios de colecta .....	35
2.3.2	Colecta de muestras y datos ambientales de apoyo.....	40
2.3.3	Identificación y preparación de muestras .....	43
2.3.4	Análisis de mercurio total.....	47
2.4	Evaluación del protocolo diseñado.....	50
2.4.1	Observaciones del proyecto piloto .....	50
2.4.2	Relación de los resultados con los datos ambientales de apoyo.....	50
2.4.3	Evaluación de la validez del protocolo.....	51
2.5	Priorización de bioindicadores .....	51
	<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>55</b>
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>55</b>
3.1	Resultados del proyecto piloto .....	55
3.1.1	Protocolo para zooplancton .....	55
3.1.2	Protocolo para macroinvertebrados .....	58
3.2	Evaluación del protocolo diseñado.....	63
3.2.1	Observaciones del proyecto piloto .....	63
3.2.2	Relación de los resultados con los datos ambientales de apoyo.....	68
3.2.3	Validez del protocolo.....	71
3.3	Modelo de priorización de grupos taxonómicos de macroinvertebrados como bioindicadores.....	79
<b>4.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>83</b>
<b>5.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>85</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>93</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 2.1. Ubicación de los cuerpos de aguas muestreados .....	37
Tabla 2.2. Valores de materiales de referencia certificados (CRM, por sus siglas en inglés) y soluciones estándar de mercurio.....	49
Tabla 3.1. Concentración de mercurio total (THg) en muestras de zooplancton. ....	57
Tabla 3.2. Distribución de muestras macros <sub>campo</sub> en los cuerpos de agua estudiados .....	58
Tabla 3.3. Características de los grupos taxonómicos de macroinvertebrados colectados ..	59
Tabla 3.4. Resumen de la preparación y el análisis de mercurio de las muestras de macroinvertebrados. ....	61
Tabla 3.5. Datos ambientales de apoyo de los cuerpos de agua de estudio.....	63
Tabla 3.6. Concentración promedio (media) de THg (ng/g) en zooplancton y macroinvertebrados .....	68
Tabla 3.7. Concentraciones de THg en zooplancton reportadas en la literatura .....	73
Tabla 3.8. Concentración de mercurio total (THg) en macroinvertebrados de lagos control y pozas mineras a nivel de grupo taxonómico.....	75
Tabla 3.9. Valores registrados para los criterios considerados en el modelo de priorización de grupos taxonómicos. ....	80
Tabla 3.10. Resultados del modelo de priorización .....	81

# ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 2.1. Área de estudio indicando los cuerpos de agua muestreados. ....	36
Figura 2.2. Cuerpos de agua muestreados. ....	39
Figura 2.3. Colecta de zooplancton mediante filtración de agua.....	40
Figura 2.4. Vista de los puntos de muestreo de macroinvertebrados en la poza minera Inundación .....	41
Figura 2.5. Toma de datos ambientales de apoyo.....	42
Figura 2.6. Fotografía de macroinvertebrados del orden Ephemeroptera .....	46
Figura 2.7. Secado de muestras de zooplancton y macroinvertebrados .....	47
Figura 2.8. Analizador Directo de Mercurio DMA-80 de la marca Milestone .....	49
Figura 2.9. Preparación de botes de muestras con macroinvertebrados .....	50
Figura 3.1. Cladóceros colectados en la poza minera Shansho .....	56
Figura 3.2. Copépodos colectados en la poza minera Shansho .....	56
Figura 3.3. Fracción de muestra zooplancton (60-500 $\mu\text{m}$ ) .....	65
Figura 3.4. Correlación entre la concentración promedio de mercurio total (>LOQ) por grupo taxonómico de macroinvertebrados y la longitud corporal promedio de los mismos	70
Figura 3.5. Correlación entre la concentración promedio de mercurio total (>LOQ) por grupo taxonómico de macroinvertebrados y su abundancia total.....	71
Figura 3.6. Concentración promedio (media) de mercurio total (THg) en macroinvertebrados de pozas mineras y lagos control. ....	76
Figura 3.7. Comparación de la concentración promedio (media) de mercurio total (THg) en macroinvertebrados. ....	78

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
<b>Anexo 1:</b> Materiales, equipos y reactivos .....	94
<b>Anexo 2:</b> Cálculo del área de los cuerpos de agua muestreados en la plataforma Qgis .....	97
<b>Anexo 3:</b> Estimación del año de formación de los cuerpos de agua muestreados .....	100
<b>Anexo 4:</b> Protocolo adaptado de colecta, procesamiento y análisis de muestras de macroinvertebrados para mercurio total .....	106
<b>Anexo 5:</b> Tablas complementarias a la sección de Resultados .....	124

## **RESUMEN**

La minería de oro artesanal y de pequeña escala (MAPE) genera altas concentraciones de mercurio en las inmediaciones de las operaciones mineras en Madre de Dios. El mercurio es un contaminante tóxico que en el agua puede transformarse en su forma orgánica, biodisponible y bioacumulable: el metilmercurio. Los esfuerzos de investigación y la atención pública se han centrado principalmente en la presencia del mercurio en peces pues su consumo es la principal ruta de exposición para los seres humanos. Sin embargo, el monitoreo de peces en lugares remotos y de difícil acceso puede ser costoso y logísticamente complejo. Ante esta problemática, este estudio evalúa la factibilidad de utilizar zooplancton y macroinvertebrados acuáticos como bioindicadores alternativos de la contaminación por mercurio en ecosistemas acuáticos impactados por la MAPE en la región de Madre de Dios. El estudio propone un procedimiento operativo estándar para recolectar, preparar y analizar muestras de zooplancton y macroinvertebrados para el monitoreo de contaminación por mercurio en pozas artificiales formadas por la extracción minera de oro. Los resultados evidencian que, considerando la metodología planteada, los macroinvertebrados de la familia Belostomatidae y del orden Odonata son bioindicadores apropiados para monitorear la bioacumulación de mercurio en el área de estudio. Por el contrario, los resultados para zooplancton no fueron satisfactorios. Este es el primer estudio de esta naturaleza realizado para la Amazonía del Perú y resalta la necesidad de desarrollar métodos de monitoreo ambiental adecuados para las condiciones de trabajo en los trópicos.

### **PALABRAS CLAVE:**

Mercurio; bioacumulación; protocolo; macroinvertebrados; zooplancton

## **ABSTRACT**

### **PROTOCOL, CRITERIA AND RECOMMENDATIONS FOR MERCURY MONITORING IN LOWER LEVELS OF THE AQUATIC FOOD WEB OF ABANDONED MINING PONDS IN THE PERUVIAN AMAZON.**

Artisanal and small-scale gold mining (ASGM) has generated high concentrations of mercury (Hg) in the vicinity of mining operations in Madre de Dios. Mercury is a toxic pollutant that upon entering a water body can be transformed into its organic, bioavailable and bioaccumulative form: methylmercury (MeHg). Research efforts and public attention have focused mainly on the presence of mercury in fish since its consumption is the main route of exposure for humans. However, monitoring fish, especially in locations that are remote and difficult to access, can be costly and logistically complex. Given this problem, this study evaluates the feasibility of using zooplankton and aquatic macroinvertebrates as alternative bioindicators of mercury contamination in aquatic ecosystems impacted by ASGM in the Madre de Dios region. The study proposes a standard operating procedure for collecting, preparing, and analyzing zooplankton and macroinvertebrate samples for monitoring mercury contamination in artificial ponds formed by gold mining. The results show that, considering the proposed methodology, macroinvertebrates of the family Belostomatidae and of the order Odonata are appropriate bioindicators to monitor mercury bioaccumulation in the study area. In contrast, the results for zooplankton were not satisfactory. This is the first study of this nature conducted for the Peruvian Amazon and highlights the need for environmental monitoring methods suitable for working conditions in the tropics.

#### **KEYWORDS:**

Mercury; bioaccumulation; protocol; macroinvertebrates; zooplankton

## INTRODUCCIÓN

La región de Madre de Dios, ubicada en el sureste de la Amazonía peruana, es reconocida como la Capital de la Biodiversidad del país, pero también es la región con mayor incidencia de minería de oro artesanal y de pequeña escala (de aquí en adelante MAPE) [1]. La MAPE en Madre de Dios se ha llevado a cabo desde los años 80 [2], aunque desde la década del 2000 [3] ha experimentado un desproporcionado aumento con el incremento en el precio internacional del oro y la pavimentación de la Carretera Interoceánica, que ha permitido el acceso a áreas antes inaccesibles [2]. Esto ha resultado en una marcada degradación del paisaje y la creación de ecosistemas de origen antropogénico, potencialmente contaminados con mercurio (Hg), metal utilizado por los mineros para extraer las partículas de oro de las rocas o depósitos aluviales mediante amalgamación [4]. Solo entre 1984 y 2017, en el sureste de la Amazonía peruana, la MAPE provocó la deforestación de casi cien mil hectáreas de bosque [5]. De esa extensión, el 15% fue transformado en pozas artificiales generadas por la extracción minera, comúnmente conocidas como pozas mineras [6]. En dicho periodo de 33 años, la superficie de estas pozas aumentó en un 670% en zonas con alta incidencia de actividad extractiva [3].

La MAPE libera Hg a suelos y ambientes acuáticos circundantes (como ríos, lagos o pozas mineras), así como a la atmósfera durante el proceso de extracción de oro [1]. Actualmente, esta actividad es la mayor fuente de Hg antropogénico a nivel global, siendo responsable de la liberación de 1610 ton/año de Hg al medio ambiente [7]. A pesar del riesgo de contaminación ambiental que presenta la MAPE, aun no se conoce con precisión la cantidad total de mercurio que libera esta actividad al medio ambiente, así como su distribución en los diferentes comportamientos ambientales (agua, aire, suelos, sedimentos y fauna) [8]. En la región de Madre de Dios, se estima que la MAPE libera 181 toneladas de mercurio al medio ambiente cada año [4], y que ha vertido aproximadamente 3 mil toneladas de mercurio a los ríos de la Amazonía del Perú desde la década de los 90 [9].

El Hg es un contaminante ambiental persistente que genera particular preocupación en su forma orgánica metilmercurio (MeHg). El MeHg se forma primariamente en ambientes acuáticos, bajo condiciones específicas [10], [11], [12], a partir de la metilación de mercurio inorgánico. Este compuesto atenta contra la salud de los organismos vivos por su capacidad de acumularse en los tejidos, dañar el sistema nervioso central y biomagnificarse a lo largo de la red trófica [1], [13], [14]. Por ello, los depredadores tope de ambientes acuáticos, ya sean mamíferos, aves, o peces carnívoros, suelen presentar las concentraciones más elevadas de mercurio [15]. Como resultado de esto, las comunidades humanas y los animales que consumen estos depredadores tope, tienen un mayor riesgo de exposición alimentaria al mercurio [7], [16].

Diversos estudios han investigado la bioacumulación de mercurio en peces de Madre de Dios, y su relación con las liberaciones del Hg de la MAPE (p. ej. [17], [18], [19], [20]); la mayoría de estos estudios ocurren en ríos o lagos que pueden encontrarse afectados por la MAPE. En varios casos, las concentraciones de mercurio en peces de áreas afectadas por la MAPE son más altas que en aquellos de áreas sin minería, superando los límites para el consumo humano recomendados y los valores de referencia de toxicidad para fauna [18], [19], [20]. La información disponible sobre bioacumulación de mercurio en pozas mineras es más limitada en comparación a otros ecosistemas; sin embargo, se sugiere que, al comparar peces de un mismo hábito alimenticio, es más probable que aquellos que habitan en pozas mineras presenten mayores concentraciones de Hg que aquellos que habitan en ríos y lagos sin minería [18]. Un estudio reciente en la región reportó que los cuerpos lénticos, como los lagos y las pozas mineras, tienen una tasa de metilación de mercurio 5 a 7 veces mayor que los cuerpos de aguas lóxicos, como los ríos [3]. Esta situación genera gran preocupación por la exponencial expansión del área de cuerpos lénticos, en particular de las pozas mineras, en la región, y su posible impacto en la biodisponibilidad del mercurio.

### **Justificación y motivación**

Las pozas mineras abandonadas, es decir, aquellas en donde las operaciones mineras han cesado, pueden ser colonizadas por organismos acuáticos [6]. En ausencia de actividades

antropogénicas, diversos procesos ecológicos pueden tener lugar en las pozas, convirtiéndolas en hábitats para diversas especies. La riqueza biológica presente en estas pozas, su potencial como recurso para la población humana, y las condiciones propicias para la formación de metilmercurio, enfatizan la necesidad de monitorear las concentraciones y la bioacumulación de mercurio en las especies que habitan estos ecosistemas.

En localidades afectadas por la MAPE, la bioacumulación de mercurio en la fauna acuática se monitorea mayormente a través del análisis en peces, principalmente para investigar los impactos y riesgos para la salud humana. Si bien los peces suelen ser buenos bioindicadores por brindar información que puede asociarse directamente con la exposición al mercurio, tanto para la salud humana como para la de los animales salvajes, su monitoreo puede ser costoso y logísticamente complejo. Dado que la MAPE tiende a realizarse en áreas remotas y de difícil acceso, es pertinente explorar otros organismos de la red trófica como alternativas para monitorear la bioacumulación del mercurio, desarrollando un protocolo de colecta sencillo pero robusto y de bajo costo, pertinente a las condiciones donde se realiza la MAPE.

La principal fuente de exposición al MeHg para los peces es a través de su alimentación [21], [22], pero a la fecha son escasos los estudios en la Amazonía que han investigado la presencia de mercurio en niveles inferiores de la red trófica acuática, como fitoplancton, zooplancton y macroinvertebrados. La evidencia científica disponible sobre la bioacumulación del mercurio en niveles inferiores de la red trófica todavía no alcanza un consenso sobre la importancia de los macroinvertebrados en comparación a zooplancton como fuente de mercurio para los peces [23], [24], [25]. Sin embargo, se sabe que la composición de la dieta de los peces, así como la longitud de su red trófica, influyen en la acumulación de mercurio [24], [26]. Cabe resaltar que, al igual que la mayoría de las investigaciones sobre metilación y biodisponibilidad de mercurio [23], [27], la exploración de la bioacumulación de mercurio en niveles inferiores de la red trófica acuática se ha dado predominantemente en climas templados y boreales [16], [28].

Con el fin de explorar nuevas técnicas de evaluación rápida y de bajo costo para el monitoreo de mercurio en cuerpos de agua afectados por la MAPE como las pozas mineras, y contribuir a los esfuerzos de mitigación de los efectos de la minería en la Amazonía, este estudio evalúa la factibilidad de utilizar el zooplancton y los macroinvertebrados acuáticos como organismos bioindicadores de la concentración de mercurio en niveles tróficos inferiores en pozas mineras. En comparación con la colecta de muestras de peces, la colecta de muestras de zooplancton y macroinvertebrados requiere de un menor tiempo en el campo, así como menos instrumentos de colecta y personal. Por otro lado, el zooplancton y los macroinvertebrados son organismos de gran abundancia y amplia distribución geográfica, pudiendo hacer que los niveles de mercurio en dichos organismos brinden una buena estimación del mercurio disponible para los niveles tróficos más altos [29], [30], [31], [32], [33], [34]. A la fecha, este es el primer estudio en la región de Madre de Dios que reporta concentraciones de mercurio en zooplancton y apenas el segundo en reportar concentraciones de mercurio en macroinvertebrados [16].

### **Alcance**

El protocolo de evaluación rápida propuesto en esta investigación tiene como objetivo convertirse en una herramienta para estudiantes y profesionales interesados en monitorear el impacto de la MAPE en la vida silvestre acuática de Madre de Dios y otras regiones tropicales. Es un protocolo diseñado para proporcionar resultados de manera rápida, sencilla y con un bajo costo relativo. Por esta razón, se centra en el análisis de mercurio total en niveles inferiores de la red trófica acuática (zooplancton y macroinvertebrados) y la medición de datos auxiliares, como los parámetros fisicoquímicos de los cuerpos de aguas de interés y las características de los organismos colectados. Cabe recalcar, que la concentración de mercurio total es un indicador comúnmente utilizado para conocer la concentración de metilmercurio en organismos vivos [35].

El protocolo propuesto ha sido validado específicamente para pozas mineras abandonadas en la región de Madre de Dios, en Perú. Tanto los protocolos de colecta, preparación y análisis de muestras, como los resultados, pueden variar si se aplican en

ecosistemas de climas y latitudes diferentes a las del caso de estudio. Por otro lado, el modelo propuesto para identificar a los organismos acuáticos prioritarios durante una evaluación rápida de contaminación por mercurio puede ser adaptado a diferentes contextos y objetivos según el estudio. Los resultados presentados en este proyecto de tesis están diseñados para ser utilizados en programas de monitoreo que buscan una mayor eficiencia en el tiempo de muestreo y una mejor fiabilidad y robustez entre los sitios de estudio.

Por tratarse de un trabajo con una duración de tan solo un par de meses, la validación del protocolo de evaluación rápida propuesto se realizó mediante un estudio piloto que incluyó una única campaña de muestreo, realizada durante la transición de la temporada húmeda a la seca. Para futuros estudios, la frecuencia del programa de monitoreo dependerá de los objetivos de este. Sin embargo, dadas las marcadas diferencias climáticas en los trópicos, se sugiere que los programas de monitoreo de mercurio incluyan, al menos en una etapa inicial, campañas de muestreo tanto en la temporada seca como en la de lluvias. De esta manera, se pueden identificar posibles dependencias de los resultados en las condiciones climáticas.

### **Objetivo general**

Elaborar y validar un protocolo de evaluación rápida para la determinación y monitoreo de concentraciones de mercurio en los niveles tróficos inferiores de la red trófica acuática (zooplancton y macroinvertebrados) en pozas mineras abandonadas en Madre de Dios, Perú.

### **Objetivos específicos**

- Diseñar un protocolo de colecta de zooplancton y macroinvertebrados acuáticos que sea eficiente, accesible y aplicable en lugares remotos para el monitoreo de concentraciones de mercurio en pozas mineras.
- Diseñar un protocolo para el análisis de mercurio en zooplancton y macroinvertebrados, utilizando un analizador directo de mercurio, para la evaluación rápida del grado de contaminación en pozas mineras.

- Evaluar la validez del protocolo de colecta de muestras y análisis de mercurio a través de un proyecto piloto en el área de estudio.
- Desarrollar un modelo para priorizar grupos de organismos acuáticos de niveles inferiores de la red trófica como bioindicadores en un monitoreo de la bioacumulación de mercurio en pozas mineras abandonadas en Madre de Dios.
- Identificar oportunidades de mejora en los protocolos formulados y brindar recomendaciones.

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 La minería de oro artesanal y de pequeña escala (MAPE)

La minería de oro artesanal y de pequeña escala (MAPE) es una actividad que se lleva a cabo en más de 80 países del mundo, y es particularmente extensa en América del Sur, especialmente en la Amazonía; África subsahariana y el este y sudeste de Asia [36]. Esta se desarrolla principalmente en zonas rurales de países de ingresos bajos y medios que poseen reservas minerales de oro y donde otras alternativas de subsistencia son limitadas [4], [37], [38]. A nivel global, entre 14 y 19 millones de personas se dedican a la MAPE [39], mientras que otras 80-100 millones dependen de esta actividad para su subsistencia [37].

En la MAPE aluvial, los mineros extraen las partículas de oro depositadas en los suelos y sedimentos aluviales. Cuando el oro se encuentra fuera del canal principal del río, los mineros deforestan la zona de explotación y cavan extensas áreas que posteriormente son llenadas con agua (lluvia, bombeada desde el río, subterránea, desviación del cauce) para facilitar la obtención del mineral [3]. A estos cuerpos de agua de origen antrópico se les conoce como pozas mineras. El material extraído es lavado y filtrado para obtener las arenas adheridas a las partículas de oro. Finalmente, para separar el oro de las arenas, los mineros suelen utilizar mercurio, un metal líquido que se vaporiza rápidamente [40]. Por ello, la quema de la amalgama entre el mercurio y el oro genera la volatilización del mercurio [4], [41] y produce emisiones que se transportan en la atmósfera, y con el tiempo, se depositan incrementando la contaminación del agua y suelo [1], [42].

En Perú, en 2015 existían 25 millones de hectáreas con minería ilegal o informal (de distintos metales, incluido el oro) [2]. A nivel nacional, Madre de Dios es la región con mayor producción informal e ilegal de oro, seguido por Puno [43]. Otros lugares importantes respecto a esta actividad son Ica, Arequipa, Ayacucho, La Libertad y Piura [2]. En la selva del Perú, la minería aluvial artesanal se viene desarrollando desde los años 80, pero con el

incremento en el precio del oro se sustituyó por la pequeña y mediana minería, que usa maquinaria (bombas de succión) para mover tierras y succionar el agua del río con el fin de lavar el material a presión [2].

## **1.2 La MAPE en Madre de Dios**

La minería de oro es la actividad con mayor representación económica en Madre de Dios y se estima que la mitad de la población se encuentra involucrada en la minería de oro o sus servicios asociados [44].

La MAPE produce cambios en las características físicas y ecológicas de los ecosistemas de la región. La remoción del material del fondo de los ríos y el cambio del uso de suelo aceleran los procesos de erosión, modifican la dinámica fluvial, e incrementan la concentración de sedimentos suspendidos en los ríos [45], [46]. Asimismo, el incremento en los sedimentos suspendidos impacta a la biodiversidad [1], [47] y la deforestación fomenta la fragmentación y pérdida de hábitat [44]. Del mismo modo, la MAPE contamina los compartimentos medioambientales (aire, suelo y agua) con mercurio [1], [44]. Entre todos los impactos sociales y medioambientales que genera la MAPE, el uso de mercurio es el que genera mayor preocupación en los ámbitos de la salud humana y ambiental.

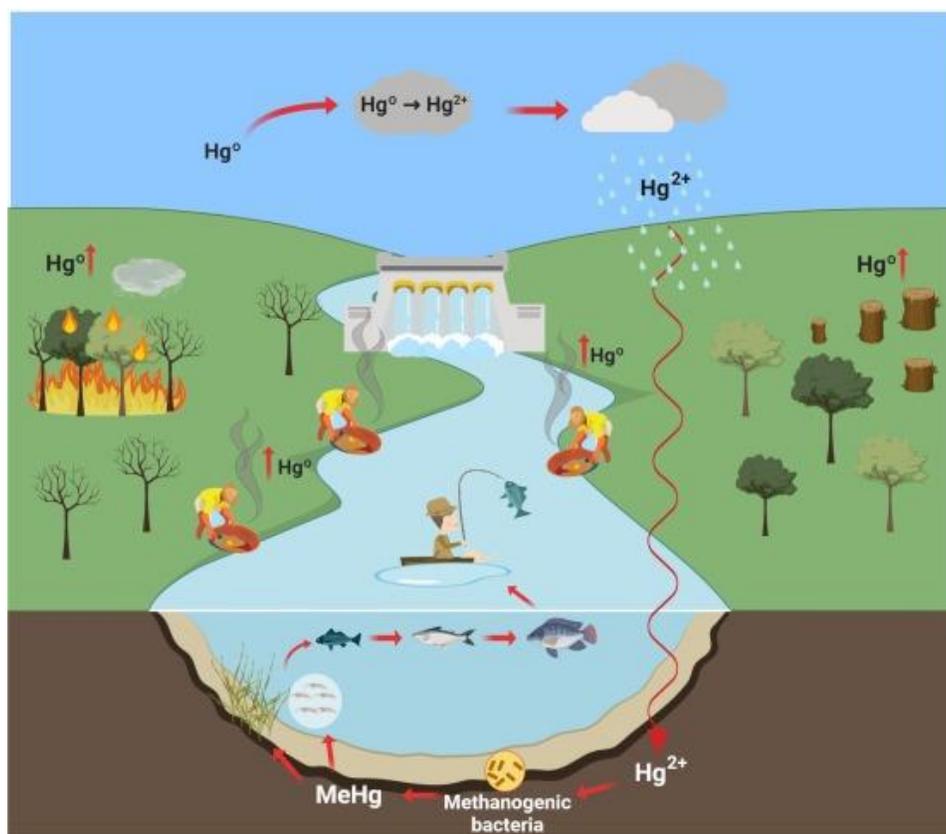
Debido a su alta degradación y contaminación ambiental, la región de Madre de Dios es considerada como el sector de la Amazonía más degradado por la extracción del oro [2]. Los impactos de la MAPE en Madre de Dios se han extendido inclusive a áreas naturales protegidas y sus respectivas zonas de amortiguamiento [4], [48], [49], [50]. Entre 1984 y 2017, la MAPE provocó la deforestación de casi cien mil hectáreas de bosque en el sudeste de la Amazonía peruana [4]. En el año 2019, el gobierno peruano, con el fin de erradicar la minería ilegal en Madre de Dios, logró recuperar y reforestar 759 hectáreas impactadas por la MAPE, de las cuales 118 hectáreas correspondían a pozas mineras [51].

### 1.3 El mercurio

El mercurio es un metal pesado que puede encontrarse en el medio ambiente en tres formas; como mercurio metálico o elemental, mercurio inorgánico, o mercurio orgánico [40], [52]. El mercurio puede ingresar a un organismo vivo por ingestión, inhalación o contacto con la piel (dermatológico) [53]. El mercurio es tóxico en casi todas sus formas. Sin embargo, el metilmercurio (MeHg), una de las formas orgánicas del mercurio, es neurotóxico y a exposiciones crónicas puede ser letal. En concentraciones menos alarmantes puede causar efectos fisiológicos, reproductivos o de comportamiento en la fauna silvestre [21]; estos, a largo plazo, causan repercusiones preocupantes en la supervivencia de los organismos [54].

#### 1.3.1 Ciclo biogeoquímico del mercurio

El mercurio tiene un comportamiento especialmente complejo en el medio ambiente. A la fecha, aún se desconocen muchos aspectos sobre el ciclo biogeoquímico del mercurio y la aplicabilidad del conocimiento establecido varía dependiendo del contexto. El mercurio puede ser emitido a la atmósfera y liberado a ecosistemas terrestres o acuáticos [55], tanto por fuentes antropogénicas como naturales. En la atmósfera, el mercurio se encuentra mayormente en la forma química de mercurio elemental ( $\text{Hg}(0)$ ) [55] y tiene un tiempo de residencia de aproximadamente 8 meses [7]. Eventualmente, el mercurio atmosférico se oxida a su forma iónica y más reactiva,  $\text{Hg}(\text{II})$ , que puede depositarse en la superficie terrestre o en cuerpos de agua (**Figura 1.1**) [42]. Una vez que ingresa a un cuerpo de agua, el  $\text{Hg}(\text{II})$  puede sufrir continuas reacciones de reducción y oxidación, o depositarse y acumularse en los sedimentos de fondo [21]. Sin embargo, si condiciones apropiadas están presentes, una fracción también puede metilarse y formar el MeHg, que puede ser absorbido y acumulado por los organismos vivos [21]. Si bien el MeHg se produce principalmente a partir de la metilación de mercurio inorgánico, el  $\text{Hg}(0)$  también puede ser metilado [11].



**Figura 1.1.** Esquema de la dinámica y ciclo del mercurio en la Amazonía, obtenido de [42].

### 1.3.2 Metilación del mercurio

La metilación del mercurio depende de diversos factores como la cantidad de mercurio inorgánico disponible en el entorno, la actividad bacteriana, el oxígeno disuelto, la materia orgánica en disolución, el pH, la concentración de sulfuros y hierro, y la temperatura [10], [11], [12], [56]. Este proceso ocurre usualmente en la zona anóxica de los cuerpos de agua, por debajo del hipolimnion (la capa más densa e inferior en un lago estratificado) [11], y se da principalmente por el accionar de las bacterias reductoras del sulfato, reductoras de hierro, metanógenas [10] y fermentadoras [21], [27], [57]. Sin embargo, en un menor porcentaje, también existe la metilación abiótica o en zonas oxigenadas [27]. La sección superficial de los sedimentos de fondo, donde ocurre la interfase con el agua, es propicia para el proceso de metilación debido a la ausencia de oxígeno, la presencia de nutrientes y la

abundancia de microorganismos metiladores [27]. Además, existen otros sitios de metilación, como las raíces de plantas acuáticas, sedimentos u otras partículas de material suspendidas en la columna de agua, biopelículas y perifiton<sup>1</sup> [11]. Estudios sugieren que los humedales también son puntos críticos para la metilación del mercurio [11], [27], [28], [58].

La producción de MeHg en lagos y los sitios preferentes de metilación dependen de los aspectos biológicos, físicos y químicos específicos del ecosistema [11]. Un aspecto que ocasiona variaciones en los mecanismos predominantes de metilación en un cuerpo de agua es la estratificación. En lagos estratificados, la cuenca y atmósfera sirven como fuente de Hg(II) biodisponible, el MeHg se forma en el sedimento por temporadas y se transporta hacia la columna de agua [11]. La profundidad del gradiente de oxígeno (donde hay una mayor variación en las concentraciones de oxígeno disuelto) define si la metilación se da mayoritariamente en el sedimento o en la columna de agua. En lagos no estratificados, la cuenca puede ser fuente de MeHg, Hg(II) y materia orgánica. En este caso, la metilación se da preferentemente en los sedimentos de la orilla o en el perifiton [11]. Asimismo, existe una relación entre las propiedades fisicoquímicas de los cuerpos de agua y la metilación y bioacumulación del mercurio [11]. Por ejemplo, la disminución del pH puede incrementar la metilación del mercurio [12], [59]. Asimismo, se ha reportado que la acidez y las características del agua en la Amazonía (aguas negras, claras o blancas) son factores importantes para evaluar la contaminación por mercurio en los sedimentos y su bioacumulación en la cadena trófica acuática [59]. Por otro lado, la antigüedad de los cuerpos de agua puede guardar relación con las concentraciones de mercurio inorgánico en los sedimentos y su metilación [60].

### **1.3.3 Factores que controlan la bioacumulación y biomagnificación de metilmercurio**

El MeHg en los organismos vivos se elimina lentamente y tiende a bioacumularse en los tejidos de los organismos expuestos y biomagnificarse en niveles tróficos más altos [1],

---

<sup>1</sup> El perifiton es un microhábitat formado por comunidades de algas, hongos, bacterias, micro invertebrados, entre otros. Se encuentra aislado del agua y puede estar asociado a las raíces de las plantas [11], [27].

[13], [15]. La bioacumulación hace referencia al incremento en la concentración de una sustancia retenida por el organismo a través del tiempo [1], [13], [15]. La biomagnificación es un proceso en el que las especies que se alimentan de organismos contaminados acumulan concentraciones superiores a las de sus presas, ocasionando que los niveles de mercurio se incrementen a lo largo de la red alimenticia [1], [26], [61] La bioacumulación del mercurio en los organismos vivos depende de factores ecológicos como los hábitos alimenticios, patrones de migración, la producción primaria del sistema, y la longitud de la red trófica; así como de factores fisiológicos como la edad (etapa en el ciclo de vida) y tamaño de las especies, el sexo, la genética, y las características gastrointestinales [21], [22], [26], [62].

#### **1.4 Bioacumulación de mercurio en zooplancton y macroinvertebrados acuáticos**

Las rutas de bioacumulación y biomagnificación del mercurio en los organismos vivos son complejas. La mayoría de los estudios se han centrado en la toxicidad y bioacumulación de Hg en los peces; sin embargo, la incorporación de mercurio (Hg) en la base de la red trófica es crucial para entender su transferencia a niveles tróficos superiores [63].

El estudio de Cabana et al. [26] analizó las concentraciones de mercurio total (THg) en peces de lagos no contaminados en Ontario, Canadá, y encontró una relación positiva entre la longitud y estructura de la red trófica, y la bioacumulación y biomagnificación de mercurio en peces pelágicos<sup>2</sup>, como la trucha. Por ejemplo, en lagos donde no existían fuentes adicionales de alimento como crustáceos y peces pelágicos de forraje, el zooplancton y los macroinvertebrados bentónicos representaban la única fuente de alimento para la trucha, y la biomagnificación del THg fue menor [26].

##### **1.4.1 Zooplancton**

El zooplancton es el componente animal del plancton, está conformado por rotíferos y micro crustáceos (cladóceros y copépodos) y usualmente se alimenta de algas y partículas

---

<sup>2</sup> Se encuentran en la columna de agua, alejados del fondo o de las orillas.

de materia orgánica. Estos organismos son un eslabón de gran importancia en la red trófica, ya que conectan a los productores primarios (fitoplancton) con los consumidores. Por lo tanto, los cambios en la comunidad del zooplancton pueden impactar en todo el ecosistema [29]. Además, el zooplancton es abundante a lo largo de distintos ecosistemas de agua dulce y se considera un buen bioindicador de la calidad del agua, ya que tiene una alta sensibilidad a las alteraciones en su ambiente [29], [33]. El mercurio puede ingresar al zooplancton por adsorción directa del agua, absorción, ingesta de alimento, o transferencia parental [63], [64], [65]. Sin embargo, el MeHg presente en los alimentos es la principal fuente de exposición al mercurio para el zooplancton en lagos [34]. El estudio de los niveles de mercurio en zooplancton es de gran importancia, considerando que sus concentraciones de MeHg son la fuente de ingreso de MeHg hacia los niveles superiores de la red trófica [34].

Uno de los primeros estudios sobre bioacumulación de Hg en organismos planctónicos [66] comparó las concentraciones de THg y MeHg en agua, fitoplancton, zooplancton (Cladocera) y peces, para concluir que tanto el posicionamiento en la red trófica como la acidificación del medio (reducción de pH), afectan el ratio MeHg/THg. En contraste a las fracciones inorgánicas del Hg, el MeHg se bioacumula a través de los niveles tróficos, por lo que en un cuerpo de agua con pH ácido-neutro (p. ej. 6.1) el MeHg representó menos del 30% de THg en zooplancton, pero más del 90% en tejido de peces. Del mismo modo, la acidificación del cuerpo de agua aumentó las fracciones mencionadas de MeHg para cada nivel trófico [66]. Estudios más recientes reportaron las concentraciones de THg y MeHg en zooplancton (fracciones de tamaño  $\geq 450$  y  $\geq 850$   $\mu\text{m}$ ) durante 6 años en el lago Maggionre (norte de Italia), caracterizado por una contaminación histórica de mercurio. El THg en las muestras varió entre 44-213  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y el MeHg entre 15-93  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , representando un ratio MeHg/THg de 24 a 61% [67].

El tamaño del zooplancton y su ubicación en la red trófica es de importancia para comparar los resultados de distintos grupos o especies. Kainz & Mazzuder [34] investigaron las concentraciones de MeHg en detritos (10-64  $\mu\text{m}$ ) y zooplancton de diferentes tamaños: micro (100-200  $\mu\text{m}$ ), meso (200-500  $\mu\text{m}$ ) y macro ( $>500$   $\mu\text{m}$ ). Se encontró una relación positiva entre el tamaño de los individuos y el MeHg acumulado en los mismos [34]. Además,

el consumo de macro zooplancton, organismos preferidos de los peces planctívoros, aporta menos nutrientes y es más eficiente en la transferencia de MeHg a niveles tróficos superiores en comparación a zooplancton de menor tamaño [34]. En contraste con [66], los autores no encontraron una relación entre la bioacumulación en zooplancton y la acidez del agua, ni con otras variables de campo como la temperatura y el oxígeno disuelto. De forma opuesta a conocimiento convencional, existen ensayos de laboratorio donde se ha reportado una mayor acumulación de mercurio en zooplancton joven en comparación a zooplancton adulto [68]. Del mismo modo, Long et al. (2018), identificaron que la concentración de THg en el zooplancton de un reservorio contaminado fue superior en los organismos de menor tamaño, mientras que la concentración de MeHg aumentó junto con el tamaño corporal [33].

En la Amazonía (principalmente en Brasil), estudios han estimado concentraciones de THg en zooplancton desde el 2008 en ríos, lagos y reservorios, reportando valores en un rango de 10 a 388 ng/g [65]. Lino et al. (2019) identificaron que el porcentaje de MeHg en plancton (fitoplancton y zooplancton) incrementó en lagos en contraste con el canal principal del río Tapajos [69]. Además, encontraron que las concentraciones de THg y MeHg en zooplancton fueron superiores a las del fitoplancton, aunque otros estudios presentan tendencias opuestas o inconclusas [65], [69], [70]. Por otro lado, Kasper et al. (2018), hallaron un ratio MeHg/THg en el rango de 51 a 67% [70], aproximadamente el doble en comparación a lo reportado por [66]. A la fecha no se ha hallado evidencia de estimaciones para la concentración de mercurio en zooplancton en la región de Madre de Dios, o en pozas mineras abandonadas de otras regiones amazónicas. Asimismo, a excepción del estudio de [67], la literatura revisada, tanto a nivel amazónico como internacional, no se enfoca en el potencial del zooplancton como organismo bioindicador. Por el contrario, la mayoría de los autores hace uso de las concentraciones de mercurio en zooplancton para interpretar y justificar la bioacumulación y biomagnificación del mercurio en niveles tróficos superiores.

#### **1.4.2 Macroinvertebrados**

Los macroinvertebrados acuáticos son organismos que habitan el fondo (bentónicos) o la superficie de un cuerpo de agua, ya sea léntico (p. ej. lagos) o lótico (p. ej. ríos). Pueden

encontrarse en las orillas vegetadas, en el sedimento, hojas, raíces y vegetación sumergida. Los macroinvertebrados abarcan distintos grupos taxonómicos como insectos acuáticos (p. ej. larvas de libélulas), crustáceos (p. ej. camarones), gasterópodos (p. ej. caracoles), hirudíneos (p. ej. sanguijuelas), entre otros [30]. Tienen gran diversidad de especies, amplia distribución geográfica (inclusive en sitios donde no habitan peces), son abundantes, y pueden ser colectados e identificados de forma relativamente sencilla y a bajo costo. Además, los macroinvertebrados son muchas veces animales sedentarios, lo que incrementa su relacionamiento a los sitios donde son muestreados y que pueden estar contaminados [30], [31].

Existe una brecha de conocimiento sobre la bioacumulación de mercurio en niveles tróficos inferiores como es el caso de macroinvertebrados acuáticos. Estos organismos, al ser fuente de alimentación para peces o aves pueden facilitar la transferencia de MeHg desde el ecosistema acuático al terrestre y pueden ayudar a identificar rutas importantes de biomagnificación en los ecosistemas [28]. Además, el uso de macroinvertebrados como bioindicadores ofrece la ventaja de reducir variables de confusión (*confounders*). Esto es especialmente relevante al comparar resultados obtenidos de peces de un mismo o de diferentes cuerpos de agua, donde pueden existir diferencias específicas de su alimentación, longitud de la red trófica, tasa de crecimiento, tamaño, edad, migración y presión pesquera [71]. Asimismo, se ha incluso indicado que el uso de insectos acuáticos, como las ninfas de libélula, en lugar de peces, permite una detección más eficiente de las diferencias de las concentraciones de THg entre diferentes lagos [31].

Los insectos acuáticos depredadores podrían ser la mejor opción para utilizar el mercurio total (THg) como sustituto del metilmercurio (MeHg). Estudios de bioacumulación de mercurio en macroinvertebrados en Estados Unidos y Canadá, indican que los depredadores presentan la mayor concentración de MeHg y el mayor ratio MeHg/THg en comparación con los invertebrados de otros hábitos alimenticios [28], [35]. Riva Murray et al. [71] estudió las concentraciones de MeHg en insectos acuáticos y encontró que el ratio MeHg/THg fue de 94% para depredadores (p. ej. Odonata) y que no presentó gran variación entre los grupos taxonómicos. Por el contrario, en consumidores primarios

(p. ej. Ephemeroptera) que se usualmente se alimentan de algas o materia orgánica en descomposición, el ratio fue de 35-52% y varió significativamente entre grupos taxonómicos, localidades y estaciones [71]. Sin embargo, las características ecológicas específicas de algunos consumidores primarios podrían tener una mayor influencia que su posición en la red trófica y terminar acumulando mayores niveles de MeHg [72].

El Proyecto Dragonfly, una iniciativa del servicio geológico de los Estados Unidos (USGS por sus siglas en inglés) ha monitoreado las concentraciones de mercurio (THg) en larvas de libélula (Orden Odonata, Suborden Anisoptera) en parques nacionales de Estados Unidos a través de una extensa red de ciencia ciudadana. Con base en 450 sitios de estudio, se reportó que, a pesar de pertenecer a diferentes familias, los macroinvertebrados de este grupo taxonómico permiten comparar las concentraciones de THg de forma uniforme [58]. Además, se encontró que las concentraciones de THg en las larvas de libélula estaban correlacionadas positivamente con las concentraciones de THg tanto en peces como en anfibios de las mismas ubicaciones, sugiriendo que este grupo taxonómico funciona como un efectivo indicador de la biodisponibilidad de Hg en la red trófica acuática. Por otro lado, los macroinvertebrados del suborden Heteroptera, especialmente los carnívoros (p. ej. familia Belostomatidae y Notonectidae) también pueden presentar una buena oportunidad como bioindicadores. Por otro lado, se reporta que estos organismos son abundantes y usualmente presentan concentraciones de MeHg superiores a los demás grupos taxonómicos [73], aunque algunos autores reportan niveles similares a los de las larvas de libélula [35].

Los estudios de bioacumulación de mercurio en macroinvertebrados en la Amazonía no son abundantes. Molina et al. [74] analizaron la biomagnificación de THg y MeHg en distintas redes tróficas de invertebrados en un lago en la Amazonía boliviana, desde la fuente inicial en la base de la red (p. ej. seston, materia orgánica del sedimento del fondo, perifiton y plantas acuáticas). Se evidenció la biomagnificación del MeHg en cada red trófica y se identificó al perifiton como la fuente alimenticia con el porcentaje más alto de MeHg. El estudio concluyó que la variación en la acumulación de mercurio entre la época seca y húmeda es causada mayormente por el aporte de mercurio durante las inundaciones [74]. Asimismo, en el río Madeira (río afectado por la MAPE en la Amazonía brasileña), Vieira et

al. [59] encontraron que el factor de acumulación del MeHg desde los sedimentos hacia los organismos vivos fue mayor en macroinvertebrados, seguido por zooplancton y fitoplancton. Además, las concentraciones de THg y MeHg fueron más altas en sitios de aguas negras, seguidos por aguas claras y aguas blancas<sup>3</sup> [59]. A su vez, Dominique et al. [75] reportó concentraciones de MeHg y THg en macroinvertebrados en Guayana Francesa (cuenca amazónica). Cabe recalcar, que a la fecha el estudio de Díaz (2021) es el único que reporta concentraciones de mercurio en macroinvertebrados en la región de Madre de Dios [17].

### **1.4.3 Relación entre el hábitat acuático y la bioacumulación de mercurio en zooplancton y macroinvertebrados**

El hábitat de los organismos vivos acuáticos, ya sea el fondo, las orillas, o la columna de agua, puede favorecer la bioacumulación de sustancias tóxicas. Debido a que el sedimento de fondo suele ser el principal sitio de metilación de mercurio en cuerpos de agua [27], los macroinvertebrados que habitan el fondo (bentónico) pueden contener mayores concentraciones de mercurio total (THg) y metilmercurio (MeHg) en comparación al zooplancton que habita la columna de agua (pelágico). Sin embargo, los estudios sobre la concentración de Hg en organismos bentónicos y pelágicos no ofrecen consenso. Karimi et al. [23] evaluaron las concentraciones de THg en dos fuentes de alimento predominantes de peces lacustres: macroinvertebrados que habitan en el sedimento de las orillas y zooplancton. Los resultados mostraron que el zooplancton, especialmente los cladóceros, presentaron una mayor concentración de THg, posiblemente debido a que filtran el agua de forma más rápida y tienen un metabolismo más acelerado en comparación con los invertebrados bentónicos. A partir de los resultados, se estima que los peces que consumen zooplancton podrían tener una mayor concentración de Hg, debido a que su dieta es alta en este y baja en contenido calórico. Por el contrario, Arcagni et al. [76], mediante estudios en Patagonia, que incluían también mediciones de MeHg, indican lo opuesto; sus resultados muestran una mayor concentración, tanto de THg y MeHg, en peces cuando incrementa el porcentaje de organismos bentónicos en su dieta.

---

<sup>3</sup> Las aguas negras, claras y blancas se pueden diferenciar por su pH, la carga de sedimentos suspendidos y el nivel de materia orgánica [59]

Asimismo, Kahilainen et al. [24] estudiaron el cambio estacional en la alimentación del pez *Salvelinus alpinus* (L.), también conocido como trucha alpina, y su relación con la acumulación de THg en tejidos de hígado y músculo en un lago oligotrófico en Noruega. Los autores encontraron que la concentración de THg en el hígado aumentó notoriamente junto con la proporción de zooplancton como fuente de alimento, aunque las concentraciones de THg en músculo no mostraron la misma tendencia. Del mismo modo, no se identificó una diferencia notoria en la concentración de THg en las fuentes de alimento de *S. alpinus* (zooplancton y macroinvertebrados de fondo y litoral). Los macroinvertebrados de fondo fueron la fuente de alimentación con valores máximos de concentración de THg; sin embargo, un estudio previo en un lago húmico y oligotrófico de la misma región [25], obtuvo resultados opuestos. Lindholm et al. [25] determinaron que la concentración de MeHg (que tiene el potencial biomagnificador) en los macroinvertebrados del litoral fue máxima, seguida por la del zooplancton y finalmente por la de los macroinvertebrados de fondo.

En síntesis, se presume que la concentración de mercurio en los organismos está asociada a su hábitat, sus hábitos alimenticios y a la ubicación de los sitios de metilación del mercurio dentro del cuerpo de agua. Sin embargo, la relación no queda clara aún y las características y dinámica de cada cuerpo de agua son factores para tomar en consideración. Además, el fraccionamiento del mercurio (división en sus diferentes formas químicas) es un factor clave, teniendo en cuenta que muchas veces al medir THg se desconoce la proporción orgánica/inorgánica. Cabe recalcar que la mayoría de los estudios realizados se enfocan en sistemas naturales con climas templados, mientras que las pozas mineras son cuerpos de origen antrópico con climas tropicales.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

Este capítulo describe el procedimiento utilizado para el diseño, implementación y validación de un protocolo de trabajo rápido, fiable, consistente y de bajo costo para evaluar la bioacumulación de mercurio en pozas abandonadas por MAPE. El procedimiento presentado sigue las recomendaciones del documento “*Guidance for Conducting a Rapid Environmental Mercury Assessment of Artisanal and Small Scale Gold Mining Sites in the Context of National Action Plans*” de las Naciones Unidas [32].

El trabajo se dividió en 5 etapas, que se describen brevemente a continuación.

2.1-Planificación del trabajo: Recopilación y revisión de información relevante sobre el tema de investigación, definir los objetivos del estudio de monitoreo, delimitar el área de estudio y asegurar los recursos necesarios.

2.2-Diseño del trabajo de campo y laboratorio: Diseño detallado del protocolo para la colecta, preparación y análisis de muestras de zooplancton y macroinvertebrados acuáticos, ajustándose a los objetivos del estudio, así como a los recursos disponibles (etapa 2.1).

2.3-Ejecución de proyecto piloto: Puesta en práctica del protocolo de colecta y análisis de muestras a pequeña escala en el área de estudio para evaluar la viabilidad y diseño del trabajo.

2.4-Evaluación del protocolo diseñado: Análisis e interpretación de los resultados obtenidos del proyecto piloto (etapa 2.3) según los objetivos de investigación, para verificar la eficacia y eficiencia del protocolo de trabajo propuesto.

2.5-Priorización de bioindicadores: Desarrollo de un modelo numérico sencillo para identificar los grupos de organismos acuáticos prioritarios para monitorear la bioacumulación de mercurio en el área de estudio. El modelo se desarrolló de acuerdo a los resultados obtenidos en el proyecto piloto (etapa 2.3) y se generó debido a la necesidad de optimizar el protocolo de trabajo propuesto (etapa 2.4).

## **2.1 Planificación del trabajo**

### **2.1.1 Recopilación de información y definición de objetivos**

La primera fase de la planificación del presente trabajo consistió en la recopilación y revisión de reportes, artículos científicos revisados por pares, documentos de tesis y notas periodísticas. Inicialmente, los documentos revisados se enfocaron en la problemática de la MAPE en Madre de Dios y la contaminación por mercurio, así como en la bioacumulación de este elemento en distintos niveles tróficos acuáticos. De esta manera, se evidenció que la mayoría de las investigaciones, especialmente en la región amazónica, utilizaban a los peces como bioindicadores. En adelante, la revisión de literatura se enfocó en protocolos de monitoreo y documentos que reportan la colecta y el análisis de mercurio en otros niveles tróficos, como zooplancton y macroinvertebrados acuáticos.

Con base en la revisión de literatura y considerando las limitaciones del uso de peces como bioindicadores, se identificó la oportunidad de formular un protocolo de colecta, preparación y análisis de muestras que permita monitorear las concentraciones de mercurio en niveles inferiores de la red trófica. Los objetivos del trabajo de investigación se formularon considerando los requisitos que el protocolo necesitaba para ajustarse a los recursos y necesidades de la región.

### **2.1.2 Identificación del área de estudio y sitios de colecta**

Este trabajo se realizó en la provincia de Tambopata del departamento de Madre de Dios, Perú, de acuerdo a la literatura revisada y a los objetivos de investigación (sección 2.1.1). El estudio consideró ecosistemas acuáticos afectados por MAPE (pozas mineras) y ecosistemas sin un impacto directo de MAPE (lagos sin minería, de ahora en adelante denominados lagos control). Los cuerpos de agua de estudio fueron seleccionados por su cercanía a la ciudad de Puerto Maldonado, capital de Madre de Dios, su fácil acceso, alta seguridad y gran información disponible.

### 2.1.3 Disponibilidad de recursos

**Recursos institucionales:** Este proyecto de investigación se llevó a cabo dentro del marco del acuerdo de cooperación entre el Centro de Investigación y Tecnología del Agua (CITA) de la Universidad de Ingeniería y Tecnología (UTEC) y el Centro de Innovación Científica Amazónica (CINCIA). CINCIA es una organización civil sin fines de lucro, con sede en Puerto Maldonado, Madre de Dios, y amplia experiencia de investigación en los efectos de la MAPE en Madre de Dios. Específicamente, el proyecto se desarrolló en cooperación con el Programa de Mercurio de CINCIA, enfocado en investigar el flujo del mercurio en la región y sus impactos en el bienestar humano y ecosistémico. Cabe destacar que la colaboración activa de CINCIA, como actor local en el área de estudio, fue un factor determinante para la ejecución del proyecto de investigación.

**Recursos económicos y materiales:** El proyecto aseguró el acceso a recursos económicos a través de cuatro financiamientos: los fondos 1) “Beca Provost Research Scholarship 2022-1” y 2) “Concurso de Tesis pregrado - Modalidad Tesis I” de la Universidad de Ingeniería y Tecnología (UTEC); 3) la beca TReeS 2022 de la *Tambopata Reserve Society*; y 4) el financiamiento de CINCIA para todo el trabajo de análisis de muestras. Los recursos materiales, tanto para el trabajo en campo como en laboratorio (**Anexo 1**), fueron cubiertos parcialmente por el Centro de Investigación y Tecnología del Agua (CITA) de UTEC y CINCIA.

**Recursos humanos:** Los recursos humanos necesarios para el desarrollo del presente proyecto de investigación incluyeron asesores científicos, asistentes de campo, y asistentes de laboratorio. Antes de la ejecución del proyecto piloto, los profesionales de CINCIA proporcionaron recomendaciones sobre los posibles sitios de muestreo y sugerencias sobre los materiales a utilizar en el proyecto piloto. Durante el trabajo de campo, se contó con el apoyo de dos asistentes sugeridos por CINCIA y seleccionados por su experiencia previa en otros trabajos de campo en la misma área, así como con el soporte temporal de una bióloga con experiencia en la identificación de macroinvertebrados de la región. Durante el análisis de muestras en el laboratorio, se contó con la asesoría y acompañamiento de las profesionales

del Programa de Mercurio de CINCIA, quienes tienen conocimiento sobre el protocolo de uso de los equipos (limpieza, calibración y operación).

## **2.2 Diseño del trabajo de campo y laboratorio**

Este proceso se desarrolló con el apoyo de investigadores que trabajan en la temática de mercurio en sistemas acuáticos y fauna silvestre en la región de Madre de Dios.

### **2.2.1 Diseño del protocolo de colecta, identificación y preparación de muestras**

#### **Zooplankton**

El protocolo de colecta, identificación y preparación de muestras de zooplankton fue diseñado tomando como referencia el “Protocolo de Métodos H-001: Muestreo Acuático en Pozas Abandonadas por la Minería - Plancton” de CINCIA [77], así como algunas publicaciones científicas [23], [29] y los lineamientos de colecta del Ministerio del Ambiente del Perú [78].

#### *Colecta*

El volumen de agua estipulado para la colecta de zooplankton en el protocolo mencionado [77] es de 50 L, al tratarse de un muestreo biológico. Al no contar con antecedentes que indiquen el volumen de agua a filtrar para análisis de mercurio en zooplankton de cuerpos de agua amazónicos, se decidió cuadruplicar el volumen estipulado en [77] (200 L) con el objetivo de disponer de una cantidad superior de zooplankton que permita realizar el análisis de mercurio. Por otro lado, se utilizó la red de nylon de 45  $\mu\text{m}$  por ser la más utilizada en estudios cuantitativos y cualitativos de zooplankton [29].

#### *Identificación y preparación*

Se clasificaron las muestras de zooplankton en dos fracciones: 60-500  $\mu\text{m}$  y >500  $\mu\text{m}$  con el objetivo de observar posibles diferencias en la concentración de THg asociadas al tamaño, tal como evidenciaron Kainz & Mazzuder [34] (sección 1.4.1). Además, debido a la

alta presencia de partículas en suspensión en los cuerpos de agua, se incluyó en el protocolo una fase de limpieza de muestras para concentrar el contenido de zooplancton. Este proceso se planificó para ser realizado en el laboratorio.

## **Macroinvertebrados**

El protocolo de colecta, identificación y preparación de muestras de macroinvertebrados se diseñó según la metodología de distintas publicaciones científicas [17], [24], [29], [59], [71], [79] así como los lineamientos de colecta del Ministerio del Ambiente del Perú [78],

### *Colecta*

El muestreo de macroinvertebrados se enfocó en las orillas de los cuerpos de agua utilizando una red tipo D-net. Las orillas de los cuerpos de agua representan una ubicación propicia para la colecta de macroinvertebrados debido a la presencia de vegetación, troncos y raíces que ofrecen una variedad de hábitats para estos organismos. No se muestreó las secciones profundas de los cuerpos de agua por ser de difícil acceso y requerir un tiempo mayor y materiales adicionales, incumpliendo con los objetivos de este estudio. Se utilizó una torre de tres tamices para segregarse la muestra colectada y facilitar la visualización y recuperación de los macroinvertebrados. Los macroinvertebrados se recuperaron en campo para aprovechar su movilidad (se mueven más y es más fácil verlos) y reducir el peso del material a transportar al laboratorio.

### *Identificación y preparación*

. La identificación de muestras de macroinvertebrados y segregación en base a sus grupos taxonómicos se planificó para la etapa de campo, con el objetivo de evitar que los grupos depredadores se alimenten de otros organismos presentes en las muestras. Durante la preparación de las muestras de macroinvertebrados, se dividieron ciertas muestras por tener individuos con una longitud promedio diferente, esto con la intención de examinar la relación entre la concentración de mercurio y el tamaño de los individuos, dos variables que suelen ser proporcionales (sección 1.3.3).

**Nota:** Se evitó el uso de preservantes como formol o alcohol para la conservación de las muestras de zooplancton y macroinvertebrados, ya que el ingreso de disolventes orgánicos al liofilizador del Laboratorio de Mercurio y Química Ambiental (LAMQA), podía generar deterioro al equipo. Las muestras de zooplancton se transportaron en cadena de frío al laboratorio y se mantuvieron refrigeradas hasta su filtrado, mientras que las muestras de macroinvertebrados se transportaron a temperatura ambiente y pasaron por un periodo de depuración de hasta 24 horas. Para mayor detalle ver sección 2.3.2. y 2.3.3.2.

### **Datos ambientales de apoyo**

Los datos ambientales de apoyo pueden facilitar la justificación de los resultados obtenidos en el proyecto. Estudios evidencian la relación entre las propiedades fisicoquímicas de los cuerpos de agua y la bioacumulación del mercurio en la red trófica acuática (sección 1.3.2). Asimismo, se recomienda que los monitoreos de mercurio en el componente biológico acuático reporten el área de los cuerpos de agua, así como variables de soporte asociadas a la calidad del agua, como pH, oxígeno disuelto, fósforo, y otros aniones y cationes [28]. Del mismo modo, se sugiere que la edad de los cuerpos de agua puede influir en las concentraciones de mercurio inorgánico en los sedimentos y su metilación [60]. Por otro lado, en el componente biótico, la concentración de mercurio suele ser proporcional al tamaño de los individuos y a su etapa en el ciclo de vida (sección 1.3.3).

Considerando los recursos y facilidades del proyecto se recopiló información de parámetros fisicoquímicos (temperatura, pH, oxígeno disuelto, conductividad y transparencia) y características de los cuerpos de agua (área y antigüedad). Por otro lado, la etapa del ciclo de vida de los organismos se consideró un parámetro difícil de estudiar, y se recopiló información sobre el tamaño de los macroinvertebrados colectados (longitud en cm).

#### **2.2.2 Diseño del protocolo de análisis de mercurio**

Todas las muestras de zooplancton y macroinvertebrados fueron analizadas en el Laboratorio de Mercurio y Química Ambiental (LAMQA), ubicado en el Centro de Investigación Roger Beuzeville Zumaeta del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) en Puerto Maldonado. El diseño del protocolo de análisis de mercurio para

muestras de zooplancton y macroinvertebrados tomó como base el Método 7473 de la U.S. EPA: Mercurio en sólidos y soluciones por descomposición térmica, amalgamación y espectrofotometría de absorción atómica [80], y dos protocolos operaciones estándar de CINCIA: el protocolo de métodos M-002- Guía operacional del equipo Milestone DMA-80 Direct Mercury Analyzer [81] y el protocolo de métodos M-007- Análisis de mercurio total en músculo de pescado [82].

Los objetivos de este proyecto de investigación abarcan el diseño de un protocolo rápido y accesible para la colecta de muestras y análisis de mercurio en zooplancton y macroinvertebrados en zonas remotas afectadas por la MAPE. Siendo el análisis de MeHg más costoso y la colecta de las muestras más compleja, se trabajó con las concentraciones de mercurio total. Asimismo, la concentración de mercurio total es un indicador comúnmente utilizado para conocer la concentración de metilmercurio en organismos vivos [35]

**Nota:** Todo el material considerado para la colecta, identificación, preparación y análisis de muestras fue de plástico o acero inoxidable. Se evitó el uso de materiales metálicos para eliminar posibles fuentes externas de mercurio (contaminación).

## **2.3 Ejecución del proyecto piloto**

### **2.3.1 Descripción del área de estudio y sitios de colecta**

El muestreo del zooplancton y los macroinvertebrados se realizó en mayo del 2022 (transición época húmeda/época seca) en cuatro cuerpos de agua de la región de Madre de Dios (**Figura 2.1** y **2.2**). En el inicio del proceso de selección de las pozas mineras se consideró incluir zonas con actividad minera reciente, como la Pampa y Huepetuhe. Sin embargo, el acceso a dichas áreas requiere gran preparación/coordinación logística, el tiempo y costo de transporte es alto debido a su lejanía de Puerto Maldonado y algunas actividades mineras todavía se encuentran activas, afectando la seguridad del equipo. Los lagos control que representarían la línea base del estudio se seleccionaron considerando criterios similares a los de las pozas mineras abandonadas. Adicionalmente, no se consideraron lagos prístinos,

ubicados en áreas naturales protegidas, ya que se debía tramitar un permiso de colecta, que en base a la experiencia de los expertos puede tomar hasta 6 meses.

Considerando la factibilidad temporal y monetaria del proyecto de investigación (sección 2.1.3), así como la orientación de los expertos en el tema, se muestrearon dos pozas mineras abandonadas por la MAPE en el distrito de Laberinto, concesión minera Paolita II: poza Inundación y poza Shansho (sitios impactados por la MAPE), y dos cuerpos de agua sin impacto minero ubicados en un radio menor a 20 km de la ciudad de Puerto Maldonado: lago Tupac Amaru y lago El Triunfo (sitios de control, sin impactos de la MAPE).



**Figura 2.1.** Área de estudio indicando los cuerpos de agua muestreados. Se señala la ubicación de Puerto Maldonado, ciudad capital de la región de Madre de Dios. \*Las áreas de deforestación por minería (área en color amarillo) fueron extraídas de Caballero Espejo et al. (2018) [4].

**Tabla 2.1.** Ubicación de los cuerpos de aguas muestreados.

Cuerpo de agua	Coordenada UTM	
	X	Y
Lago Tupac Amaru	464333	8608073
Lago El Triunfo	485941	8607363
Poza Shansho	433119	8598351
Poza Inundación	433023	8597825

### *Lago Tupac Amaru*

Tupac Amaru se encuentra ubicado a 16 km al occidente de la ciudad de Puerto Maldonado y a menos de 300 m del acceso por tierra. Es un lago originado a partir del corte natural de uno de los meandros del río Madre de Dios alrededor de 1970. Se encuentra aproximadamente a 200 m del río y sigue conectado con este, por lo que la dinámica fluvial y las actividades humanas que se llevan a cabo en el río tienen una influencia directa en él. Actualmente tiene principalmente usos turísticos [83].

### *Lago El Triunfo*

El Triunfo está ubicado aproximadamente a 6 km al oriente de Puerto Maldonado y a 330 m de la vía terrestre. Es un lago antropogénico creado a partir de una excavación para extraer material de construcción para pavimentar la Carretera Interoceánica Brasil-Perú (CINCIA, comunicación personal, 29 de marzo de 2022). Actualmente no tiene un uso determinado.

### *Pozas mineras: Shansho e Inundación*

Las pozas mineras Shansho e Inundación se ubican dentro de la concesión minera Paolita II, en el distrito de Laberinto, 53 km al occidente de Puerto Maldonado. Actualmente, la extracción del oro en la concesión se realiza mediante bombas de succión [84] y por métodos gravimétricos (mesas vibratoras) [85], es decir, el oro se extrae por diferencia de

densidad y no por amalgamación con mercurio. Sin embargo, se desconoce si en algún momento desde la generación de las pozas se ha utilizado mercurio. Durante el muestreo, no hubo minería activa o se identificó señal de actividad minera reciente en las pozas. Sin embargo, es habitual que los trabajos en las pozas se reactiven con el pasar de los años.



**Figura 2.2.** Cuerpos de agua muestreados. (A) Lago Tupac Amaru; (B) Lago el Triunfo; (C) Poza Inundación; (D) Poza Shansho.

## 2.3.2 Colecta de muestras y datos ambientales de apoyo

### 2.3.2.1 Colecta de zooplancton

Las muestras de zooplancton se colectaron filtrando 200 L de agua utilizando una red de plancton de 45  $\mu\text{m}$  de graduación previamente enjuagada con agua del sitio de muestreo (**Figura 2.3**). El muestreo se realizó manualmente en el centro del cuerpo de agua a una profundidad aproximada de 30 cm utilizando un balde plástico de 20 L de capacidad. La muestra de zooplancton filtrada retenida en el colector (botella de plástico de 200 ml) fue traspasada a un envase de plástico de 200 ml y conservada en cadena de frío (4 °C) hasta su arribo al laboratorio para posterior análisis. Estas muestras se denominaron muestra zoo<sub>campo</sub>.



**Figura 2.3.** Colecta de zooplancton mediante filtración de agua.

### 2.3.2.2 Colecta de macroinvertebrados

La representatividad del muestreo se garantizó abarcando diferentes microhábitats. Para ello, se colectaron muestras en cuatro puntos diferentes ubicados en las orillas, cada uno con características y vegetación diversas (**Figura 2.4**). Los macroinvertebrados fueron

colectados con una red de nylon D-net de 500  $\mu\text{m}$  de graduación adherida a un mango de aproximadamente 100 cm de longitud. La colecta se realizó mediante el barrido y la remoción leve del fondo y el borde de las orillas (ver **Figura 4.2** en **Anexo 4**). Adicionalmente, se colectaron hojas de la superficie de los cuerpos de agua y se rasparon ramas y troncos sumergidos. En cada orilla muestreada, después de cada barrido, el material recolectado en la red presentó un gran contenido de sustrato, por lo que se procedió a enjuagar la red en la poza para reducir la cantidad de materia orgánica y sedimento (ver **Figura 4.3** en **Anexo 4**). En cada cuerpo de agua de estudio, las muestras de las cuatro orillas se combinaron en un recipiente plástico para obtener una muestra compuesta.

**Nota:** Para asegurar la transferencia de todos los macroinvertebrados capturados en la red al recipiente de la muestra compuesta, se tuvo a disposición un envase plástico limpio para coleccionar manualmente agua in situ. Esto con el propósito de enjuagar la red y recuperar los especímenes de macroinvertebrados que podrían quedar atrapados en ella (ver **Figura 4.4** en **Anexo 4**).



**Figura 2.4.** Vista de los puntos de muestreo de macroinvertebrados en la poza minera Inundación.

### 2.3.2.3 Datos ambientales de apoyo

Como datos complementarios, se midieron los parámetros fisicoquímicos del agua de cada cuerpo de agua. Estos incluyeron la temperatura (T), la conductividad eléctrica (CE), el pH, el oxígeno disuelto (OD) y la transparencia. Las mediciones se hicieron *in-situ* utilizando un disco Secchi para la transparencia y un multiparámetro digital modelo YSI Pro Plus para los demás parámetros (**Figura 2.5**). Para efectuar las mediciones con el multiparámetro, se colectó agua en el centro del lago o poza a una profundidad aproximada de 30 cm utilizando un balde de plástico limpio y previamente enjuagado con el agua del cuerpo de agua. Para que la medición de los parámetros fisicoquímicos del agua sea representativa del estado usual del ecosistema es preferible realizar la toma de datos antes de la colecta de muestras biológicas o utilizar agua de una zona cercana no alterada por la colecta.



**Figura 2.5.** Toma de datos ambientales de apoyo. Disco Secchi (izquierda) y multiparámetro (derecha).

El área y año de creación de los cuerpos de agua también se consideraron datos complementarios para el análisis de los resultados. El área de los cuerpos de agua se calculó a través de la plataforma Qgis (**Anexo 2**). El año de creación se determinó a través de la plataforma Google Earth Engine, comparando distintas imágenes satelitales, y se estimó

como el primer año en el que se evidencia la existencia del cuerpo de agua (**Anexo 3**). Otros datos de apoyo recopilados fueron las características de los macroinvertebrados colectados, como su tamaño (longitud en cm) y abundancia (número de organismos) (sección 2.3.3.2.b).

### **2.3.3 Identificación y preparación de muestras**

#### **2.3.3.1 Muestras de zooplancton**

El proceso de identificación y preparación de las muestras de zooplancton se realizó en Laboratorio de Mercurio y Química Ambiental (LAMQA). En el laboratorio, las muestras  $zoo_{campo}$  fueron transferidas a superficies plásticas para remover partículas inorgánicas y sedimentos, utilizando pipetas y jeringas de plástico y una linterna. En caso de requerir agua adicional para este proceso, se utilizó agua destilada. Posteriormente, las muestras fueron fraccionadas utilizando dos tamices con malla de nylon de 60 y 500  $\mu\text{m}$ , obteniendo así dos fracciones de zooplancton:  $>500 \mu\text{m}$  y 60-500  $\mu\text{m}$ . Este paso se realizó con el objetivo de explorar posibles diferencias en la concentración de mercurio según el tamaño de los individuos [34].

Con el fin de confirmar la presencia de los organismos de interés en las muestras, es decir zooplancton, se seleccionó aleatoriamente una de ellas para una observación más precisa mediante un estereoscopio y un microscopio. Posteriormente, todas las fracciones de las muestras fueron filtradas al vacío a través de filtros de nitrocelulosa de 0.45  $\mu\text{m}$  para eliminar el agua. Durante el proceso de filtración, solo se utilizó agua destilada. Una vez finalizado el proceso de filtrado, los filtros se doblaron en dos para proteger la muestra y se guardaron en bolsas Whirl-Pak dentro de un congelador a  $-18 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Estas fracciones de las muestras  $zoo_{campo}$  se denominaron muestras  $zoo_{lab}$  y fueron luego utilizadas para el análisis en el laboratorio.

#### **2.3.3.2 Muestras de macroinvertebrados**

El proceso de identificación y preparación de muestras de macroinvertebrados constó de dos etapas. La primera se realizó en el sitio de muestreo y consistió en segregar la muestra compuesta por tamaño de individuos a través de tamices, capturar a los macroinvertebrados

y categorizarlos de acuerdo a su grupo taxonómico. La segunda etapa se realizó en las instalaciones de LAMQA e incluyó la medición, contabilización y limpieza de los individuos capturados.

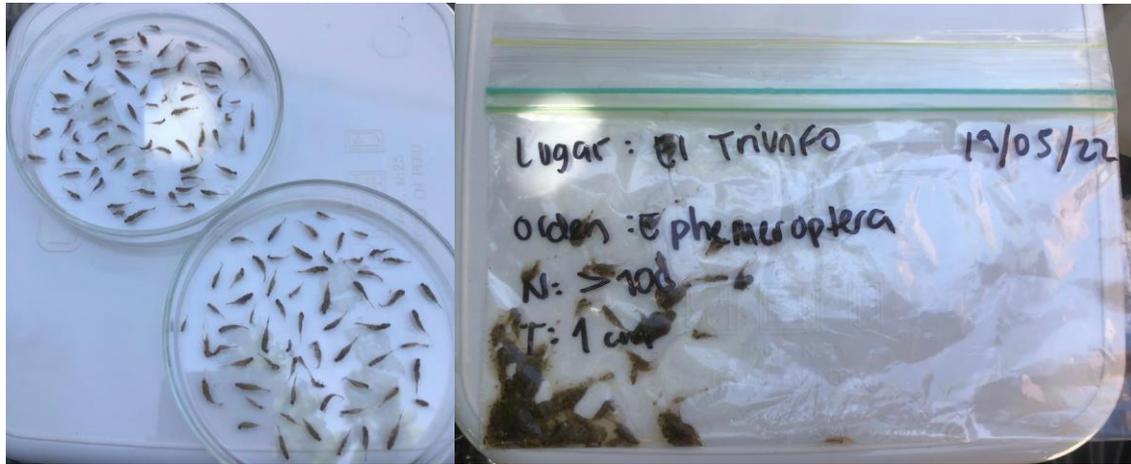
**a) Segregación de muestras e identificación de especímenes:** Finalizado el muestreo y con la finalidad de reducir la cantidad de material para transportar al laboratorio, se realizó una identificación preliminar de los organismos capturados. La muestra compuesta de cada cuerpo de agua fue fraccionada utilizando una torre de tres tamices (1 cm, 0.6 cm, y 0.3 cm). Este paso permitió segregar restos o fragmentos de materiales ajenos a las muestras (pequeñas piedras, ramas, hojas u otros materiales) y facilitó la posterior identificación y almacenamiento de los individuos. Las fracciones de muestra (>1 cm, 1-0.6 cm, 0.6-0.3 cm) se traspasaron a bandejas plásticas de color blanco con un pequeño volumen de agua correspondiente a cada sitio muestreado para su identificación y agrupación por grupo taxonómico (familia u orden). El proceso se realizó utilizando pinzas de plástico y acero inoxidable. Los macroinvertebrados se identificaron utilizando como referencia la “Guía de macroinvertebrados acuáticos de Madre de Dios” [30] y la “Guía para el estudio de los macroinvertebrados acuáticos del Departamento de Antioquia en Colombia” [79].

Los individuos del mismo grupo taxonómico fueron colocados en envases plásticos limpios, transparentes, y debidamente rotulados. Aquellos individuos que no pudieron identificarse en esta etapa se colocaron en envases independientes para su posterior identificación en el laboratorio. Al almacenar y transportar las muestras de macroinvertebrados clasificadas según su grupo taxonómico, se evitó la depredación entre distintos organismos y que se afecte la calidad de la muestra. Todas las muestras de macroinvertebrados se transportaron a LAMQA a temperatura ambiente. Los macroinvertebrados se mantuvieron por un aproximado de 24 horas en sus envases de colecta para que liberasen materia orgánica (detritos) y otras partículas que pudiesen haber ingerido [17]. De esta manera, se garantizó que la determinación de mercurio en las muestras representase la concentración presente solo en los tejidos o esqueleto de los organismos.

**Nota:** En esta etapa, se colectó aproximadamente 1 litro de agua de cada poza y lago de estudio para llevar a cabo el siguiente proceso de medición y contabilización de especímenes. A excepción del agua destilada, las muestras biológicas no entraron en contacto con agua de una fuente distinta a la de su hábitat para evitar contaminaciones.

**b) Medición y contabilización de especímenes:** Una vez en el laboratorio, utilizando pinzas de plástico o acero inoxidable, los macroinvertebrados se midieron y contabilizaron sobre placas de Petri con una regla milimetrada. En aquellas muestras que contenían más de 50 individuos, se midió únicamente una fracción del total. En caso de identificar individuos cuyo tamaño difería significativamente del promedio, estos fueron agrupados (en algunos casos, más de un individuo por muestra) y separados, considerándolos como una muestra diferente para el análisis de mercurio. Esto se realizó con la intención de examinar la relación entre la concentración de mercurio y el tamaño de los individuos, dos variables que suelen ser proporcionales (sección 1.3.4).

Una vez medidos y contabilizados, los macroinvertebrados se enjuagaron con agua de su respectiva poza o con agua destilada para eliminar partículas de materiales ajenos que pudiesen haber quedado adheridos al tejido. Las muestras de macroinvertebrados en esta etapa se denominaron muestras macros<sub>campo</sub>. Cada muestra macros<sub>campo</sub> fue colocada en una bolsa Ziploc rotulada con el nombre del cuerpo de agua y la fecha de muestreo, el nombre científico, el número de individuos por muestra y el tamaño promedio (**Figura 2.6**). Las muestras macros<sub>campo</sub> fueron conservadas congeladas a -18 °C hasta su preparación para el análisis.



**Figura 2.6.** Fotografía de macroinvertebrados del orden Ephemeroptera, familia Leptophlebiidae colectados en el lago control El Triunfo. Muestras en placas de Petri (izquierda). Bolsa Ziploc rotulada conteniendo la muestra macros<sub>campo</sub> para su posterior procesamiento y análisis (derecha).

### 2.3.3.3 Secado de muestras

Todas las muestras zoo<sub>lab</sub> y macros<sub>campo</sub> se secaron por liofilización por un periodo de 72 horas. En resumen, las muestras se congelaron por un mínimo de 24 horas, periodo después del cual se colocaron en el liofilizador (Liobras L101, Brazil, **Figura 2.7**). Para garantizar un secado uniforme, las bolsas con las muestras fueron colocadas semi abiertas. Una vez secas, las muestras fueron nuevamente congeladas hasta su análisis. Este paso fue realizado debido al alto contenido de humedad ambiental en LAMQA, que podría haber rehumedecido las muestras.



**Figura 2.7.** Secado de muestras de zooplancton y macroinvertebrados en el liofilizador Liobras L101 de LAMQA.

Debido a la escasa cantidad y el bajo peso de los individuos de zooplancton y macroinvertebrados colectados, las muestras liofilizadas no se homogeneizaron (trituraron) previo al análisis de mercurio, como indica el protocolo de CINCIA para muestras de peces [82], que se tomó como referencia para el análisis de las muestras de esta investigación (sección 2.2.2). Durante la liofilización, las muestras de zooplancton se desintegraron, adquiriendo una textura de polvillo, mientras que las muestras de macroinvertebrados mantuvieron su estructura en la mayoría de los casos.

#### **2.3.4 Análisis de mercurio total**

Las muestras liofilizadas de zooplancton y macroinvertebrados fueron analizadas para THg mediante la técnica de descomposición térmica y espectrofotometría de absorción atómica utilizando un analizador director de mercurio DMA-80 Milestone (**Figura 2.8**) con el método U.S. EPA 7473 [80]. El aseguramiento y control de calidad de los análisis (precisión y exactitud) se verificó a través de la lectura de soluciones estándar de mercurio,

blancos de laboratorio y materiales de referencia certificados (DORM- 4 (0.412  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e IAEA-436 (4.19  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )). El porcentaje de recuperación de las soluciones estándar de mercurio (precisión) y de los materiales de referencia certificados (exactitud) se encontró entre el rango de 90-110% (**Tabla 2.2**) [81].

Los botes de muestra de zooplancton a ingresar al DMA para el análisis de mercurio ( $\text{zoo}_{\text{lab}}$ ), se prepararon raspando el contenido retenido en cada filtro con un bisturí de acero inoxidable. Debido a la poca masa de zooplancton retenida en los filtros, cada filtro correspondió a un bote de muestra. Los botes de muestra de macroinvertebrados ( $\text{macro}_{\text{lab}}$ ) se prepararon considerando la probabilidad de que la cantidad de mercurio en el bote de muestra sea suficiente para superar el límite de cuantificación del analizador. Ya que la cantidad de mercurio en el bote aumenta con la cantidad de masa de muestra, la preparación de las muestras  $\text{macro}_{\text{lab}}$  dependió de la abundancia y el tamaño o peso de los individuos (**Figura 2.9**).

El protocolo de métodos M-002 de CINCIA- Guía operacional del equipo Milestone DMA-80 [81], utilizado como referencia para el análisis de las muestras de esta investigación (sección 2.2.2.), recomienda utilizar un peso mínimo de 0.05 g de muestra biótica en cada bote a analizar. Esta especificación no fue incorporada en este protocolo de trabajo debido a la poca masa disponible de los organismos de estudio. Por ello, se analizaron muestras  $\text{macro}_{\text{lab}}$  y  $\text{zoo}_{\text{lab}}$  con un peso mínimo de 0.002 g y 0.001 g respectivamente. En ningún caso se combinaron muestras de distintos sitios de muestreo, distintos grupos taxonómicos (macroinvertebrados) o fracciones (zooplancton). Cabe recalcar que el peso de cada bote de muestra  $\text{macro}_{\text{lab}}$  y  $\text{zoo}_{\text{lab}}$  varió dependiendo de la masa disponible.

La curva de calibración del DMA utilizado en esta investigación abarcó el rango de 1 a 1000 ng de THg absoluto. Los resultados obtenidos por debajo de 1 ng de THg absoluto se consideraron por debajo del límite de cuantificación del equipo (LOQ por sus siglas en inglés). El LOQ representa el valor más bajo que puede cuantificarse con cierta precisión [86]. Las concentraciones de THg de las muestras cuyo resultado estuvo por debajo del límite de cuantificación del DMA se reportan como valores  $<\text{LOQ}$ . Asimismo, las concentraciones

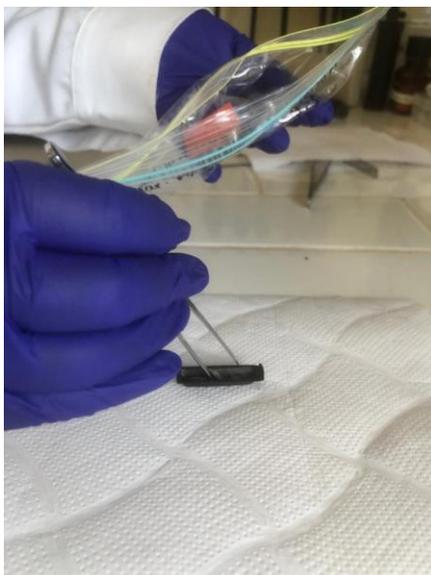
de Hg de las muestras cuyo resultado estuvo por encima del límite de cuantificación del DMA se reportan como valores >LOQ.



**Figura 2.8.** Analizador Directo de Mercurio DMA-80 de la marca Milestone [81].

**Tabla 2.2.** Valores de materiales de referencia certificados (CRM, por sus siglas en inglés) y soluciones estándar de mercurio utilizados durante el análisis de las muestras para el control de calidad.

CRM o solución estándar	Matriz	Concentración teórica (ng/g)	Concentración medida (ng/g)	Recuperación (%)
DORM-4	Músculo de pescado (proteína de pescado)	412 ±36	385±5	93%
IAEA-436	Músculo de pescado (atún)	4190±360	4300±142	103%
STD 10 ng	Solución estándar de Hg	101	96	96%
STD 40 ng	Solución estándar de Hg	1005	1013	101%



**Figura 2.9.** Preparación de botes de muestras con macroinvertebrados para el análisis de mercurio en el DMA. Muestra liofilizada (bolsa Ziploc) y muestra para medición (bote de muestra).

## **2.4 Evaluación del protocolo diseñado**

### **2.4.1 Observaciones del proyecto piloto**

Posterior a la ejecución del proyecto piloto en Madre de Dios se identificaron los procedimientos y acciones que podrían optimizarse para así proponer ajustes en el diseño inicial del protocolo.

### **2.4.2 Relación de los resultados con los datos ambientales de apoyo**

Se analizó la relación entre los datos ambientales de apoyo recopilados en campo con los resultados de concentración de mercurio en zooplancton y macroinvertebrados, con el objetivo de identificar la relevancia en el monitoreo de estos parámetros. Para cada sitio de muestreo se calculó el coeficiente de correlación lineal ( $r$ ) y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) entre la concentración de mercurio promedio en zooplancton y macroinvertebrados con

los parámetros fisicoquímicos recopilados en campo, el área de los cuerpos de agua, y su antigüedad. Por otro lado, se evaluó la relación entre el tamaño y la abundancia de los macroinvertebrados y su concentración de mercurio. Para definir una correlación lineal robusta entre dos variables, se consideró como mínimo un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.8.

### **2.4.3 Evaluación de la validez del protocolo**

La validez del protocolo diseñado para zooplancton y macroinvertebrados se determinó considerando los resultados de las concentraciones de mercurio para cada grupo de organismo obtenidas en la ejecución del proyecto piloto. El objetivo de la presente sección es identificar el potencial del zooplancton y los macroinvertebrados como bioindicadores efectivos de las concentraciones de mercurio en cuerpos afectados por la MAPE. Se consideraron los siguientes criterios:

- ¿Permite la metodología propuesta diferenciar las concentraciones de THg entre pozas mineras y lagos control?
- ¿Permite la metodología propuesta analizar la diferencia en las concentraciones de THg entre los diferentes grupos taxonómicos muestreados?
- ¿Son las concentraciones de THg coherentes y consistentes con los resultados reportados por estudios científicos previos?

### **2.5 Priorización de bioindicadores**

Dada la gran diversidad de organismos acuáticos de niveles tróficos inferiores en el área de estudio, es recomendado seleccionar a los más apropiados para monitorear la bioacumulación de mercurio en los ambientes acuáticos de interés. Esta sección presenta el desarrollo de un modelo numérico sencillo para identificar los grupos taxonómicos prioritarios de macroinvertebrados para el monitoreo de la bioacumulación de mercurio en pozas mineras de interés.

El diseño del modelo se basó en las observaciones y los resultados obtenidos durante la aplicación del protocolo de colecta y análisis de muestras de macroinvertebrados (sección 3.1.2 y 3.2.1.2) y considera cinco criterios, que incluyen la concentración de mercurio y los parámetros biológicos propios de cada grupo taxonómico (referido como “tax”). Futuras investigaciones que busquen aplicar este modelo en diferentes áreas de estudio deben tener en cuenta que se requieren resultados numéricos de un estudio piloto como datos de entrada para el modelo.

Los cinco criterios considerados en el modelo numérico propuesto se describen a continuación:

a) Longitud corporal promedio ( $L_{tax}$ ): El tamaño de los individuos de un grupo taxonómico influye en la cantidad de tiempo y esfuerzo necesarios para su colecta y la preparación de las muestras. Por ello, los programas de monitoreo deben priorizar los grupos de macroinvertebrados con individuos de mayor tamaño, ya que implica un menor tiempo para su colecta, identificación y preparación para el análisis de mercurio. Además, los organismos de mayor longitud, al tener mayor masa, aportan una mayor cantidad de mercurio por individuo en comparación a un organismo pequeño, aumentando la probabilidad de obtener resultados por encima del límite de cuantificación del analizador de mercurio, inclusive con una baja abundancia. Este criterio se expresa en centímetros (cm).

b) Concentración promedio de mercurio ( $H_{tax}$ ): Se recomienda priorizar aquellos grupos taxonómicos de macroinvertebrados que muestren mayor acumulación de mercurio por unidad de masa (ng/g) en los resultados del proyecto piloto. Los macroinvertebrados que acumulen más mercurio requerirán una menor cantidad de muestra (tamaño y abundancia) para superar el límite de cuantificación del analizador de mercurio. Este criterio se expresa en ng/g (peso seco).

c) Abundancia relativa ( $A_{tax}$ ): Un programa de monitoreo debe priorizar a los grupos de macroinvertebrados más abundantes, es decir aquellos con un mayor número de individuos, en los cuerpos de agua de estudio. Ello garantizará un mayor número de muestras para el análisis de laboratorio, lo que se traducirá en resultados estadísticamente más

robustos. La abundancia relativa se utiliza para reflejar la abundancia de cada grupo taxonómico con respecto al total de individuos en un cuerpo de agua.

d) Frecuencia ( $F_{tax}$ ): Hace referencia a la ocurrencia de un grupo taxonómico en los cuerpos de agua de estudio. Un programa de monitoreo debe priorizar aquellos grupos de macroinvertebrados con una alta frecuencia (ocurrencia en todos o casi todos los cuerpos de agua de estudio). Esto garantizará el poder comparar los diferentes cuerpos de agua de estudio, así como la factibilidad de realizar estudios multiespaciales. La frecuencia se expresa como una fracción del total, donde 1 indica que el grupo taxonómico se halló en todos los cuerpos de agua y 0 indica la ausencia del grupo taxonómico en todos los cuerpos de agua.

e) Comparabilidad ( $C_{tax}$ ): Refleja la posibilidad de comparar las concentraciones de mercurio halladas en pozas mineras con las concentraciones de mercurio halladas en cuerpos de agua control. La comparabilidad tiene dos valores: es 0, cuando el grupo taxonómico se colecta únicamente en lagos control o en pozas mineras, y es 1, cuando el grupo taxonómico es hallado en ambos ecosistemas.

La fórmula del modelo combina los cinco criterios identificados a través de un índice ponderado  $P_{tax}$ , concebido para reflejar la relevancia de la inclusión de un determinado grupo taxonómico en un estudio para cuantificar la concentración de mercurio en el componente biológico de un ecosistema acuático. Los valores de los criterios se ingresan al modelo normalizados, es decir, en un rango de 0 a 1, considerando los valores mínimo y máximo de cada conjunto de datos. La fórmula del índice ponderado  $P_{tax}$  es la siguiente:

$$P_{tax} = X_1(l_{tax}) + X_2(h_{tax}) + X_3(a_{tax}) + X_4(f_{tax}) + X_5(c_{tax})$$

Donde:

$l_{tax}$  Longitud corporal promedio normalizada de un grupo taxonómico

$h_{tax}$  Concentración promedio de mercurio normalizada de un grupo taxonómico

$a_{tax}$  Abundancia relativa normalizada de un grupo taxonómico

$f_{tax}$  Frecuencia normalizada de un grupo taxonómico

$c_{tax}$  Comparabilidad de un grupo taxonómico en los cuerpos de agua de estudio

$tax$  Grupos taxonómicos colectados y analizados en el estudio. Por ejemplo,  $tax=$  [Belostomatidae, Coenagrionidae, Coleoptera, Libellulidae...].

Los criterios normalizados  $l_{tax}$ ,  $h_{tax}$ ,  $a_{tax}$ ,  $f_{tax}$ , y  $c_{tax}$  se calculan a partir de las siguientes ecuaciones.

$$l_{tax} = \frac{L_{tax} - \min (L_1 \dots L_{Ntax})}{\max (L_1 \dots L_{Ntax}) - \min (L_1 \dots L_{Ntax})}$$

$$h_{tax} = \frac{H_{tax} - \min (H_1 \dots H_{Ntax})}{\max (H_1 \dots H_{Ntax}) - \min (H_1 \dots H_{Ntax})}$$

$$a_{tax} = \frac{A_{tax} - \min (A_1 \dots A_{Ntax})}{\max (A_1 \dots A_{Ntax}) - \min (A_1 \dots A_{Ntax})}$$

$$f_{tax} = \frac{F_{tax} - \min (F_1 \dots F_{Ntax})}{\max (F_1 \dots F_{Ntax}) - \min (F_1 \dots F_{Ntax})}$$

$$c_{tax} = \frac{C_{tax} - \min (C_1 \dots C_{Ntax})}{\max (C_1 \dots C_{Ntax}) - \min (C_1 \dots C_{Ntax})}$$

En la fórmula, los factores  $X_1$ - $X_5$  reflejan la importancia relativa de cada uno de los criterios. En otras palabras, los factores  $X_1$ - $X_5$  suman un 100% (fracciones de la unidad). Por tanto, si se considera que todos los criterios tienen la misma importancia relativa, cada factor valdría 0.2 ( $1/5$ ). No obstante, si algún criterio es considerado de mayor importancia en concordancia con los objetivos del proyecto, se le debe asignar un valor superior (por ejemplo, 0.5) y dividir el sobrante entre los factores restantes. En síntesis, el valor del índice ponderado  $P_{tax}$  puede variar entre 0 y 1. Al comparar los índices  $P_{tax}$  de cada grupo taxonómico incluido en el estudio, se pueden identificar los grupos taxonómicos a priorizar, que tendrán valores  $P_{tax}$  más cercanos a 1.

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este capítulo se divide en tres secciones. La primera describe los resultados obtenidos durante el proyecto piloto ejecutado siguiendo el protocolo de trabajo propuesto para la colecta, preparación y análisis de muestras de zooplancton y macroinvertebrados para monitorear la bioacumulación de mercurio en pozas mineras de Madre de Dios (sección 3.1). En la segunda sección, se evalúa la eficacia y validez del protocolo propuesto para abordar los objetivos de investigación trazados (sección 3.2). Finalmente, utilizando los resultados del proyecto piloto, la tercera sección presenta la aplicación del modelo numérico propuesto para la identificación de bioindicadores prioritarios (sección 3.3) y proporciona recomendaciones de los grupos taxonómicos a priorizar en futuros estudios de bioacumulación de mercurio en pozas mineras del área de estudio.

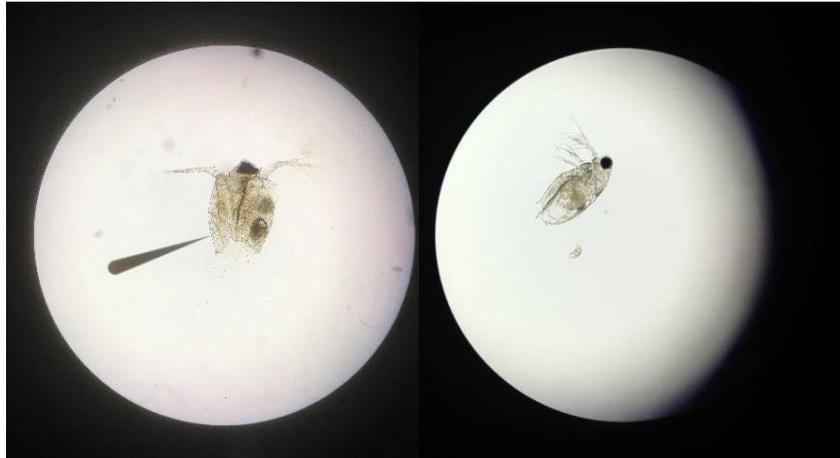
#### 3.1 Resultados del proyecto piloto

##### 3.1.1 Protocolo para zooplancton

###### 3.1.1.1 Colecta, identificación y preparación de muestras

A partir de la colecta en el proyecto piloto, se obtuvieron un total de cuatro muestras de zooplancton, correspondientes a cada uno de los cuerpos de agua muestreados (sección 2.3.2.1). Además, se incluyeron dos muestras adicionales obtenidas incidentalmente durante el procesamiento de macroinvertebrados (sección 2.3.3.2), una del lago control Tupac y otra de la poza minera Inundación. Después de fraccionar las muestras (60-500  $\mu\text{m}$  y  $>500 \mu\text{m}$ ; sección 2.3.3.1), se obtuvieron un total de 12 muestras  $\text{zoo}_{\text{lab}}$  para el análisis de mercurio (**Tabla 3.1**). La observación en el microscopio y estereoscopio de la muestra de la poza minera Shansho confirmó la presencia de zooplancton en las muestras colectadas. Aunque se identificó la presencia de cladóceros y copépodos en las muestras (**Figura 3.1 y 3.2**), no se

logró identificar rotíferos y tampoco fue posible confirmar una diferenciación entre los organismos encontrados en las fracciones 60-500  $\mu\text{m}$  y  $>500 \mu\text{m}$ , respectivamente.



**Figura 3.1.** Cladóceros colectados en la poza minera Shansho vistos desde un microscopio óptico. Clase Crustacea, Subclase Braquiópoda, Suborden Cladóceras.



**Figura 3.2.** Copépodos colectados en la poza minera Shansho vistos desde un microscopio óptico (izquierda) y un estereomicroscopio óptico (derecha). Clase Crustacea, Orden Copépoda, Sub-orden Calanoida.

### 3.1.1.2 Análisis de mercurio

De las doce muestras zoo<sub>lab</sub> disponibles para el análisis de mercurio (**Tabla 3.1**), cinco no fueron analizadas debido al poco material de la muestra (<0.001 g) y la alta probabilidad de que no superasen el límite de cuantificación del equipo, de acuerdo a la experiencia del personal del laboratorio. De las siete muestras analizadas, solo dos presentaron concentraciones de mercurio >LOQ. Ambas muestras correspondieron a la poza minera Inundación (552 y 512 ng/g).

**Tabla 3.1.** Concentración de mercurio total (THg) en muestras de zooplancton. Las concentraciones reportadas como <LOQ representan valores menores a 1 ng.

Categoría	Cuerpo de agua	Fracción de muestra (µm)	Concentración THg (ng/g)
Lagos control	Tupac	60-500	<LOQ
		>500	No analizada por insuficiente material de muestra
		60-500*	No analizada por insuficiente material de muestra
		>500*	<LOQ
	El Triunfo	60-500	<LOQ
		>500	No analizada por insuficiente material de muestra
Pozas mineras	Inundación	60-500	<LOQ
		>500	552
		60-500*	512
		>500*	No analizada por insuficiente material de muestra
	Shansho	60-500	No analizada por insuficiente material de muestra
		>500	<LOQ

\*Submuestra obtenida del procesamiento de muestras de macroinvertebrados

### 3.1.2 Protocolo para macroinvertebrados

#### 3.1.2.2 Colecta, identificación y preparación de muestras

Al finalizar el proceso de colecta e identificación de muestras (sección 2.3.3.2), se obtuvo un total de 35 muestras macroScampo (17 en lagos control y 18 en pozas mineras) (Tabla 3.2). Las muestras agruparon 504 especímenes, pertenecientes a doce grupos taxonómicos: cuatro grupos identificados a nivel de orden y ocho grupos identificados a nivel de familia. De los doce grupos, solo tres (p. ej. Belostomatidae, Coenagrionidae y Libellulidae), fueron colectados en los cuatro cuerpos de agua muestreados (Tabla 3.2).

**Tabla 3.2.** Distribución de muestras macroScampo en los cuerpos de agua estudiados.

Grupo taxonómico		Lagos control		Pozas mineras		Muestras macroScampo
Orden	Familia	Tupac	El Triunfo	Inundación	Shansho	
Hemiptera	Belostomatidae	✓	✓ <sup>1</sup>	✓	✓ <sup>1,2</sup>	6
	Corixidae/Notonectidae	✓ <sup>1,2</sup>				2
Caridea*				✓ <sup>1,2</sup>	✓	3
Coleoptera*		✓		✓	✓	3
Odonata	Coenagrionidae	✓	✓	✓	✓	4
	Libellulidae	✓ <sup>1</sup>	✓	✓	✓	5
	Gomphidae		✓		✓	2
Gastropoda*		✓		✓		2
Glossiphoniiformes*			✓	✓ <sup>2</sup>	✓	3
Ephemeroptera	Leptophlebiidae	✓ <sup>2</sup>	✓			2
	Polymitarcyidae			✓	✓	2
Diptera	Chironomidae		✓			1
<b>Total</b>		<b>9</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>35</b>

\*No se logró identificar a nivel de familia

<sup>1</sup>Muestras subdivididas según el tamaño de los individuos

<sup>2</sup>Muestras posteriormente excluidas del análisis de mercurio por insuficiente cantidad de material

Los grupos taxonómicos de mayor abundancia (número de individuos) en los cuerpos de agua estudiados fueron Coleóptera, Leptoplhebiidae y Corixidae. Por el contrario, los grupos que tuvieron una menor abundancia fueron Gastropoda, Polymitarciidae y Gomphidae, que coincidentemente son también grupos con altos valores de longitud corporal. El grupo taxonómico de mayor tamaño fue Caridea, seguido por Gomphidae. Con respecto a la frecuencia de los macroinvertebrados, dos grupos taxonómicos (Chironomidae y Corixidae) se colectaron solo en un cuerpo de agua; sin embargo, esto no descarta que sea posible encontrarlos en los demás cuerpos de agua (**Tabla 3.3**).

**Tabla 3.3.** Características de los grupos taxonómicos de macroinvertebrados colectados. Valores en cursiva corresponden a la desviación estándar.

Grupo taxonómico		Variables			
Orden	Familia	Número de muestras macroScampo	Abundancia total	Frecuencia	Longitud corporal promedio (cm)
Hemiptera	Belostomatidae	6	35	100%	1.04 ( <i>0.45</i> )
	Corixidae/Notonectidae	2	37	25%	0.40 ( <i>0.14</i> )
Caridea*		3	12	50%	2.26 ( <i>1.46</i> )
Coleoptera*		3	125	75%	0.27 ( <i>0.11</i> )
Odonata	Coenagrionidae	4	40	100%	1.34 ( <i>0.11</i> )
	Libellulidae	5	18	100%	1.00 ( <i>0.21</i> )
	Gomphidae	2	6	50%	2.19 ( <i>0.16</i> )
Gastropoda*		2	4	50%	1.55 ( <i>0.14</i> )
Glossiphoniiformes*		3	53	75%	0.93 ( <i>0.20</i> )
Ephemeroptera	Leptophlebiidae	2	109	50%	0.77 ( <i>0.33</i> )
	Polymitarciidae	2	5	50%	1.62 ( <i>0.30</i> )
Diptera	Chironomidae	1	60	25%	0.80
<b>Total</b>		<b>35</b>	<b>504</b>	-	-

\*No se logró identificar a nivel de familia

### 3.1.2.3 Análisis de mercurio

De las 35 muestras macros<sub>campo</sub>, solo 30 (467 macroinvertebrados) fueron analizadas por mercurio total para la validación del protocolo del análisis (**Tabla 3.4**). Las cinco muestras restantes (**Tabla 3.2**<sup>2</sup>) fueron descartadas por el escaso material de muestra disponible (<0.002 g), que en la experiencia del personal de laboratorio, no sobrepasaría el límite de cuantificación del equipo. De acuerdo a la abundancia y al tamaño de los individuos, de las 30 muestras macros<sub>campo</sub>, se prepararon un total de 42 muestras macros<sub>lab</sub> para el análisis de mercurio. Algunos grupos, como Belostomatidae y Caridea, contaron con individuos de suficiente tamaño y abundancia para preparar dos o tres botes de muestra macros<sub>lab</sub> por muestra macros<sub>campo</sub>. Los grupos taxonómicos con individuos de menor tamaño, p. ej., Coleoptera, Leptophlebiidae y Chironomidae, se agruparon casi en su totalidad en un solo bote de muestra macros<sub>lab</sub> por cuerpo de agua (**Tabla 3.4**).

De las 42 muestras macros<sub>lab</sub> analizadas, 35 (83%) presentaron concentraciones de THg >LOQ (**Tabla 3.4**). De estas, 22 muestras correspondieron a pozas mineras y trece a lagos control. Solo la familia de Libellulidae presentó concentraciones de THg >LOQ en los cuatro cuerpos de agua muestreados. Considerando únicamente las muestras macros<sub>lab</sub> >LOQ, la concentración de THg varió de 26 ng/g (Libellulidae en lago control El Triunfo) a 1972 ng/g (Belostomatidae en poza minera Inundación), con una concentración media de  $387 \pm 409$  ng/g (mediana 205 ng/g).

De las siete muestras macros<sub>lab</sub> con concentraciones de THg <LOQ, seis (86%) correspondieron al lago control El Triunfo (cuatro de Belostomatidae, una de Coenagrionidae, y una de Leptophlebiidae). Esto podría responder a la poca masa o acumulación de mercurio en las muestras de macroinvertebrados de El Triunfo.

**Tabla 3.4.** Resumen de la preparación y el análisis de mercurio de las muestras de macroinvertebrados. Se indica el número de muestras colectadas en campo consideradas en el análisis (Muestras macros<sub>campo</sub>), la cantidad de macroinvertebrados presentes en dichas muestras (Abundancia total), el número de botes de muestra analizados por el DMA (Muestras macros<sub>lab</sub>), el número de muestras analizadas con resultados por encima del límite de cuantificación analítico (Muestras macros<sub>lab</sub> >LOQ 1 ng) y la concentración de THg para dichas muestras (THg ng/kg >LOQ 1 ng). Valores en cursiva corresponden a la desviación estándar.

Grupo taxonómico		Variables				
Orden	Familia	Muestras macros <sub>campo</sub>	Abundancia total	Muestras macros <sub>lab</sub>	Muestras macros <sub>lab</sub> >LOQ	THg (ng/g) >LOQ
Hemiptera	Belostomatidae	5	16	9	5	768.87 (722.59)
	Corixidae/Notonectidae	1	33	1	1	101.52
Caridea*		2	9	6	6	736.99 (292.24)
Coleoptera*		3	125	4	4	537.19 (298.03)
Odonata	Coenagrionidae	4	40	4	3	302.12 (136.50)
	Libellulidae	5	18	5	5	170.00 (127.11)
	Gomphidae	2	6	4	4	146.19 (138.12)
Gastropoda*		2	4	2	2	159.18 (65.06)
Glossiphoniiformes*		2	51	2	2	78.74 (58.27)
Ephemeroptera	Leptophlebiidae	1	100	2	1	31.48
	Polymitarcyidae	2	5	2	1	142.84
Diptera	Chironomidae	1	60	1	1	31.29
<b>Total</b>		<b>30</b>	<b>467</b>	<b>42</b>	<b>35</b>	<b>386.83</b> <b>(408.73)</b>

\*No se logró identificar a nivel de familia

### **3.1.3 Datos ambientales de apoyo**

#### **Parámetros fisicoquímicos del agua**

Los parámetros fisicoquímicos del agua de los cuerpos de agua muestreados no presentaron un patrón de variabilidad que pudiese relacionarse con su impacto antropogénico (**Tabla 3.5**). La temperatura ( $27.27 \pm 0.38$  °C) fue similar en los cuerpos de agua. El pH del agua ( $6.57 \pm 0.79$ ) fue ácido en los cuerpos de agua a excepción del lago El Triunfo (7.66). El oxígeno disuelto ( $4.92 \pm 2.28$  mg/L) y la conductividad ( $107.80 \pm 44.37$  uS/cm) presentaron valores más altos en los lagos control. Por último, la transparencia ( $43.75 \pm 14.64$ ) alcanzó su valor más bajo en el lago El Triunfo.

El parámetro que usualmente se encuentra ligado a la metilación y biodisponibilidad del mercurio es el oxígeno disuelto (sección 1.3.2). Como es de esperarse, la concentración de oxígeno fue inferior en pozas mineras. No obstante, los datos son insuficientes para asegurar un comportamiento diferenciado entre pozas mineras y lagos control. La transparencia fue inferior en el lago El Triunfo. Sin embargo, no se cuenta con una justificación para su disminución, idealmente se esperaría hallar valores inferiores de transparencia en las pozas mineras, ya que usualmente tienen mayor turbidez.

#### **Área y año de formación**

El cuerpo de agua de mayor antigüedad y área fue el lago control Tupac. Posteriormente, se formó el lago de El Triunfo, y finalmente las pozas mineras Inundación y Shansho. El área de las pozas mineras fue inferior en comparación a los lagos control (**Tabla 3.5**).

**Tabla 3.5.** Datos ambientales de apoyo de los cuerpos de agua de estudio.

Categoría	Parámetro	Lagos control		Pozas mineras	
		Tupac	El Triunfo	Inundación	Shansho
Parámetros físicoquímicos del agua	Temperatura (°C)	SD*	25.10	25.00	25.70
	Oxígeno disuelto (mg/L)	6.84	SD*	2.40	5.52
	Conductividad (uS/cm)	99.20	171.00	93.70	67.30
	pH	5.82	7.66	6.52	6.26
	Transparencia (cm)	55	23	53	44
Características de los cuerpos de agua	Área (ha)	8.66	3.11	0.41	0.15
	Año de formación	1969	2009	2014	2011

SD: sin dato

\*No se pudo realizar la medición debido a un fallo técnico del multiparámetro.

## 3.2 Evaluación del protocolo diseñado

### 3.2.1 Observaciones del proyecto piloto

#### 3.2.1.1 Observaciones al protocolo en zooplancton

A continuación, se presentan observaciones realizadas durante la ejecución del proyecto piloto en Madre de Dios al protocolo de colecta, preparación y análisis de muestras de zooplancton. Las observaciones se enfocan en la eficiencia del protocolo y proponen oportunidades de mejora.

#### *Colecta de muestras*

- Adicional al protocolo establecido, se observó la presencia de zooplancton en el agua colectada con las muestras de macroinvertebrados, por lo que se extrajo con una pipeta y reservó para su posterior fraccionamiento y análisis. Cabe resaltar que la recuperación del zooplancton presente en las muestras de macroinvertebrados se realizó únicamente debido a la escasa cantidad de zooplancton colectado, y con la

intención de garantizar la validación del protocolo de análisis. En caso se disponga de suficiente material de zooplancton para el análisis, este paso no es necesario.

- A pesar de incrementar el volumen de agua filtrada (200 L en contraste a los 50 L [77]), la masa retenida fue insuficiente. Es posible que la metodología de colecta propuesta no sea la más efectiva para alcanzar una masa contundente de zooplancton. Sin embargo, también es posible que la abundancia de zooplancton en los sitios de muestreo no haya sido alta. Por ejemplo, la presencia de zooplancton en el agua de las muestras de macroinvertebrados en Tupac e Inundación (sección 3.1.1.2), podría ser un indicio de que existe mayor abundancia de zooplancton en zonas con vegetación, ya que esta puede dar refugio contra los peces predadores durante el día [87].

#### *Identificación y preparación*

- El tiempo requerido para remover partículas abióticas (p. ej. sedimentos suspendidos) de las muestras de forma manual en el laboratorio fue tedioso, incluso pudo tomar más de 2 horas por muestra y el resultado no terminó siendo satisfactorio. Al finalizar la limpieza de las muestras no fue posible asegurar que la muestra estuviese compuesta únicamente por zooplancton (**Figura 3.3**). La remoción de partículas abióticas en suspensión es importante, ya que estas pueden aportar contenido de mercurio y alterar la concentración de mercurio en la muestra.
- Debido a la dificultad para visualizar a los individuos de forma directa, no es viable caracterizarlos durante una campaña de monitoreo en base a su grupo taxonómico, abundancia o frecuencia. En el escenario de un programa de monitoreo, esto limita las posibilidades de justificar *outliers* y explicar los resultados obtenidos.
- El fraccionamiento de las muestras (>500  $\mu\text{m}$  y 60-500  $\mu\text{m}$ ) disminuyó la masa de zooplancton que ingresó al DMA, incrementando la posibilidad de que las muestras se encuentren por debajo del LOQ del equipo. Asimismo, en ninguno de las muestras fue posible realizar más de una muestra  $\text{ZOO}_{\text{lab}}$  por muestra  $\text{ZOO}_{\text{campo}}$ .

### *Análisis de muestras*

- El protocolo de CINCIA indica “para las muestras bióticas se considerará un peso hasta de 0.0500 g debido a que contienen mayor cantidad de Hg y para muestras abióticas hasta 0.100 g”. En la ejecución del proyecto piloto se consideró un peso mínimo de 0.001 g para muestras de zooplancton debido a la poca masa disponible. Sin embargo, considerando que el 71% de las muestras no superó el LOQ (1 ng), se estima que el peso mínimo debe ser superior. Debido a la poca cantidad de muestras analizadas no fue posible sugerir un peso mínimo para futuros análisis.
- Para asegurar la calidad del análisis de las muestras de zooplancton se utilizó material de referencia certificado (CRM, por sus siglas en ingles) de tejido de pescado (DORM-4 e IAEA-436). Sin embargo, de contar con los recursos disponibles, se sugiere utilizar CRM elaborado a base de plancton (p. ej. BCR-414 [67]).



**Figura 3.3.** Fracción de muestra zooplancton (60-500  $\mu\text{m}$ ) con presencia de sedimentos gruesos y finos.

#### **3.2.1.2 Observaciones al protocolo en macroinvertebrados**

A continuación, se presentan observaciones realizadas durante la ejecución del proyecto piloto en Madre de Dios al protocolo de colecta, tratamiento y análisis de muestras de macroinvertebrados. Las observaciones se enfocan en la eficiencia del protocolo y las oportunidades de mejora.

### *Colecta de muestras*

- Los grupos taxonómicos reportados no fueron los únicos presentes en los cuerpos de agua. Por ejemplo, en la mayoría de los casos se observaron chironómidos, pero no se colectaron ya que eran difíciles de atrapar y no eran abundantes. Asimismo, muchas veces se optó por no colectar gastrópodos ya que es difícil retirar el caparazón.
- El muestreo en cuatro orillas por cuerpo de agua permitió colectar material suficiente para la validación de protocolo diseñado. Sin embargo, para monitoreos a largo plazo se recomienda incrementar el número de puntos de muestreo por cada cuerpo de agua, y seguir recomendaciones sobre la cantidad mínima de macroinvertebrados a colectar dependiendo del grupo taxonómico y las características del cuerpo de agua.

### *Identificación y preparación de muestras*

- La torre de tamices facilitó la identificación de los macroinvertebrados, pero se evidenció mucho sustrato colmatado en los tamices. El sustrato pudo disminuir incrementando el tiempo de enjuague de la muestra.
- Debido a que este estudio buscaba analizar todos los grupos taxonómicos, los tamices seleccionados sí permitieron recuperar macroinvertebrados de tamaño reducido (3 mm), sin embargo, los organismos de menor tamaño son los más difíciles de colectar. El tamaño de la red de nylon utilizada para la colecta, como el de los tamices puede ajustarse dependiendo el tamaño de los macroinvertebrados que se busca colectar.
- En campo, fue factible segregar e identificar a la mayoría de los macroinvertebrados que tuvieron un tamaño mayor a 1 cm. Por el contrario, los organismos de menor tamaño usualmente se almacenaron de forma combinada y se clasificaron en laboratorio.

### *Análisis de muestras*

- Durante la preparación de las muestras macros<sub>campo</sub>, algunas (n=5) se subdividieron con base en su longitud corporal para observar diferencias por tamaño. En tres de ellas, la muestra con la fracción de menor tamaño no tuvo la masa suficiente para ser analizada (mínimo 0.002 g), mientras que en las otras dos no se evidenció una diferencia en la concentración del mercurio asociada al tamaño. Se concluye que, en este caso no fue productivo dividir las muestras por tamaño.
- Al inicio del proceso de análisis se intentó homogeneizar una muestra de macroinvertebrados. Sin embargo, al pulverizar la muestra dentro de su bolsa Ziploc, todas las partículas se adhirieron a las paredes de la bolsa y fue imposible recuperar el material para su análisis. Es posible que el material de la bolsa haya generado este suceso, y que se obtengan resultados distintos con envases pequeños (aproximadamente 50 ml) de vidrio o plástico con tapa de rosca.
- El límite de cuantificación del equipo redujo la cantidad de muestras macros<sub>lab</sub> que formaron parte de la validación del protocolo propuesto. A pesar de que existen analizadores de mercurio de mayor tecnología con un límite de cuantificación inferior, se debe trabajar en base a los recursos disponibles y es probable que no se encuentren mayores avances tecnológicos en zonas alejadas y de difícil acceso donde se desarrolla la MAPE.
- El protocolo de CINCIA indica “para las muestras bióticas se considerará un peso hasta de 0.0500 g debido a que contienen mayor cantidad de Hg y para muestras abióticas hasta 0.100 g”. En la ejecución del proyecto piloto se consideró un peso mínimo de 0.002 g para muestras de macroinvertebrados debido a la poca masa disponible. Sin embargo, considerando que el 17% de las muestras no superó el LOQ (1 ng), se estima que el peso mínimo a considerar para muestras de macroinvertebrados en futuros análisis podría ser de 0.04 g para lagos control y de hasta 0.01 g para pozas mineras.

- Para asegurar la calidad del análisis de las muestras de macroinvertebrados se utilizó material de referencia certificado (CRM, por sus siglas en inglés) de tejido de pescado (DORM-4 e IAEA-436). Sin embargo, de contar con los recursos disponibles, se sugiere utilizar un CRM de músculo de langosta [88], ostra, mejillón [89] o algún macroinvertebrado (p. ej. TORT-3, BCR-278).

### 3.2.2 Relación de los resultados con los datos ambientales de apoyo

#### 3.2.2.1 Características de los cuerpos de agua y concentraciones de mercurio

En esta sección se buscó identificar correlaciones entre los datos ambientales de apoyo recopilados para caracterizar los cuerpos de agua y las concentraciones de THg en zooplancton y macroinvertebrados en cada cuerpo de agua. Sin embargo, la concentración de THg promedio en zooplancton solo pudo ser determinada en la poza minera Inundación, por lo que no se pudo estimar su relación con los datos ambientales de apoyo (**Tabla 3.6**). La concentración de THg promedio en macroinvertebrados varió entre los cuerpos de agua ( $331.99 \pm 300.51$  ng/g) y fue mayor en la poza minera Inundación, seguida por la poza minera Shansho, el lago Tupac y finalmente el lago El Triunfo.

**Tabla 3.6.** Concentración promedio (media) de THg (ng/g) en zooplancton y macroinvertebrados en los cuerpos de agua de estudio considerando únicamente los valores por encima del límite de cuantificación (LOQ) del analizador de mercurio. Valores en cursiva corresponden a la desviación estándar.

Bioindicador	Lagos control		Pozas mineras	
	Tupac	El Triunfo	Inundación	Shansho
Zooplancton	SD	SD	532.5 (0.03)	SD
Macroinvertebrados	129.16 (40.87)	35.67 (7.52)	674.87 (616.56)	488.24 (212.81)

SD: sin dato

Se calculó el coeficiente de correlación lineal ( $r$ ) y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) entre los datos de apoyo y la concentración media de mercurio ( $>LOQ$ ) (ver **Tabla 1** y **2** en el **Anexo 5**). Se identificó una correlación robusta ( $R^2 \geq 0.8$ ) entre la concentración de

THg en macroinvertebrados y el pH de los cuerpos de agua. Sin embargo, se requeriría de un mayor número de mediciones (cuerpos de agua muestreados) para confirmar dicha relación. Estudios que desean reproducir el trabajo realizado deberían continuar monitoreando los parámetros estipulados en esta investigación, e incluir otros datos ambientales de apoyo en caso sea factible (sección 2.3.1). Asimismo, para garantizar que los datos fisicoquímicos sean precisos se recomienda medir tres veces cada parámetro y calcular un promedio.

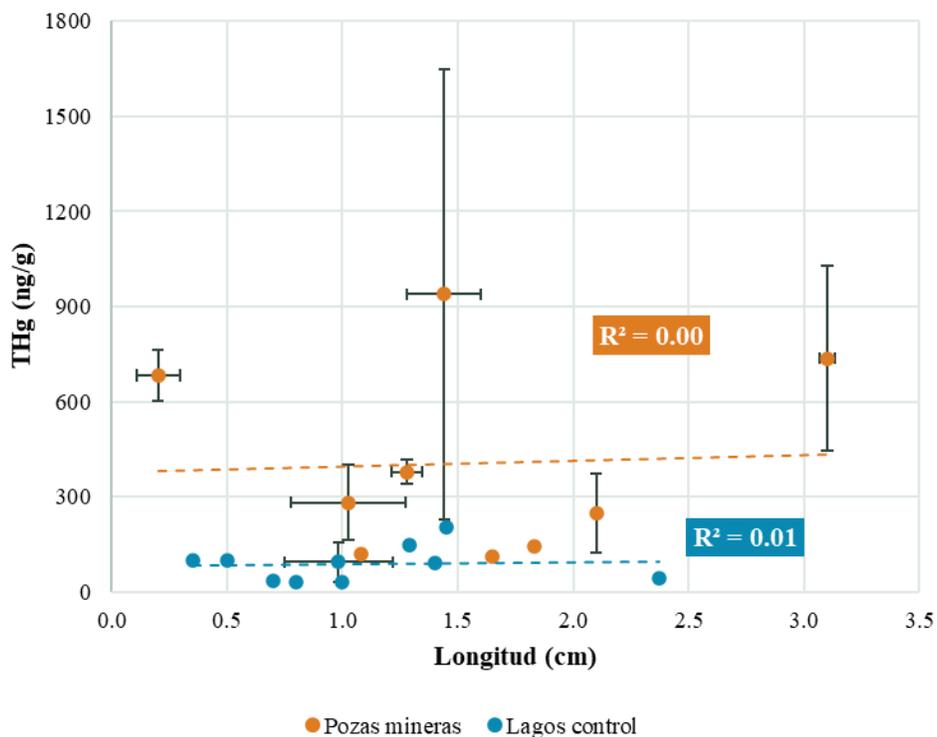
Por otro lado, al momento de considerar la correlación entre la concentración de mercurio y los datos ambientales de apoyo, debe analizarse si existe causalidad entre ellos. La correlación entre dos variables no implica que una es causante de la otra, muchas veces existe una tercera “variable de confusión” (*confounder*) que hace parecer que la relación entre las dos variables de interés es más fuerte o débil. Para esclarecer relaciones causales entre los datos de apoyo y la concentración de mercurio se recomienda también analizar la relación entre los datos de apoyo (p. ej. Temperatura vs pH o pH vs oxígeno disuelto), y así obtener información complementaria para el análisis de la relación entre los datos (ver **Tabla 1 y 2** en **Anexo 5**).

### **3.1.1.2 Características de los bioindicadores y concentraciones de mercurio**

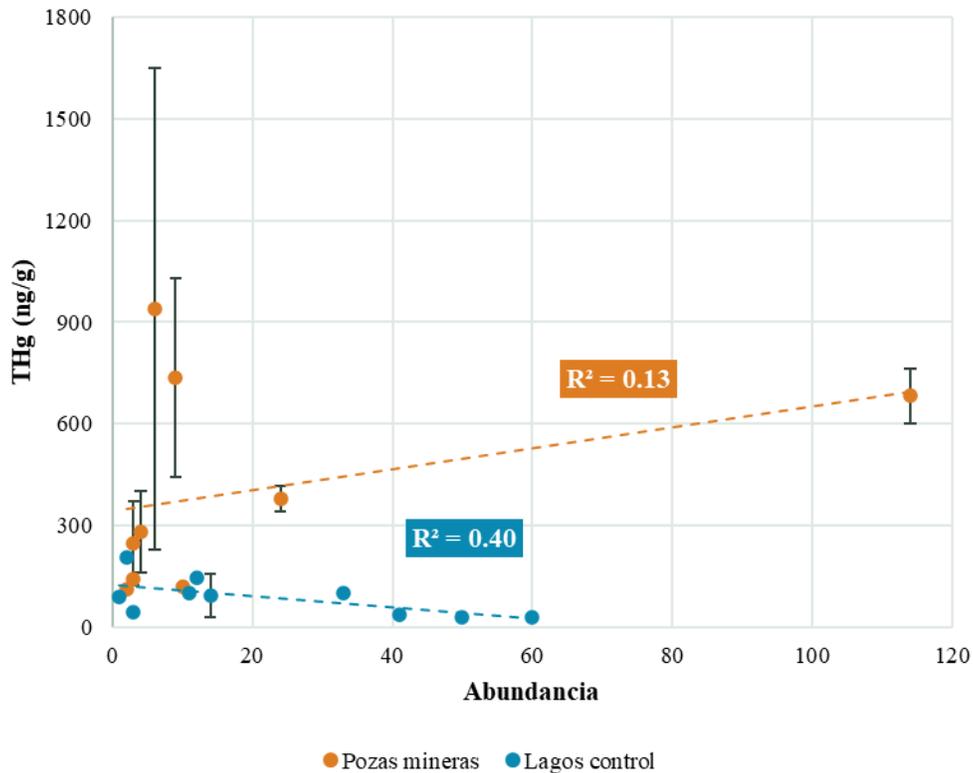
El tamaño de los organismos colectados se monitoreó para evaluar su relación con la bioacumulación de mercurio (sección 1.3.4 y 1.4.1). En el caso de zooplancton (**Tabla 3.1**), la muestra >500  $\mu\text{m}$ , presentó una concentración de mercurio levemente superior (552 ng/g) que la muestra de menor tamaño (60-500  $\mu\text{m}$ , 512 ng/g) para el mismo cuerpo de agua. Sin embargo, no se puede concluir que este resultado sea representativo de una relación entre el tamaño y la acumulación de mercurio, considerando que solo se obtuvieron dos resultados >LOQ y que los métodos de colecta no fueron los mismos para ambas muestras.

En las muestras de macroinvertebrados se colectó datos de apoyo como la longitud (cm) de los organismos y la abundancia. No se halló una correlación lineal robusta ( $R^2 \geq 0.8$ ) entre el mercurio en pozas mineras o lagos control y el tamaño de los individuos (**Figura 3.4**). Esto puede deberse a que hay otros factores que pueden alterar esta relación, como el

nivel trófico de los macroinvertebrados. Tampoco se identificó una correlación entre el mercurio y la abundancia de los macroinvertebrados (**Figura 3.5**).



**Figura 3.4.** Correlación entre la concentración promedio (media) de mercurio total (THg) (>LOQ) por grupo taxonómico de macroinvertebrados y la longitud corporal promedio (media) de los mismos en los cuerpos de agua de estudio. Las barras en negro expresan la desviación estándar de los valores promedio para aquellos casos donde se tiene más de un dato.



**Figura 3.5.** Correlación entre la concentración promedio (media) de mercurio total (THg) (>LOQ) por grupo taxonómico de macroinvertebrados y su abundancia total en los cuerpos de agua de estudio. Las barras en negro representan la desviación estándar de los valores promedio para aquellos casos donde se tiene más de un dato. La abundancia no presenta desviación al ser una sumatoria.

### 3.2.3 Validez del protocolo

#### 3.2.3.1 Zooplancton

Los resultados del proyecto piloto indican que el protocolo de evaluación rápida propuesto no es adecuado para obtener una masa suficiente de zooplancton que permita estimar las concentraciones de mercurio en los cuerpos de agua lénticos estudiados. Con este protocolo, el zooplancton no funciona como buen bioindicador para monitorear la bioacumulación de mercurio en el área de estudio. A continuación, se justifica esta afirmación aplicando los criterios de validez para el protocolo de monitoreo (sección 2.4.3).

***¿Permite la metodología propuesta diferenciar las concentraciones de THg entre pozas mineras y lagos control?***

No. Durante el proyecto piloto, solo se obtuvieron resultados de la concentración de mercurio en la poza minera Inundación. Por tanto, no fue posible evaluar la diferencia entre las concentraciones de mercurio de los lagos control y las pozas mineras. Para concluir si existen diferencias en las concentraciones de THg entre pozas mineras y lagos control se requeriría una mayor cantidad de resultados >LOQ. Esto se podría lograr incrementando el volumen de agua filtrado en la colecta e incorporando agua de diversos sitios del cuerpo de agua (incluyendo las orillas) para obtener una mayor masa de zooplancton. Del mismo modo, de contar con los recursos necesarios, se podría utilizar una combinación de diferentes métodos de colecta de zooplancton para concentrar una mayor masa.

***¿Permite la metodología propuesta analizar la diferencia en las concentraciones de THg entre los diferentes grupos taxonómicos muestreados?***

No. La metodología propuesta para el análisis de mercurio en zooplancton incluyó la diferenciación entre grupos taxonómicos de forma indirecta. Se puede relacionar a los rotíferos con la fracción 60-500  $\mu\text{m}$  y a los copépodos y branquiópodos con la fracción >500  $\mu\text{m}$ . Sin embargo, la diferenciación en la acumulación de mercurio entre ambas fracciones no pudo ser investigada debido al bajo número de resultados >LOQ. Los resultados de la poza minera Inundación, único cuerpo de agua de estudio con resultados de concentraciones de mercurio >LOQ, evidenciaron que, a pesar de corresponder a diferentes fracciones de muestra, las concentraciones de mercurio fueron similares (60-500  $\mu\text{m}$ : 512 ng/g; >500  $\mu\text{m}$ : 552 ng/g) (**Tabla 3.1**). Por consiguiente, se concluye que el esfuerzo de dividir la muestra en distintas fracciones no fue satisfactorio.

***¿Son las concentraciones de THg coherentes y consistentes con los resultados reportados por estudios científicos previos?***

Inconcluso. La **Tabla 3.7** muestra los resultados de cuatro estudios que reportaron THg (peso seco) en zooplancton. Las concentraciones de mercurio se encontraron en el rango

de 44-316 ng/g. La concentración promedio de mercurio >LOQ para zooplancton en este estudio fue de 532 ng/g, por encima del rango que otros estudios reportan en zooplancton.

**Tabla 3.7.** Concentraciones de mercurio total (THg) en zooplancton reportadas en la literatura.

País	Características del cuerpo de agua	Tamaño de zooplancton	THg (ng/g)	Referencia
China	Reservorio	>77 $\mu\text{m}$	101-316	[33]
Italia	Lago contaminado	>450 $\mu\text{m}$	44-213	[67]
Brasil	Río impactado por la MAPE	>75 $\mu\text{m}$	72-316	[69]
Brasil	Río de aguas negras	>70 $\mu\text{m}$	66-155	[70]
Perú	Pozas mineras	>500 $\mu\text{m}$ 60-500 $\mu\text{m}$	552 512	Este estudio

### 3.2.3.2 Macroinvertebrados

Los resultados del proyecto piloto indican que el protocolo de evaluación rápida propuesto sí es adecuado para evaluar las concentraciones de mercurio en los macroinvertebrados de los cuerpos de agua lénticos estudiados. Por lo tanto, los macroinvertebrados pueden funcionar como buenos bioindicadores para monitorear la bioacumulación de mercurio en el área de estudio. A continuación, se justifica esta afirmación aplicando los criterios de validez para el protocolo de monitoreo (sección 2.4.3) y se mencionan los factores que limitan la aplicación del protocolo.

*¿Permite la metodología propuesta diferenciar las concentraciones de THg entre pozas mineras y lagos control?*

Sí. Las muestras macros<sub>lab</sub> de los lagos control presentaron concentraciones más bajas (rango: 25.94-205.18 ng/g; media: 86.01 ng/g; mediana: 90.11 ng/g;  $\sigma$ : 56.67; n=13) que aquellas de pozas mineras (rango: 113.17-1972.20 ng/g; media: 564.59 ng/g; mediana: 523.97;  $\sigma$ : 423.69; n=22). La **Tabla 3.8** muestra el promedio de las concentraciones de mercurio total (THg) que superaron el LOQ del DMA-80.

De los doce grupos taxonómicos de macroinvertebrados identificados, siete (Belostomatidae, Coleoptera, Coenagrionidae, Libellulidae, Gomphidae, Gastropoda y Glossiphoniiformes) presentaron concentraciones de mercurio por encima del límite de cuantificación del equipo, tanto en pozas mineras como en lagos control. En todos los grupos, con excepción de Gastropoda, la concentración de mercurio fue por lo menos el doble en las pozas mineras que en los lagos control (**Tabla 3.8** y **Figura 3.6**). Por otro lado, en algunos grupos taxonómicos (Corixidae, Caridea, Leptophlebiidae, Polymitarcyidae, y Chironomidae) que no fueron capturados tanto en lagos control como pozas mineras, no fue posible realizar un análisis comparativo.

Si bien se puede asumir que las diferencias en las concentraciones de mercurio responden a la presencia o ausencia de actividad minera en los cuerpos de agua de estudio, existen otros factores, como algunos parámetros biológicos o ecológicos (p. ej. estado del ciclo de vida, hábitat, etc.), que pueden influir en la bioacumulación de mercurio en los organismos (sección 1.3.4).

**Tabla 3.8.** Concentración de mercurio total (THg) en macroinvertebrados de lagos control y pozas mineras a nivel de grupo taxonómico. Se presentan valores promedios (media) en muestras que registraron lecturas por encima del límite de cuantificación (LOQ) del analizador de mercurio. Valores en cursiva corresponden a la desviación estándar.

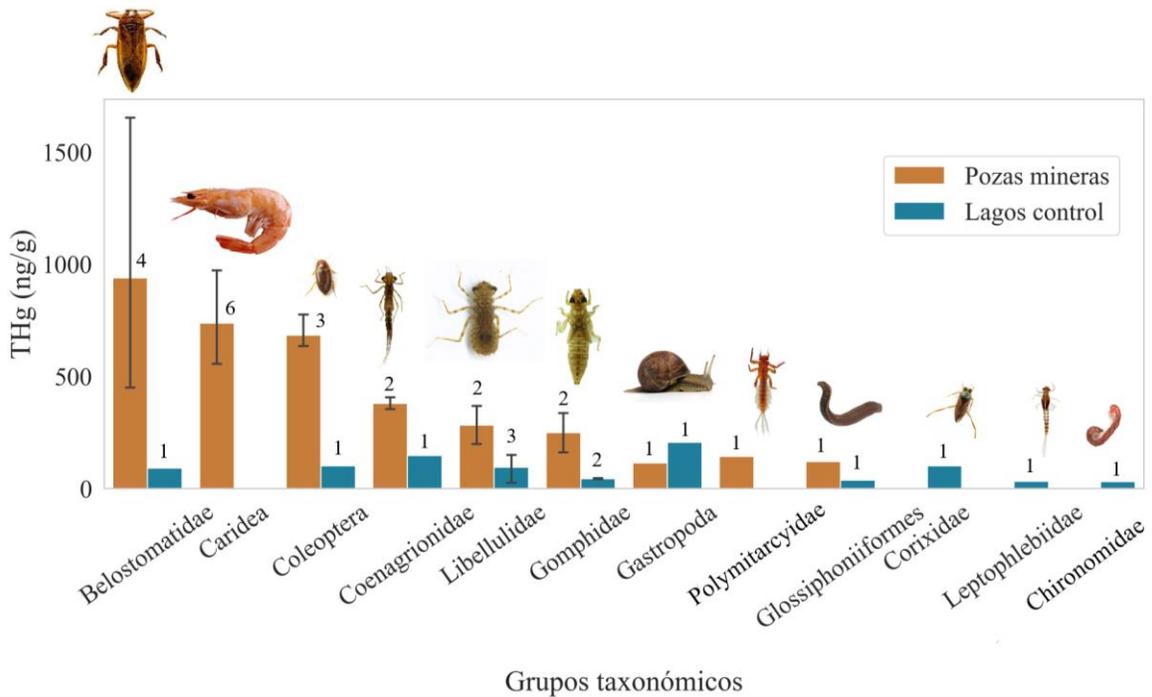
Grupo taxonómico		Lagos control		Pozas mineras		Total
Orden	Familia	THg (ng/g)	#Muestras macroSlab >LOQ	THg (ng/g)	#Muestras macroSlab >LOQ	THg (ng/g)
Hemiptera	Belostomatidae	90.11	1	938.56 (719.08)	4	768.87 (722.59)
	Corixidae/Notonectidae	101.52	1	SD	SD	101.52
Caridea*		SD	SD	736.99 (292.24)	6	736.99 (292.24)
Coleoptera*		100.97	1	682.59 (79.88)	3	537.19 (298.03)
Odonata	Coenagrionidae	147.43	1	379.47 (37.00)	2	302.12 (136.50)
	Libellulidae	94.94 (63.12)	3	282.60 (120.00)	2	170.00 (127.11)
	Gomphidae	43.88 (3.66)	2	248.50 (123.91)	2	146.19 (138.12)
Gastropoda*		205.18	1	113.17	1	159.18 (65.06)
Glossiphoniiformes*		37.54	1	119.94	1	78.74 (58.27)
Ephemeroptera	Leptophlebiidae	31.48	1	SD	SD	31.48
	Polymitarcyidae	SD	SD	142.84	1	142.84
Diptera	Chironomidae	31.29	1	SD	SD	31.29
<b>Total</b>		<b>86.01</b> (56.67)	<b>13</b>	<b>564.59</b> (423.69)	<b>22</b>	<b>386.83</b> (408.73)

SD: sin dato

\*No se logró identificar a nivel de familia

**¿Permite la metodología propuesta analizar la diferencia en las concentraciones de THg entre los diferentes grupos taxonómicos muestreados?**

Sí. En pozas mineras, los grupos taxonómicos que acumularon una mayor concentración de mercurio fueron Belostomatidae, Caridea y Coleoptera seguidos por Coenagrionidae, Libellulidae y Gomphidae (odonatos). Por el contrario, Gastropoda, Glossiniphormes y Polymitarciidae fueron los grupos taxonómicos que acumularon una menor concentración de mercurio (**Figura 3.6, Tabla 3.8**). El alcance de esta investigación no abarca las causas de las variaciones en la concentración de mercurio entre grupos taxonómicos. Sin embargo, las diferencias podrían responder a variaciones en los hábitos alimenticios de cada grupo taxonómico o a la etapa del ciclo de vida en la que se encuentran los organismos capturados (sección 1.4.2). En lagos control, se observó una menor variación en la concentración de mercurio promedio por grupo taxonómico. Los grupos Gastropoda y Chironomidae presentaron las concentraciones promedio más alta y más baja, respectivamente (**Figura 3.6, Tabla 3.6**).



**Figura 3.6.** Concentración promedio (media) de mercurio total (THg) en macroinvertebrados de pozas mineras y lagos control. Se presentan exclusivamente los resultados por encima del

límite de cuantificación (LOQ) del analizador de mercurio. Las barras en negro representan la desviación estándar de los valores promedio para aquellos casos donde se tiene más de un dato.

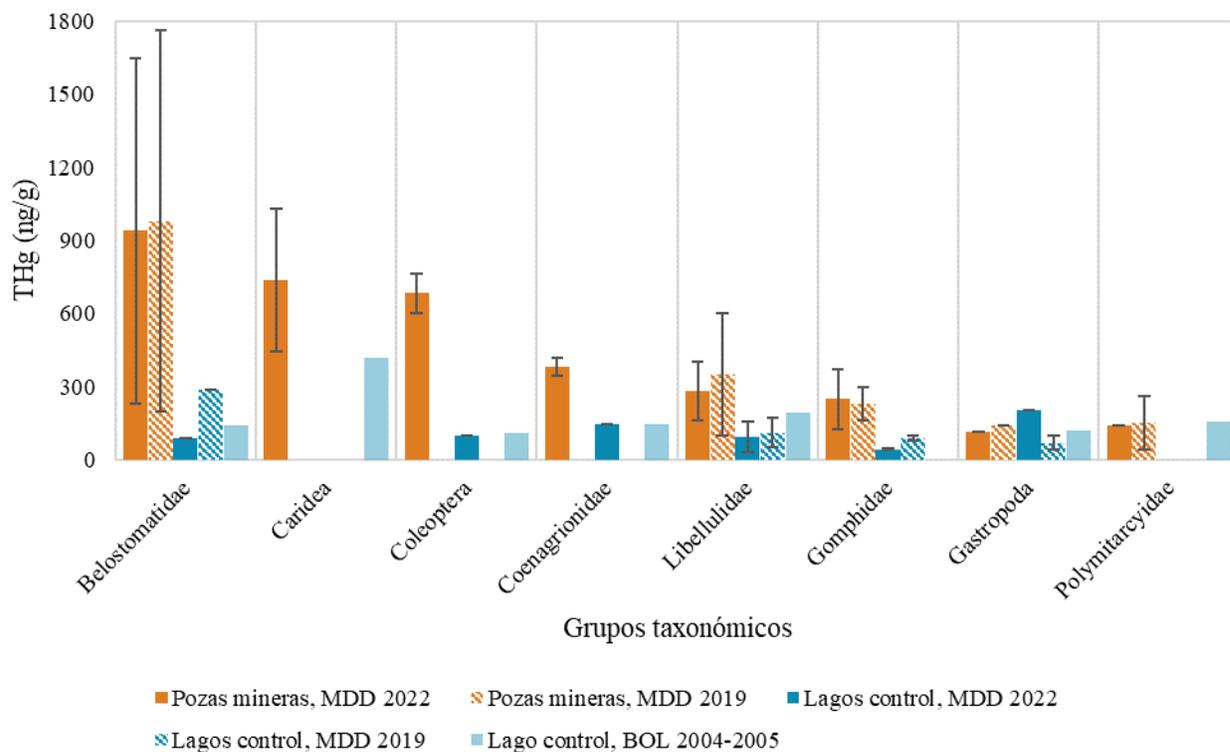
***¿Son las concentraciones de THg coherentes y consistentes con los resultados reportados por estudios científicos previos?***

Sí. Debido a la variación en la concentración de mercurio en los grupos taxonómicos mencionada con anterioridad, la comparación de resultados se realizó con estudios científicos que reportaran los mismos grupos taxonómicos. La concentración promedio de mercurio en ocho de los doce grupos taxonómicos colectados se pudo comparar con resultados reportados en el estudio de Diaz, 2021 [17] y Molina et al., 2010 [74] (**Figura 3.7**).

En 2019, [17] muestreó diez pozas mineras abandonadas (siete creadas por bomba de succión y tres por maquinaria pesada) y cuatro lagos no impactados por la minería (lagos control). De las siete pozas por bomba de succión, tres se ubicaron en el mismo concesionario minero en el que se ubican las pozas mineras estudiadas en este proyecto. Por lo tanto, para comparar los resultados de ambos estudios no se consideró las pozas generadas con maquinaria pesada. Diaz (2021) reportó concentraciones de mercurio en seis grupos taxonómicos de macroinvertebrados; cinco de ellos coinciden con los presentados en este estudio. En todos los casos de comparación, la concentración de THg en pozas mineras fue similar. Asimismo, en los grupos taxonómicos de Belostomatidae, Libellulidae y Gomphidae, la concentración de mercurio en lagos control fue similar e inferior a las concentraciones reportadas en pozas mineras.

Siete grupos taxonómicos reportados en este estudio se pueden contrastar con el estudio de Molina et al. (2010), que reportó concentraciones de mercurio en más de veinte grupos taxonómicos (identificados a nivel de orden, familia o especie) colectados en la Amazonía de Bolivia. En los grupos taxonómicos Belostomatidae, Coleoptera y Coenagrionidae, se observa que la concentración reportada por [74] se asemeja a la reportada en los lagos control de este estudio (**Figura 3.7**), lo que sería de esperarse considerando que el lago muestreado por [74] no especifica un impacto directo de actividades antropogénicas.

Por el contrario, en los grupos taxonómicos de Gastropoda, Polymitarcyidae y Libellulidae, las concentraciones reportadas por [74] se asemejan a las reportados para pozas mineras.



**Figura 3.7.** Comparación de la concentración promedio (media) de mercurio total (THg) en macroinvertebrados. Se comparó este estudio (lagos control y pozas mineras, 2022), el de Diaz (lagos control y pozas mineras, 2019) en Madre de Dios (MDD), y el de Molina et al. (lago control, 2004-2005) en la Amazonía boliviana (BOL). Las barras ausentes indican que el grupo taxonómico no fue colectado o analizado. Las barras en negro representan la desviación estándar de los valores promedio para aquellos casos donde se tiene más de un dato.

La comparación de los resultados, especialmente con el estudio de Diaz (2021) [17], indica que las concentraciones de mercurio obtenidas en pozas mineras y lagos control es aplicable a la región de Madre de Dios, considerando pozas mineras generadas con el método de bomba de succión.

### 3.3 Modelo de priorización de grupos taxonómicos de macroinvertebrados como bioindicadores

La diversidad de macroinvertebrados y la necesidad de incrementar la eficiencia del protocolo diseñado incentiva a priorizar y reducir los grupos taxonómicos a estudiar a futuro. Con base en las concentraciones de mercurio obtenidas en este estudio (**Tabla 3.8**) se podría pensar que aquellos grupos taxonómicos que reportan una mayor acumulación de mercurio (p. ej. Caridea) son los mejores bioindicadores. Sin embargo, esto llevaría a una conclusión errónea. El desarrollo de un modelo de priorización permite encontrar al bioindicador más conveniente considerando distintos criterios que pueden ser de interés para el investigador. Para identificar buenos bioindicadores en el contexto de un estudio multitemporal o multiespacial que busca monitorear la bioacumulación de mercurio en macroinvertebrados, a través de una colecta y procesamiento eficiente, se recomienda considerar el tamaño de los macroinvertebrados, su abundancia, frecuencia, comparabilidad y acumulación de mercurio (sección 2.5).

La **Tabla 3.9** presenta los datos obtenidos para cada criterio considerado en el modelo de priorización de grupos taxonómicos para el monitoreo de la bioacumulación de mercurio en pozas mineras. Las concentraciones de mercurio promedio reportadas en la **Tabla 3.9** corresponden a los niveles >LOQ obtenidos en las muestras  $\text{macro}_{\text{lab}}$ . No obstante, los demás criterios se calcularon en base a las muestras colectadas en campo (muestras  $\text{macro}_{\text{campo}}$ ) para reflejar los valores originales obtenidos antes del descarte de muestras.

La concentración de mercurio ( $H_{\text{tax}}$ ) (sección 3.1.2.3 y 3.2.3.3), abundancia, longitud ( $L_{\text{tax}}$ ) y frecuencia ( $F_{\text{tax}}$ ) (sección 3.1.2.2.) de los grupos taxonómicos han sido previamente descritos a lo largo del documento. En este caso, el criterio Abundancia ( $A_{\text{tax}}$ ) es resultado de la suma de la abundancia relativa de cada grupo taxonómico en los cuatro cuerpos de agua estudiados (ver **Tabla 3** y **4** en **Anexo 5**). Referente a la frecuencia relativa ( $F_{\text{tax}}$ ), se otorgó un valor de 1 ( $4/4$ , equivalente a un 100%) a los grupos taxonómicos (Belostomatidae, Coenagrionidae, y Libellulidae) que fueron encontrados en los cuatro cuerpos de agua estudiados. Asimismo, los grupos que se colectaron en uno solo cuerpo de agua obtuvieron una frecuencia relativa de 0.25 ( $1/4$ , equivalente a un 25%). El criterio de comparabilidad

( $C_{tax}$ ) identifica a los grupos taxonómicos que son de utilidad para realizar comparaciones entre lagos control y pozas mineras. En este caso, siete de los grupos taxonómicos fueron encontrados tanto en pozas mineras como en cuerpos de agua control, por lo que obtuvieron un valor de 1, caso contrario se otorgó un valor de 0.

**Tabla 3.9.** Valores registrados para los criterios considerados en el modelo de priorización de grupos taxonómicos. Concentración promedio de mercurio >LOQ en ng/g ( $H_{tax}$ ), abundancia relativa ( $Ar_{tax}$ ), longitud corporal promedio en cm ( $L_{tax}$ ), frecuencia relativa ( $F_{tax}$ ) y comparabilidad ( $C_{tax}$ ).

Grupo taxonómico		Criterios				
Orden	Familia	$H_{tax}^{**}$	$Ar_{tax}$	$L_{tax}^{**}$	$F_{tax}$	$C_{tax}$
Hemiptera	Belostomatidae	768.87	27.66	1.04	1.00	1
	Corixidae/Notonectidae	101.52	46.25	0.40	0.25	0
Caridea*		736.99	12.13	2.26	0.50	0
Coleoptera*		537.19	129.72	0.27	0.75	1
Odonata	Coenagrionidae	302.12	41.05	1.34	1.00	1
	Libellulidae	170.00	16.73	1.00	1.00	1
	Gomphidae	146.19	4.00	2.19	0.50	1
Gastropoda*		159.18	4.77	1.55	0.50	1
Glossiphoniiformes*		78.74	29.51	0.93	0.75	1
Ephemeroptera	Leptophlebiidae	31.48	56.09	0.77	0.50	0
	Polymitarcyidae	142.84	5.18	1.62	0.50	0
Diptera	Chironomidae	31.29	26.91	0.80	0.25	0

\*No se logró identificar a nivel de familia

\*\*Las desviaciones estándar de los valores promedio  $H_{tax}$  y  $L_{tax}$  se encuentran en las tablas 3.3 y 3.4.

Los valores de la **Tabla 3.9** fueron normalizados en una escala de 0 a 1 para cada criterio (**Tabla 3.10**) para garantizar la comparabilidad entre criterios. Posteriormente, se aplicó un peso a cada factor que integra la ecuación de priorización (sección 2.5). Al ser cinco criterios, el peso promedio inicial sería de 0.20 para cada factor. Sin embargo, el peso de cada factor se ajustó de acuerdo a la importancia de cada criterio. Se otorgó mayor peso a la

longitud corporal de los individuos ( $L_{tax}$ ) ( $X_4=3.0$ ), principalmente porque los macroinvertebrados de mayor tamaño garantizan un muestreo más rápido y eficiente, y usualmente aportan mayor cantidad de mercurio en comparación a organismos más pequeños; y la comparabilidad ( $C_{tax}$ ) ( $X_5=0.25$ ), que permite contrastar la concentración de mercurio en macroinvertebrados provenientes de pozas mineras con aquellos de lagos control. La ecuación para el índice de prioridad  $P_{tax}$  mostrada a continuación muestra el peso otorgado a cada uno de los criterios considerados.

$$P_{tax} = 0.15(h_{tax}) + 0.1(a_{tax}) + 0.3(l_{tax}) + 0.2(f_{tax}) + 0.25(C_{tax})$$

**Tabla 3.10.** Resultados del modelo de priorización. Criterios normalizados: concentración promedio de mercurio ( $h_{tax}$ ), abundancia relativa ( $a_{tax}$ ), longitud corporal promedio ( $l_{tax}$ ), frecuencia ( $f_{tax}$ ), comparabilidad ( $c_{tax}$ ).

Grupo taxonómico		Criterios normalizados					Índice de prioridad $P_{tax}$
Orden	Familia	$h_{tax}$	$a_{tax}$	$l_{tax}$	$f_{tax}$	$c_{tax}$	
Hemiptera	Belostomatidae	1.00	0.19	0.39	1.00	1.00	<b>0.74</b>
	Corixidae/Notonectidae	0.10	0.34	0.07	0.00	0.00	0.07
Caridea*		0.96	0.06	1.00	0.33	0.00	0.52
Coleoptera*		0.69	1.00	0.00	0.67	1.00	0.59
Odonata	Coenagrionidae	0.37	0.29	0.54	1.00	1.00	<b>0.70</b>
	Libellulidae	0.19	0.10	0.37	1.00	1.00	<b>0.60</b>
	Gomphidae	0.16	0.00	0.97	0.33	1.00	<b>0.63</b>
Gastropoda*		0.17	0.01	0.64	0.33	1.00	0.54
Glossiphoniiformes*		0.06	0.20	0.33	0.67	1.00	0.51
Ephemeroptera	Leptophlebiidae	0.00	0.41	0.25	0.33	0.00	0.18
	Polymitarcyidae	0.15	0.01	0.68	0.33	0.00	0.29
Diptera	Chironomidae	0.00	0.18	0.27	0.00	0.00	0.10

\*No se logró identificar a nivel de familia

Las tonalidades verdes indican cercanía al valor máximo para cada criterio. Las tonalidades rojas indican proximidad al valor mínimo para cada criterio.

Los grupos taxonómicos con un valor superior de priorización ( $P_{tax}$ ) son Belostomatidae (0.74) y Coenagrionidae (0.70). De forma general, los odonatos (familia Coenagrionidae, Libellulidae y Gomphidae), al tener tres familias con un  $P_{tax}$  alto (mayor igual 0.6) presentan un gran potencial para monitorearse a nivel de orden. Los resultados obtenidos por el modelo son de especial interés considerando que los grupos taxonómicos mencionados son depredadores, asegurando que las concentraciones de THg son un buen proxy de las concentraciones de MeHg en estos organismos (sección 1.4.2). Los macroinvertebrados de la familia Belostomatidae pueden presentar una buena oportunidad como bioindicadores debido a que usualmente presentan concentraciones de MeHg superiores a los demás grupos taxonómicos y son abundantes [73]. Además, las larvas de libélula (Libellulidae y Gomphidae) han sido utilizadas en otros proyectos de monitoreo a nivel nacional (Estados Unidos) y se ha reportado que sus concentraciones de mercurio guardan relación con las concentraciones acumuladas en peces y anfibios de las mismas ubicaciones [58], indicando su importancia en la red trófica.

Cabe recalcar que los resultados del modelo aplican a estudios que busquen monitorear las concentraciones de THg en macroinvertebrados de la región de Madre de Dios, considerando una comparación entre lagos control y pozas mineras. Los grupos taxonómicos de macroinvertebrados hallados en este proyecto de investigación pueden variar dependiendo del ecosistema (ríos, lagos, pozas), así como de las características fisicoquímicas de los cuerpos de agua y el impacto de la contaminación, considerando que los macroinvertebrados son organismos sensibles a la calidad del agua.

Se recomienda a futuros estudiantes e investigadores del rubro ajustar y aplicar el modelo de priorización con resultados correspondientes a un proyecto piloto en el que se muestren los cuerpos de agua a monitorear.

El protocolo de colecta, identificación, preparación y análisis de muestras de macroinvertebrados se adaptó con base en las observaciones (sección 3.2.1.2) y los resultados del modelo de priorización (**Anexo 4**).

## 4. CONCLUSIONES

1. Los resultados del proyecto piloto indicaron que el protocolo de colecta, identificación, preparación y análisis diseñado no fue adecuado para evaluar las concentraciones de mercurio en el zooplancton de los cuerpos de agua lénticos estudiados. Por lo tanto, considerando la metodología planteada, estos organismos no destacan como bioindicadores apropiados para monitorear la bioacumulación de mercurio en el área de estudio.

2. Los resultados del proyecto piloto indican que el protocolo de colecta, identificación y análisis diseñado para macroinvertebrados sí permite evaluar las concentraciones de mercurio en los macroinvertebrados de los cuerpos de agua lénticos estudiados. Además, los resultados de concentraciones de mercurio en macroinvertebrados cumplieron con los criterios de validez establecidos, pues se evidenció una cuantificación diferenciada entre lagos y pozas control, una variación entre grupos taxonómicos colectados y una relación coherente con las concentraciones reportadas en la literatura para la misma área de estudio.

3. Los datos ambientales de apoyo considerados en este estudio no mostraron relaciones robustas con las concentraciones de mercurio encontradas en macroinvertebrados, a excepción del pH. Sin embargo, se consideró que el número de cuerpos de agua muestreados (4) es una limitante para identificar correlaciones robustas entre las variables. Se recomienda a los investigadores y estudiantes en el rubro continuar reportando los datos de apoyo mencionados en este proyecto, así como valores adicionales en caso los recursos disponibles lo permitan.

4. El modelo numérico sencillo de priorización de macroinvertebrados, ajustado a los objetivos del estudio, identificó que los macroinvertebrados de los grupos taxonómicos Belostomatidae, Coenagrionidae, Libellulidae y Gomphidae serían buenos

bioindicadores para monitorear la concentración de mercurio en pozas mineras abandonadas de la región de Madre de Dios.

5. Los resultados, observaciones y recomendaciones brindadas a lo largo del documento son aplicables al área de estudio delimitada. La ejecución de un proyecto piloto es altamente recomendable antes de iniciar un programa de monitoreo, ya que permite obtener una visión general de los organismos de niveles tróficos inferiores en los cuerpos de agua, identificar limitantes propias de la zona y priorizar bioindicadores.

## 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] A. Brack, C. Ipenza, J. Alvarez, y V. Sotero, *Minería Aurífera en Madre de Dios y Contaminación con Mercurio - Una Bomba de Tiempo*. Lima: Ministerio del Ambiente, 2011.
- [2] R. Valdés, C. Basombrío, y D. Vera, «La minería no formal en el Perú. Realidades, tendencias y ¿soluciones?», 2019. [En línea]. Disponible en: [www.kas.de/peru/es](http://www.kas.de/peru/es)
- [3] J. R. Gerson *et al.*, «Artificial lake expansion amplifies mercury pollution from gold mining», *Sci Adv*, vol. 6, n.º 48, pp. 4953-4980, nov. 2020, doi: 10.1126/SCIADV.ABD4953.
- [4] M. Arana y P. Montoya, «Reporte de Inventario: Estimaciones de referencia del uso y consumo de mercurio en la minería de oro artesanal y de pequeña escala en Perú», *Artisanal Gold Council*, 2017.
- [5] J. Caballero Espejo, M. Messinger, F. Román-Dañobeytia, C. Ascorra, L. E. Fernandez, y M. Silman, «Deforestation and Forest Degradation Due to Gold Mining in the Peruvian Amazon: A 34-Year Perspective», *Remote Sensing 2018, Vol. 10, Page 1903*, vol. 10, n.º 12, p. 1903, nov. 2018, doi: 10.3390/RS10121903.
- [6] J. Araujo-Flores, F. Román, M. Silman, R, y L. Fernandez, «Biodiversidad acuática de pozas abandonadas por minería de oro en Madre de Dios - Perú (Resumen de Investigacion CINCIA #3)», 2018.
- [7] UNEP/AMAP, «Technical Background Report for the Global Mercury Assessment», 2013. [En línea]. Disponible en: <http://unep.org/hazardoussubstances/>
- [8] M. Moreno-Brush, J. Rydberg, N. Gamboa, I. Storch, y H. Biester, «Is mercury from small-scale gold mining prevalent in the southeastern Peruvian Amazon?», *Environmental Pollution*, vol. 218, pp. 150-159, 2016, doi: 10.1016/j.envpol.2016.08.038.
- [9] Defensoría del Pueblo, *Informe Defensorial N.º 160 Gestión del Estado frente a la Minería Informal e Ilegal en el Perú*, 1.ª ed. 2013.
- [10] H. Hsu-Kim, K. H. Kucharzyk, T. Zhang, y M. A. Deshusses, «Mechanisms regulating mercury bioavailability for methylating microorganisms in the aquatic environment: A critical review», *Environ Sci Technol*, vol. 47, n.º 6, pp. 2441-2456, mar. 2013, doi: 10.1021/es304370g.
- [11] B. A. Branfireun, C. Cosio, A. J. Poulain, G. Riise, y A. G. Bravo, «Mercury cycling in freshwater systems - An updated conceptual model», *Science of The Total Environment*, vol. 745, nov. 2020, Accedido: 20 de octubre de 2021. [En línea]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32758756/>

- [12] V. Celo, D. R. S. Lean, y S. L. Scott, «Abiotic methylation of mercury in the aquatic environment», *Science of The Total Environment*, vol. 368, n.º 1, pp. 126-137, sep. 2006, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2005.09.043.
- [13] J. Dutton y N. S. Fisher, «Bioaccumulation of As, Cd, Cr, Hg(II), and MeHg in killifish (*Fundulus heteroclitus*) from amphipod and worm prey», *Science of the Total Environment*, vol. 409, pp. 3438-3447, 2011, doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.05.022.
- [14] M. Moreno-Brush, D. S. McLagan, y H. Biester, «Fate of mercury from artisanal and small-scale gold mining in tropical rivers: Hydrological and biogeochemical controls. A critical review», *Crit Rev Environ Sci Technol*, vol. 50, n.º 5, pp. 437-475, 2020, doi: 10.1080/10643389.2019.1629793.
- [15] J. A. May Júnior *et al.*, «Mercury content in the fur of Jaguars (*Panthera onca*) from two areas under different levels of gold mining impact in the Brazilian pantanal», *An Acad Bras Cienc*, vol. 90, n.º 2, pp. 2129-2139, 2018, doi: 10.1590/0001-3765201720170190.
- [16] S. de S. Hacon *et al.*, «Mercury Exposure through Fish Consumption in Traditional Communities in the Brazilian Northern Amazon», *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2020, Vol. 17, Page 5269, vol. 17, n.º 15, p. 5269, jul. 2020, doi: 10.3390/IJERPH17155269.
- [17] J. Diaz, «Ecologies of Gold: Understanding the social, political, and ecological impacts of mercury use in informal, small-scale gold mining in Madre de Dios, Peru», 2021.
- [18] C. M. Vega, J. Araujo, F. Román, y L. E. Fernandez, «Mercurio en peces de pozas mineras en Madre de Dios. (Resumen de Investigación CIN CIA #2)», 2018.
- [19] M. P. Garcia Veramatus, C. Vega, L. Fernández, J. Araújo-Flores, y M. Moreno Brush, «Resumen de Investigación N° 03. Mercurio en peces y el riesgo ecotoxicológico para peces y aves piscívoras de Madre de Dios, Amazonía peruana», 2023.
- [20] S. E. Diringer *et al.*, «River transport of mercury from artisanal and small-scale gold mining and risks for dietary mercury exposure in Madre de Dios, Peru», *Environmental Sciences: Processes and Impacts*, vol. 17, n.º 2, pp. 478-487, feb. 2015, doi: 10.1039/c4em00567h.
- [21] J. Chételat, J. T. Ackerman, C. A. Eagles-Smith, y C. E. Hebert, «Methylmercury exposure in wildlife: A review of the ecological and physiological processes affecting contaminant concentrations and their interpretation», *Science of the Total Environment*, vol. 711, 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135117.
- [22] C. A. Eagles-Smith *et al.*, «Modulators of mercury risk to wildlife and humans in the context of rapid global change», *Ambio*, vol. 47, n.º 2, pp. 170-197, 2018, doi: 10.1007/s13280-017-1011-x.

- [23] R. Karimi, C. Y. Chen, y C. L. Folt, «Comparing nearshore benthic and pelagic prey as mercury sources to lake fish: the importance of prey quality and mercury content», *Science of The Total Environment*, vol. 565, pp. 211-221, 2016, doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.04.162.
- [24] K. K. Kahilainen *et al.*, «Seasonal dietary shift to zooplankton influences stable isotope ratios and total mercury concentrations in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* (L.))», *Hydrobiologia*, vol. 783, n.º 1, pp. 47-63, dic. 2016, doi: 10.1007/s10750-016-2685-y.
- [25] M. Lindholm, H. A. De Wit, T. E. Eriksen, y H. F. V. Braaten, «The influence of littoral on mercury bioaccumulation in a humic lake», *Water Air Soil Pollut*, vol. 225, n.º 10, sep. 2014, doi: 10.1007/s11270-014-2141-4.
- [26] G. Cabana *et al.*, «Pelagic Food Chain Structure in Ontario Lakes: A Determinant of Mercury Leve in Lake Trout (*Salvelinus namaycush*)», 1994. [En línea]. Disponible en: [www.nrcresearchpress.com](http://www.nrcresearchpress.com)
- [27] A. R. Paranjape y B. D. Hall, «Recent advances in the study of mercury methylation in aquatic systems», *FACETS*, vol. 2, n.º 1, pp. 85-119, may 2017, doi: 10.1139/facets-2016-0027.
- [28] B. Malcata Martins, N. J. O’Driscoll, M. L. Mallory, y J. Canário, «A Review of Freshwater Invertebrates as Biomonitors of Methylmercury: the Importance of More Complete Physical and Chemical Reporting», *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 107, n.º 5. Springer, pp. 801-808, 1 de noviembre de 2021. doi: 10.1007/s00128-021-03274-9.
- [29] A. M. Gagneten y M. R. Marchese, *Ambientes acuáticos de la provincia de Santa Fe: Protocolos de monitoreo con perspectiva socioecológica*. 2022.
- [30] J. Peralta-Argomeda, J. M. Araújo- Flores, L. Rodríguez-Achata, J. Prenda Marín, y R. Loayza Muro, «Guía de Macroinvertebrados Acuáticos de Madre de Dios-Perú. », 2015. Accedido: 27 de abril de 2023. [En línea]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/301222012\\_Guia\\_de\\_Macroinvertebrados\\_Acuaticos\\_de\\_Madre\\_de\\_Dios-Peru\\_Proyecto\\_HED\\_Universidad\\_Nacional\\_Amazonica\\_de\\_Madre\\_de\\_Dios\\_y\\_Universidad\\_de\\_Florida\\_Serie\\_Tecnica\\_64pp\\_Junio\\_2015](https://www.researchgate.net/publication/301222012_Guia_de_Macroinvertebrados_Acuaticos_de_Madre_de_Dios-Peru_Proyecto_HED_Universidad_Nacional_Amazonica_de_Madre_de_Dios_y_Universidad_de_Florida_Serie_Tecnica_64pp_Junio_2015)
- [31] R. J. Haro, S. W. Bailey, R. M. Northwick, K. R. Rolffhus, M. B. Sandheinrich, y J. G. Wiener, «Burrowing dragonfly larvae as biosentinels of methylmercury in freshwater food webs», *Environ Sci Technol*, vol. 47, n.º 15, pp. 8148-8156, ago. 2013, doi: 10.1021/ES401027M/SUPPL\_FILE/ES401027M\_SI\_001.PDF.
- [32] UNEP, «Guidance for Conducting a Rapid Environmental Mercury Assessment of Artisanal and Small Scale Gold Mining Sites», 2019.
- [33] S. X. Long *et al.*, «Differential bioaccumulation of mercury by zooplankton taxa in a mercury-contaminated reservoir Guizhou China», *Environmental Pollution*, vol. 239, pp. 147-160, ago. 2018, doi: 10.1016/j.envpol.2018.04.008.

- [34] M. Kainz y A. Mazumder, «Effect of Algal and Bacterial Diet on Methyl Mercury Concentrations in Zooplankton», *Environ Sci Technol*, vol. 39, n.º 6, pp. 1666-1672, 2005, doi: 10.1021/es049119o.
- [35] M. M. Chumchal *et al.*, «Mercury speciation and biomagnification in the food web of Caddo Lake, Texas and Louisiana, USA, a subtropical freshwater ecosystem», *Environ Toxicol Chem*, vol. 30, n.º 5, pp. 1153-1162, may 2011, doi: 10.1002/etc.477.
- [36] UN Environment, «Global Mercury Assessment 2018», Geneva, Switzerland, 2019.
- [37] T. Hentschel, F. Hruschka, y M. Priester, *Artisanal and small-scale mining : challenges and opportunities*. IIED, 2003.
- [38] E. Vega, F. Paredes, M. Valcárcel, y A. Huaytalla, *La minería ilegal en la Amazonía peruana*. 2021. [En línea]. Disponible en: [www.preveniramazonia.pe](http://www.preveniramazonia.pe)
- [39] N. Steckling *et al.*, «Global Burden of Disease of Mercury Used in Artisanal Small-Scale Gold Mining», *Ann Glob Health*, vol. 83, n.º 2, pp. 234-247, mar. 2017, doi: 10.1016/j.aogh.2016.12.005.
- [40] WHO, «PREVENTING DISEASE THROUGH HEALTHY ENVIRONMENTS EXPOSURE TO MERCURY: A MAJOR PUBLIC HEALTH CONCERN», Geneva, 2007.
- [41] O. Paz Campusano, «Madre de Dios: tras el rastro de los culpables de una década de devastación de la minería ilegal», *El Comercio*.
- [42] M. E. Crespo-Lopez *et al.*, «Mercury: What can we learn from the Amazon?», *Environ Int*, vol. 146, p. 106223, ene. 2021, doi: 10.1016/J.ENVINT.2020.106223.
- [43] Ministerio de Energía y Minas (Minem), «La problemática de la minería informal», <https://www.slideshare.net/957471213/mineria-informal-30118677>.
- [44] USAID, *Case Study: Artisanal and Small-Scale Mining in Madre de Dios, Peru*. 2020.
- [45] K. Paiva, P. Rau, D. Horna, E. Langendoen, y M. Moreno Brush, «Resumen de Investigación N° 02. El aumento de la deforestación en la cuenca del río Madre de Dios, Amazonía peruana, incrementaría la escorrentía superficial y la concentración de sedimentos», 2023.
- [46] Y. Estrada *et al.*, «Resumen de Investigación N° 04. Influencia de la minería aurífera aluvial en la geodinámica fluvial del río Madre de Dios, Amazonía peruana, en el periodo 1984-2020», 2023.
- [47] C. Timana *et al.*, «Resumen de Investigación N° 01. Inventario biológico rápido en comunidades acuáticas evidencia deterioro ambiental por minería aurífera aluvial en el río Madre de Dios (Perú)», 2023.

- [48] M. Finer y S. Novoa, «MAAP #72: Otra Zona Crítica de Deforestación Minera: Alto Malinowski (Madre de Dios)», Amazon Conservation Association (ACA) and Conservación Amazónica (ACCA). Accedido: 10 de octubre de 2021. [En línea]. Disponible en: <https://maaproject.org/2017/alto-malinowski-2017/>
- [49] Y. Sierra Praeli, «Perú: imágenes exclusivas muestran minería ilegal en la Reserva Nacional Tambopata», Mongabay LATAM. Accedido: 10 de octubre de 2021. [En línea]. Disponible en: <https://es.mongabay.com/2018/11/peru-mineria-ilegal-reserva-nacional-tambopata/>
- [50] F. García, «¿Qué es La Pampa y por qué era tan peligrosa esta zona de Madre de Dios?», El Comercio. Accedido: 10 de octubre de 2021. [En línea]. Disponible en: <https://elcomercio.pe/peru/madre-de-dios/pampa-origen-enclave-mineria-ilegal-noticia-609033-noticia/>
- [51] «Gobierno reforesta en Tambopata pero avanza minería ilegal en Madre de Dios», CooperAcción. Accedido: 10 de octubre de 2021. [En línea]. Disponible en: <https://cooperaccion.org.pe/gobierno-reforesta-en-tambopata-pero-avanza-mineria-ilegal-en-madre-de-dios/>
- [52] Organización Panamericana de la Salud, *Cooperación técnica entre Brasil, Bolivia y Colombia: teoría y práctica para el fortalecimiento de la vigilancia de salud de poblaciones expuestas a mercurio*, 1.<sup>a</sup> ed. La Paz: All Type Assessoria Editorial Ltda, 2011.
- [53] M. Kapahi y S. Sachdeva, «Bioremediation Options for Heavy Metal Pollution», *J Health Pollut*, vol. 9, n.º 24, dic. 2019, doi: 10.5696/2156-9614-9.24.191203.
- [54] Y. Uryu, O. Malm, I. Thornton, I. Payne, y D. Cleary, «Mercury contamination of fish and its implications for other wildlife of the Tapajós basin, Brazilian Amazon», *Conservation Biology*, vol. 15, n.º 2, pp. 438-446, 2001, doi: 10.1046/j.1523-1739.2001.015002438.x.
- [55] H. Hsu-Kim *et al.*, «Challenges and opportunities for managing aquatic mercury pollution in altered landscapes», *Ambio*, vol. 47, n.º 2, pp. 141-169, 2018, doi: 10.1007/s13280-017-1006-7.
- [56] F. M. M. Morel, A. M. L. Kraepiel, y M. Amyot, «The chemical cycle and bioaccumulation of mercury», *Annu. Rev. Ecol. Syst*, vol. 29, pp. 543-66, 1998, Accedido: 27 de octubre de 2021. [En línea]. Disponible en: [www.annualreviews.org](http://www.annualreviews.org)
- [57] P. Liu, C. J. Ptacek, D. W. Blowes, y W. Douglas Gould, «Control of mercury and methylmercury in contaminated sediments using biochars: A long-term microcosm study », *Applied Geochemistry*, vol. 92, pp. 30-44, 2018, doi: 10.1016/j.apgeochem.2018.02.004.
- [58] C. A. Eagles-Smith *et al.*, «A national-scale assessment of mercury bioaccumulation in United States national parks using dragonfly larvae as biosentinels through a citizen-science framework», *Environ Sci Technol*, vol. 54, n.º 14, pp. 8779-8790, jul. 2020, doi: 10.1021/acs.est.0c01255.

- [59] M. Vieira, J. V. E. Bernardi, J. G. Dórea, B. C. P. Rocha, R. Ribeiro, y L. F. Zara, «Distribution and availability of mercury and methylmercury in different waters from the Rio Madeira Basin, Amazon», *Environmental Pollution*, vol. 235, pp. 771-779, abr. 2018, doi: 10.1016/j.envpol.2018.01.020.
- [60] R. J. Strickman, «Methylmercury in Managed Wetlands», 2017.
- [61] M. Power, G. M. Klein, K. R. R. A. Guiguer, y M. K. H. Kwan, «Mercury accumulation in the fish community of a sub-Arctic lake in relation to trophic position and carbon sources», *Journal of Applied Ecology*, vol. 39, n.º 5, pp. 819-830, 2002, doi: 10.1046/j.1365-2664.2002.00758.x.
- [62] R. Canham, A. M. González-Prieto, y J. E. Elliott, «Mercury Exposure and Toxicological Consequences in Fish and Fish-Eating Wildlife from Anthropogenic Activity in Latin America», *Integr Environ Assess Manag*, vol. 17, n.º 1, pp. 13-26, 2021, doi: 10.1002/ieam.4313.
- [63] M. T. K. Tsui y W.-X. Wang, «Uptake and Elimination Routes of Inorganic Mercury and Methylmercury in *Daphnia magna*», *Environmental Science & Technology*, vol. 38, n.º 3, pp. 808-816, 2004, doi: 10.1021/es034638x.
- [64] M. Seelos, M. Beutel, S. McCord, S. Kim, y K. Vigil, «Plankton population dynamics and methylmercury bioaccumulation in the pelagic food web of mine-impacted surface water reservoirs», *Hydrobiologia*, vol. 849, n.º 21, pp. 4803-4822, dic. 2022, doi: 10.1007/s10750-022-05018-0.
- [65] E. L. do Nascimento *et al.*, «Dynamics of mercury in the plankton of a hydroelectric reservoir, Western Amazon», *Environ Monit Assess*, vol. 192, n.º 10, oct. 2020, doi: 10.1007/s10661-020-08600-y.
- [66] C. J. Watras y N. S. Bloom, «Mercury and methylmercury in individual zooplankton: Implications for bioaccumulation», *Limnol Oceanogr*, vol. 37, n.º 6, pp. 1313-1318, 1992.
- [67] L. Marziali, R. Piscia, L. Valsecchi, C. Roscioli, y M. Manca, «Zooplankton as Mercury Repository in Lake Maggiore (Northern Italy): Biomass Composition and Stable Isotope Analysis», *Water (Switzerland)*, vol. 14, n.º 5, mar. 2022, doi: 10.3390/w14050680.
- [68] M. T. K. Tsui y W.-X. Wang, «Acute Toxicity of Mercury to *Daphnia magna* under Different Conditions», *Environ Sci Technol*, vol. 40, n.º 12, pp. 4025-4030, jun. 2006, doi: 10.1021/es052377g.
- [69] A. S. Lino, D. Kasper, Y. S. Guida, J. R. Thomaz, y O. Malm, «Total and methyl mercury distribution in water, sediment, plankton and fish along the Tapajós River basin in the Brazilian Amazon», *Chemosphere*, vol. 235, pp. 690-700, nov. 2019, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.06.212.

- [70] D. Kasper, B. R. Forsberg, H. do Amaral Kehrig, J. H. F. Amaral, W. R. Bastos, y O. Malm, «Mercury in Black-Waters of the Amazon», en *Igapó (Black-water flooded forests) of the Amazon Basin*, Springer International Publishing, 2018, pp. 39-56. doi: 10.1007/978-3-319-90122-0.
- [71] K. Riva-Murray, P. M. Bradley, y M. E. Brigham, «Methylmercury—total mercury ratios in predator and primary consumer insects from Adirondack streams (New York, USA)», *Ecotoxicology*, vol. 29, n.º 10, pp. 1644-1658, dic. 2020, doi: 10.1007/s10646-020-02191-7.
- [72] T. Sizmur, J. Canário, S. Edmonds, A. Godfrey, y N. J. O’Driscoll, «The polychaete worm *Nereis diversicolor* increases mercury lability and methylation in intertidal mudflats», *Environ Toxicol Chem*, vol. 32, n.º 8, pp. 1888-1895, ago. 2013, doi: 10.1002/etc.2264.
- [73] G. Bakonyi, T. Vásárhelyi, y B. Szabó, «Pollution impacts on water bugs (Nepomorpha, Gerromorpha): state of the art and their biomonitoring potential», *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 194, n.º 4. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 1 de abril de 2022. doi: 10.1007/s10661-022-09961-2.
- [74] C. I. Molina, F. M. Gibon, J. L. Duprey, E. Dominguez, J. R. D. Guimarães, y M. Roulet, «Transfer of mercury and methylmercury along macroinvertebrate food chains in a floodplain lake of the Beni River, Bolivian Amazonia», *Science of the Total Environment*, vol. 408, n.º 16, pp. 3382-3391, jul. 2010, doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.04.019.
- [75] Y. Dominique *et al.*, «Biofilm and mercury availability as key factors for mercury accumulation in fish (*Curitama Cyprinoides*) from a disturbed Amazonian freshwater system», 2007. [En línea]. Disponible en: <http://www.epa.gov/waterscience/methods/>
- [76] M. Arcagni *et al.*, «Species- and habitat-specific bioaccumulation of total mercury and methylmercury in the food web of a deep oligotrophic lake», *Science of The Total Environment*, vol. 612, pp. 1311-1319, ene. 2018, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2017.08.260.
- [77] Araujo Julio y Macedo Miguel, «CINCIA Protocolos de Métodos H-001. Muestreo Acuático en Pozas Abandonadas por la Minería - Plancton», 2021.
- [78] Universidad Nacional Mayor de San Marcos y Museo de Historia Natural, «Métodos de colecta identificación y análisis de comunidades biológicas: plancton, perifiton, bentos (macroinvertebrados) y necton (peces) en aguas continentales del Perú», 2014.
- [79] Gabriel. Roldán Pérez, *Guía para el estudio de los macroinvertebrados acuáticos del Departamento de Antioquia*. Fondo para la Protección del Medio Ambiente «José Celestino Mutis», 1996.
- [80] U.S. EPA, «EPA Method 7473 (SW-846): Mercury in Solids and Solutions by Thermal Decomposition, Amalgamation, and Atomic Absorption Spectrophotometry», 1998.

- [81] C. Vega y J. Pisconte, «CINCIA Protocolos de Métodos M-002: Guía operacional del Equipo Milestone DMA-80 Direct Mercury Analyzer», *Centro de Innovación Científica Amazónica*, 2020.
- [82] C. Vega y J. Pisconte, «CINCIA Protocolos de Métodos M-007: Análisis de Mercurio Total en Músculo de Pescado», pp. 1-10, 2020.
- [83] L. Cutipa y J. Araujo, «Calidad de aguas urbanas y periurbanas de Puerto Maldonada, Madre de Dios-Perú», Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, 2012.
- [84] F. Cabanillas, F. Román, M. R. Silman, y L. E. Fernandez, «Reforestación y restauración de paisajes amazónicos degradados por minería: análisis de especies y enmiendas (Resumen de Investigación CINCIA #4)», *Centro de Innovación Científica Amazónica*, 2019, [En línea]. Disponible en: <http://cincia.wfu.edu/wp-content/uploads/RB-REFORESTACIÓN-Y-RESTAURACIÓN-DE-PAISAJES-AMAZÓNICOS-DEGRADADOS-POR-MINERÍA-ANÁLISIS-DE-ESPECIES-Y-ENMIENDAS.pdf>
- [85] F. Cabanillas, E. Condori, y L. Llerena, «Restauración de áreas degradadas por la extracción minera aurífera en Madre de Dios», 2019. Accedido: 25 de abril de 2023. [En línea]. Disponible en: [https://d2ouvy59p0dg6k.cloudfront.net/downloads/restauracion\\_mdd\\_1.pdf](https://d2ouvy59p0dg6k.cloudfront.net/downloads/restauracion_mdd_1.pdf)
- [86] D. A. Armbruster y T. Pry, «Limit of Blank, Limit of Detection and Limit of Quantitation», 2008.
- [87] M. Scheffer, *Critical transitions in nature and society*. Princeton University Press, 2009.
- [88] J. D. Wolfe, O. P. Lane, R. Mark Brigham, y B. D. Hall, «Mercury exposure to red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*) and dragonfly (Odonata: Aeshnidae) nymphs in Prairie Pothole wetlands», *Facets*, vol. 3, n.º 1, pp. 174-191, 2018, doi: 10.1139/facets-2017-0086.
- [89] L. Marziali, C. Roscioli, y L. Valsecchi, «Mercury bioaccumulation in benthic invertebrates: From riverine sediments to higher trophic levels», *Toxics*, vol. 9, n.º 9, ago. 2021, doi: 10.3390/toxics9090197.

## **ANEXOS**

## **Anexo 1: Materiales, equipos y reactivos**

### **1. Generales**

- Equipo GPS marca Garmin modelo Oregon 700 con baterías
- Cinta de teflón
- Cinta de embalaje
- Marcador indeleble
- Cuaderno de campo
- Bote inflable, remos e inflador

### **2. Colecta de muestras**

#### *Muestras de zooplancton*

- Red de nylon para zooplancton (45  $\mu\text{m}$ ) con colector de plástico (200 ml)
- Balde de plástico (20 L)
- Envases de plástico con protector/seguro y tapa de rosca (200 ml)
- Embudo de jebe
- Cooler (5 L)
- Gel packs (5 unidades)

#### *Muestras de macroinvertebrados*

- Red de nylon D-net (500  $\mu\text{m}$ ) con mango de aproximadamente 100 cm de largo
- Balde de plástico (20 L)
- Botella de plástico transparente (1 L)

### **3. Datos de apoyo**

- Balde de plástico (20 L)
- Multiparámetro digital modelo YSI Pro Plus
- Disco Secchi
- Cinta métrica

#### **4. Identificación y preparación de muestras**

##### *Muestras de zooplancton*

- Envases plásticos blancos de 170 ml (2 unidades)
- Jeringa de plástico
- Pipetas de plástico
- linterna
- Placas de Petri
- Tamices PVC con malla de nylon (2 unidades, 60 y 500  $\mu\text{m}$ )
- Sistema de filtración al vacío:
  - Matraz de kitasato (2 unidades, 500 ml)
  - Varilla de vidrio
  - Adaptador de goma
  - Unidad de filtración: Vaso de filtración magnético, base magnética de soporte y tapa de plástico
  - Tubos de jebe para conexiones (2 unidades)
  - Bomba de vacío.
- Filtros de nitrocelulosa (0.45  $\mu\text{m}$ ) marca SAMIEX
- Piseta
- Agua destilada
- Bolsas Whirl-Pak 120 ml (15 unidades)
- Refrigerador
- Congelador
- Liofilizador Liobras L101

##### *Muestras de macroinvertebrados*

- Tamices con malla de acero inoxidable (3 unidades, 0.3 cm, 0.6 cm y 1 cm)
- Bandeja blanca de plástico
- Envases plásticos blancos (aproximadamente 300 ml, 2 unidades )
- Pinzas de plástico o acero inoxidable

- Pipetas de plástico descartable
- Envases de plástico de 50 ml con tapa de rosca
- Tamiz PVC con malla de nylon (500 µm)
- Placas de Petri
- Piseta
- Regla milimetrada (20 cm)
- Bolsas Ziploc (50 unidades, 16.5 x 11 cm)
- Refrigerador
- Congelador
- Liofilizador Liobras L101

### **Análisis de mercurio total<sup>1</sup>**

- Botes de muestra de níquel
- Para el control de calidad analítico:
  - Soluciones estándar de mercurio (10 ng y 40 ng)
  - Materiales de referencia certificado: DORM- 4 (412 ng/g) e IAEA-436 (4190 ng/g)
- Ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) al 10% para la limpieza del equipo
- Pinzas de acero inoxidable
- Bisturí de acero inoxidable (para las muestras de zooplancton)
- Pinza angulada
- Analizador Directo de Mercurio - DMA 80 Milestone

---

<sup>1</sup> Los materiales utilizados se encuentran especificados en el Protocolo de Métodos M-002 de CINCIA: Guía operacional del Equipo Milestone DMA-80 Direct Mercury Analyzer

## Anexo 2: Cálculo del área de los cuerpos de agua muestreados en la plataforma Qgis

Importar coordenadas UTM.

Nombre de archivo: C:\Users\maria\Downloads\Book1.csv

Nombre de la capa: Book1 Codificación: UTF-8

**Formato de archivo**

CSV (valores separados por coma)  Tabulador  Dos puntos  Espado

Delimitador de expresión regular  Punto y coma  Coma Otros: ;

Delimitadores personalizados Comilla: " Escape: "

**Opciones de registros y campos**

**Definición de geometría**

Coordenadas del punto Campo X: X Campo Z:

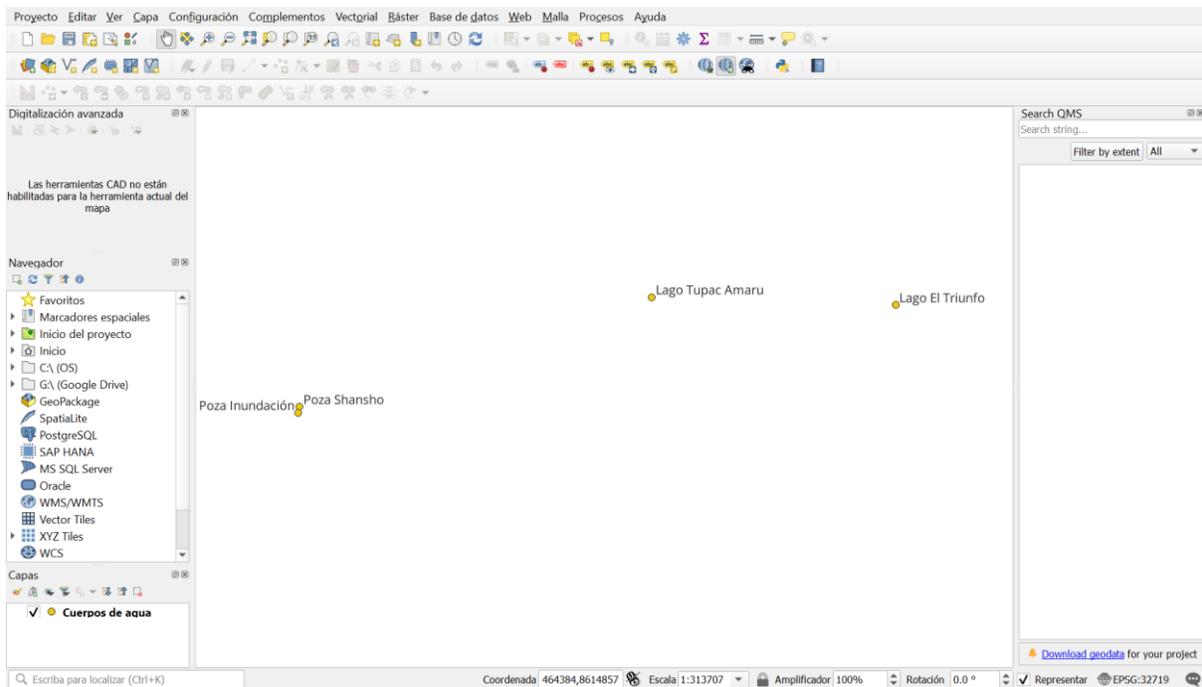
Texto bien conocido (WKT) Campo Y: Y Campo M:

Ninguna geometría (tabla solo de atributos)  Coordenadas GMS SRC de la geometría: Project CRS: EPSG:32719 - WGS 84 / UTM zone 19S

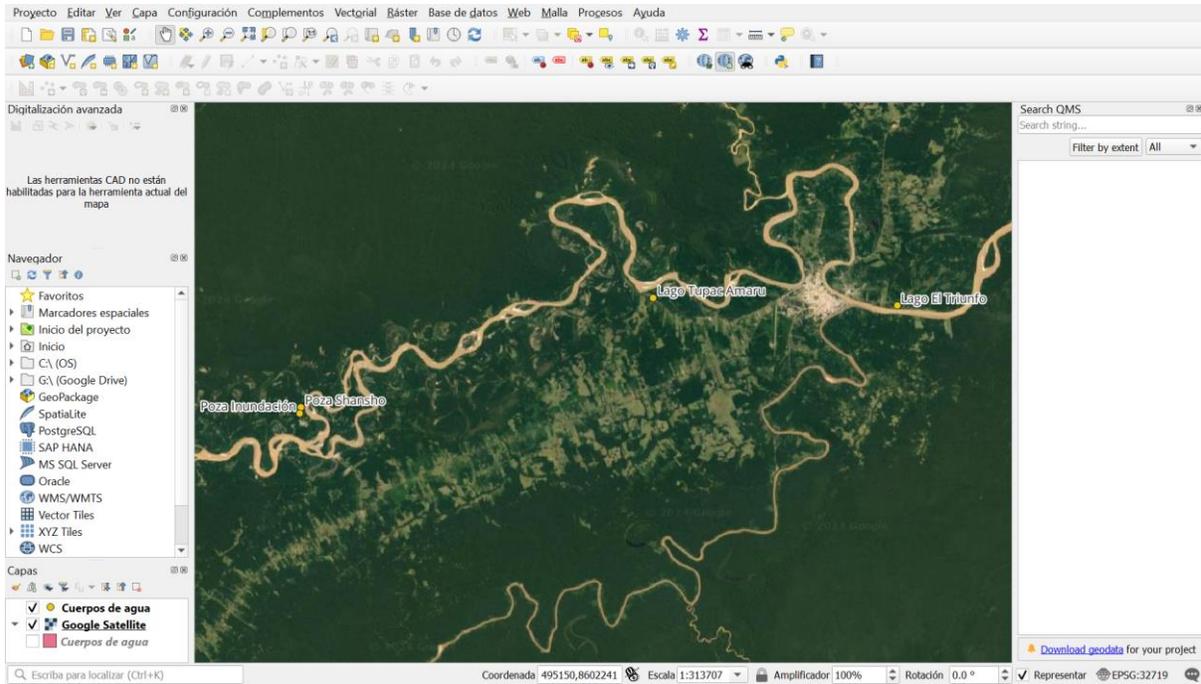
**Configuraciones de capa**

**Datos de ejemplo**

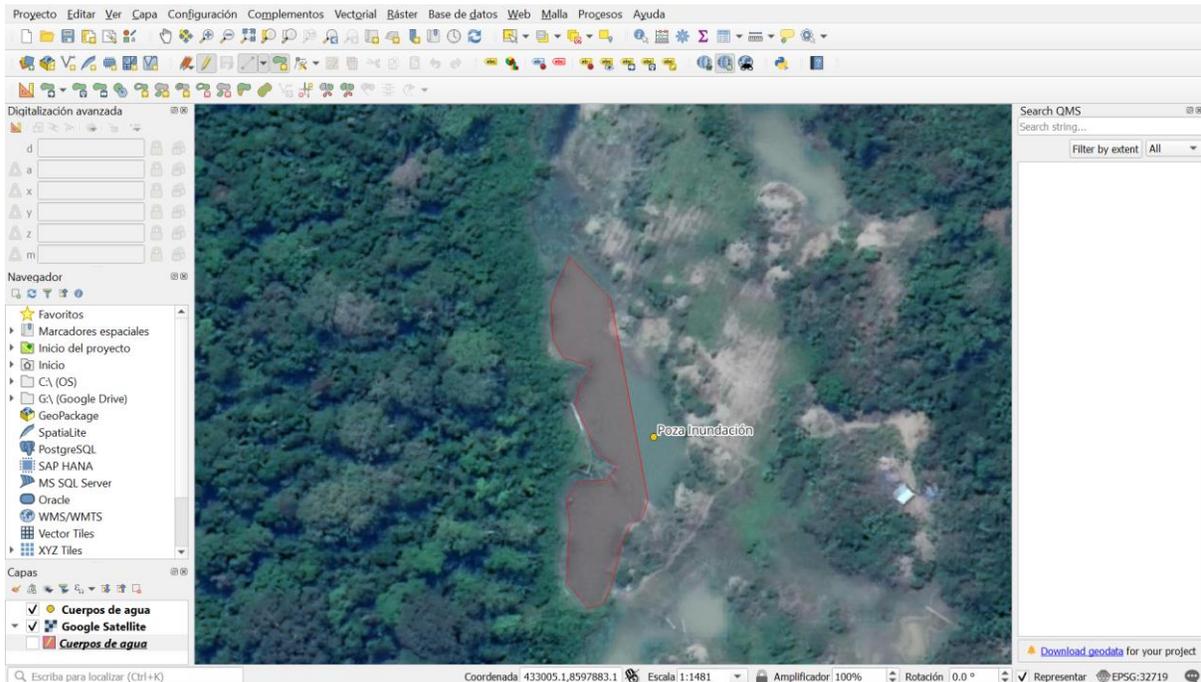
	field_1	X	Y
	abc Texto (cadena)	123 Entero (32 bit)	123 Entero (32 bit)
1	Lago Tupac Amaru	464333	8608073
2	Lago El Triunfo	485941	8607363
3	Poza Shansho	433119	8598351
4	Poza Inundación	433023	8597825



Activar plugin QuickMapServices: Google Satellite. Estas son las imágenes disponibles con mayor resolución, superior a Sentinel-2 (10 m) y Landsat 5 y 8 (30 m)



Crear archivo en formato shp. y delimitar los cuerpos de agua



Polígonos de los cuerpos de agua (diferentes escalas para observar la delimitación)



Cálculo del área

Q Cuerpos de agua — Field Calculator

Only update 0 selected feature(s)

Crear un campo nuevo  Actualizar campo existente

Crear campo virtual

Nombre del campo de salida:

Tipo del campo de salida: 123Entero (32 bit)

Longitud del campo de salida: 10 Precisión: 3

Expresión Editor de funciones

\$area

Objeto espacial: 1 Previsualizar: 3.1050197937021635

función \$area

Devuelve el área del objeto actual. El área calculada por esta función respeta tanto la configuración del elipsoide del proyecto actual como la de las unidades de área. Por ejemplo, si se ha establecido un elipsoide para el proyecto, entonces el área calculada será elipsoidal y si no se ha establecido ningún...

id	area
1	3.105
2	8.659
3	0.154
4	0.411

## Anexo 3: Estimación del año de formación de los cuerpos de agua muestreados

Código base para la determinación del año de formación de los cuerpos de agua en Google Earth Engine

```
Imports (13 entries)
  ▶ var Landsat5: ImageCollection LANDSAT/LT05/C02/T1
  ▶ var vislandsat5: B4, B3 and B2 from 3.2386096061406064 to 76.89549799759178
  ▶ var Landsat8: ImageCollection LANDSAT/LC08/C02/T1
  ▶ var vislandsat8: B5, B4 and B3 from 6742.5 to 23867
  ▶ var Sentinel: ImageCollection "Sentinel-2 MSI: MultiSpectral Instrument, L...
  ▶ var vissentinel: B8, B4 and B3 from 474 to 4267
  ▶ var triunfo: Point (-69.13, -12.60)
  ▶ var tupac: Point (-69.33, -12.59)
  ▶ var inundacion: Point (-69.62, -12.68)
  ▶ var shansho: Point (-69.62, -12.68)
  ▶ var focusgeometry1: Polygon, 4 vertices
  ▶ var focusgeometry2: Polygon, 4 vertices
  ▶ var focusgeometry3: Polygon, 4 vertices

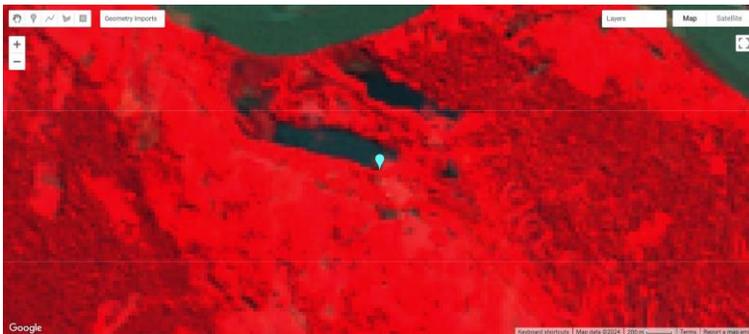
1 //Se reduce las imágenes satelitales al área de interés.
2 //focusgeometry 1= Inundación y Shansho; 2= El Triunfo, 3=Tupac
3 var geo=Landsat5.filterBounds(focusgeometry1);
4
5 //Se indica el periodo de búsqueda de imágenes
6 var time=geo.filterDate('1985-01-01','1985-12-30');
7
8 //Se especifica una cobertura de nubes menor al 30%. Este es un valor ajustable.
9 //Para Sentinel-2 el parámetro cambia por "CLOUD_COVERAGE_ASSESSMENT"
10 var cloud= time.filterMetadata('CLOUD_COVER','less_than',30);
11
12 //Se selecciona la imagen media de la colección y se recorta al área de interés
13 var median_image= cloud.median();
14 var cortado= median_image.clip(focusgeometry1);
15
16 //Se centra el mapa a la visualización de cierto cuerpo de agua, con un zoom de 15
17 Map.centerObject(shansho,15);
18
19 //Se especifican los parámetros de visualización de acuerdo a cada satélite.
20 Map.addLayer(cortado,vislandsat5);
21
```

## Lago control Tupac Amaru

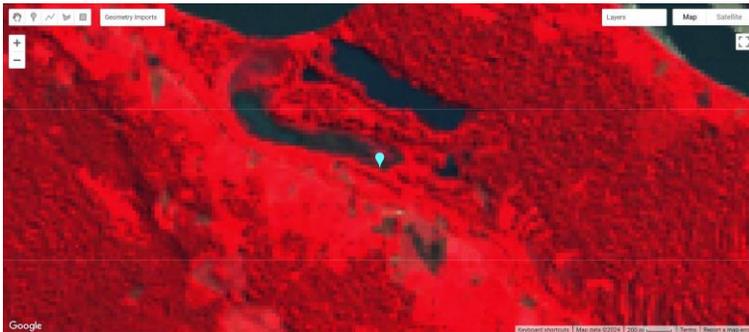
Sentinel-2. Año 2020.



Landsat 5. Año 2000.



Landsat 5. Año 1990.



Google Earth-US. Geological Survey. Año 1970. Año de formación.



### Lago control El Triunfo

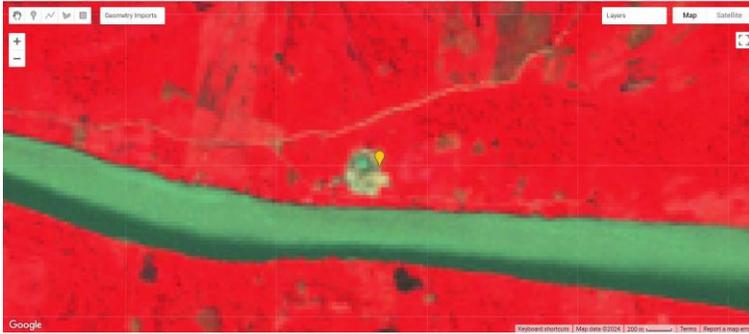
Sentinel-2. Año 2020.



Landsat 5. Año 2010.



Landsat 5. Año 2009. Año de formación.

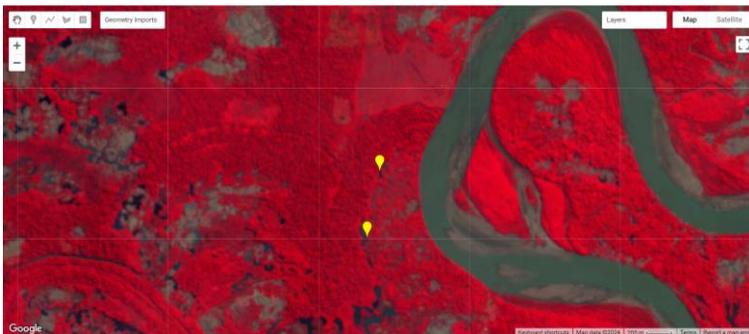


Landsat 5. Año 2008.

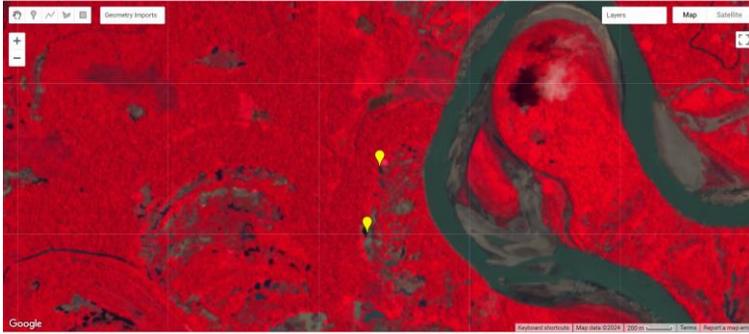


### **Pozas mineras Inundación y Shansho**

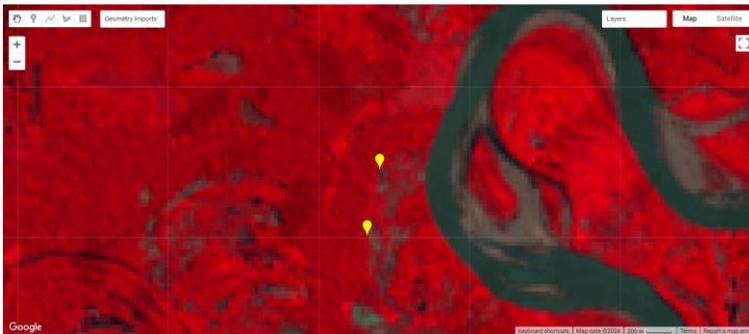
Sentinel-2. Año 2020.



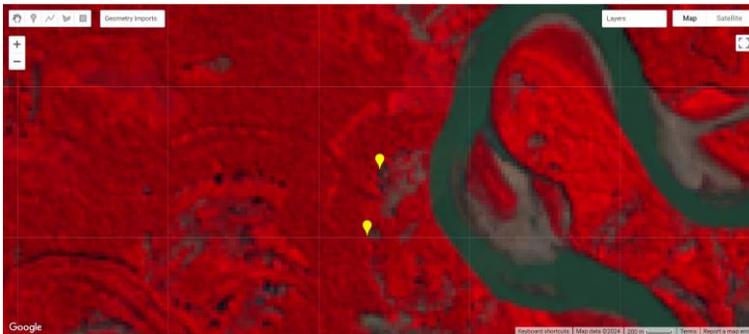
Sentinel-2 Año 2015.



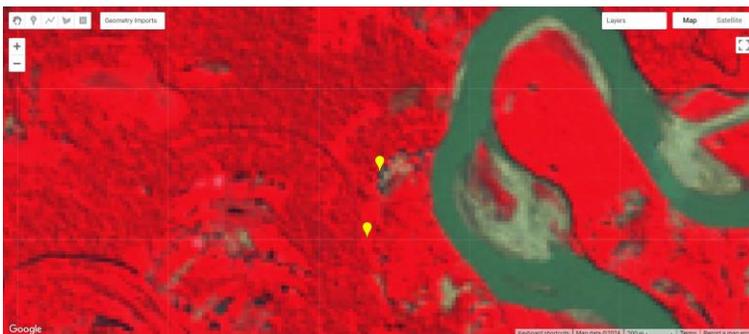
Landsat 8. Año 2014. Año de formación Inundación.



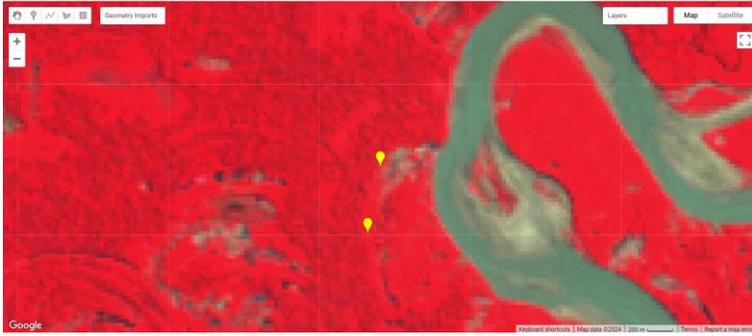
Landsat 8. Año 2013.



Landsat 5. Año 2011. Año de formación Shansho.



Landsat 5. Año 2010.

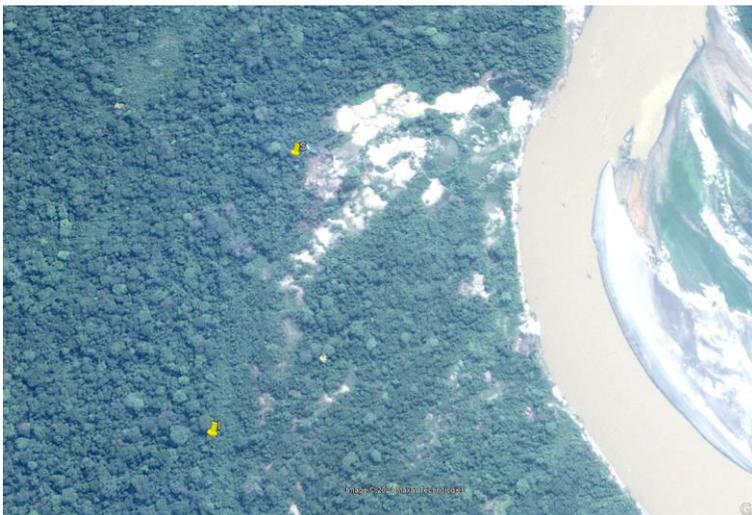


### Imágenes adicionales como soporte

Google Earth. Año 2011.



Google Earth. Año 2010.



## **Anexo 4: Protocolo adaptado de colecta, procesamiento y análisis de muestras de macroinvertebrados para mercurio total**

### **1. Resumen**

El siguiente documento detalla el paso a paso para coleccionar y preparar muestras de macroinvertebrados en pozas mineras ubicadas en la región de Madre de Dios para su análisis de mercurio total (THg). El protocolo descrito busca orientar a investigadores, asistentes de campo y estudiantes, y puede ser adaptado a contextos amazónicos similares donde se busque utilizar macroinvertebrados como bioindicadores de la contaminación por mercurio en el ecosistema acuático.

Con el objetivo de desarrollar un protocolo de trabajo práctico, rápido, de bajo costo, y eficiente, que se adapte a las condiciones y recursos de lugares remotos, donde se realiza la MAPE, se ejecutó un proyecto piloto en Madre de Dios (sección 2.3 “Ejecución del proyecto piloto”). Como parte de los resultados del estudio (sección 3.3 “Modelo de priorización de grupos taxonómicos de macroinvertebrados como bioindicadores”), se identificó que los bioindicadores más adecuados para monitorear las concentraciones de mercurio en los macroinvertebrados de la región eran los de la familia Belostomatidae y los del Orden Odonata (Familias Libellulidae, Coenagrionidae y Gomphidae). En base a las características de estos organismos, el proceso metodológico seguido en el proyecto piloto se ajustó para brindar un proceso más eficiente que será presentado a continuación.

### **2. Materiales**

#### *Generales*

- Equipo GPS con baterías
- Cinta de teflón
- Cinta de embalaje

- Marcador indeleble
- Cuaderno de campo

#### *Colecta de muestras (en campo)*

- Red de nylon D-net (500  $\mu\text{m}$ ) con mango de aproximadamente 100 cm de largo
- Balde de plástico (20 L)
- Botella de plástico (1 L) o 1 balde plástico (5 L)
- Bote inflable, remos e inflador manual

#### *Datos de apoyo: Parámetros fisicoquímicos (en campo)*

- Balde de plástico (20 L)
- Multiparámetro digital modelo YSI Pro Plus<sup>2</sup>
- Disco Secchi
- Cinta métrica

#### *Recuperación e identificación de macroinvertebrados (en campo)*

- Tamices de nylon o acero inoxidable, 2 unidades. Tamaños sugeridos (0.5 cm y 1 cm)
- Bandeja blanca de plástico<sup>3</sup>
- Contenedores plásticos blancos, 3 unidades (aproximadamente 300 ml)
- Pinzas de plástico o acero inoxidable, 2 unidades
- Pipetas de plástico descartable, 2 unidades
- Envases de plástico de 150- 200 ml con tapa de rosca y protector/seguro

#### *Preparación de muestras*

- Tamiz de nylon y PVC de 500  $\mu\text{m}$
- Pinzas de plástico o acero inoxidable, 2 unidades
- Piseta

---

<sup>2</sup> Con este equipo se registraron datos como temperatura del agua, oxígeno disuelto, pH y conductividad. Puede ser reemplazado por equipos similares que logren registrar los parámetros mencionados, así como otros datos de importancia.

<sup>3</sup> Se sugiere utilizar envases blancos ya que brindan mayor contraste con los macroinvertebrados y el sustrato, facilitando su visualización.

- Agua destilada<sup>4</sup>
- Placas de Petri
- Regla plástica 20 cm milimetrada
- Bolsas Whirl-Pak o envases de vidrio/plástico de 50 ml con tapa de rosca
- Refrigerador
- Congelador
- Liofilizador Liobras L101

#### *Análisis de mercurio total (THg)<sup>5</sup>*

- Analizador Directo de Mercurio - DMA 80 Milestone
- Botes de muestra de níquel
- Botes de muestra de cuarzo
- Para el control de calidad analítico:
  - Soluciones estándar de mercurio
  - Materiales de referencia certificado
- Pinzas de acero inoxidable
- Pinza angulada

### **3. Consideraciones iniciales**

- Realizar las coordinaciones correspondientes para asegurar el acceso al área que se va a muestrear. En caso de muestrear cuerpos de agua ubicados en áreas naturales protegidas (ANP), se debe solicitar permisos de colecta y autorizaciones de ingreso con el debido anticipo. Para el muestreo de pozas mineras abandonadas en concesiones formales se sugiere contactar y solicitar acceso a la persona que maneje la concesión.

---

<sup>4</sup> En caso de encontrarse en contextos donde no hay agua destilada disponible, este material se puede reemplazar con 1 L de agua originario de cada cuerpo de agua muestreado.

<sup>5</sup> El listado específico de materiales a utilizar se pueda encontrar en el Protocolo de Métodos M-002 de CINCIA: Guía operacional del Equipo Milestone DMA-80 Direct Mercury Analyzer [1], así como en el Método 7473 de la U.S. EPA: Mercurio en sólidos y soluciones por descomposición térmica, amalgamación y espectrofotometría de absorción atómica [2].

- Las actividades en campo mencionadas en este protocolo se pueden realizar con un total de 3 personas (2 asistentes con experiencia en el trabajo de campo y 1 persona con experiencia en la identificación de macroinvertebrados).

#### **4. Colecta de muestras**

- Llegar a la entrada del cuerpo de agua y ubicar una superficie plana para organizar los materiales y equipos. Iniciar con el inflado del bote y registrar las coordenadas con un GPS.
- Seleccionar entre 5 y 7 sitios u orillas a muestrear a lo largo del cuerpo de agua para formar una muestra compuesta. Incluir orillas con características o vegetación distinta (**Figura 4.1**).
- Barrer y remover levemente el borde y superficie de las orillas con la red de nylon D-net de 500  $\mu\text{m}$  de graduación adherida a un mango de aproximadamente 100 cm de longitud. Raspar también hojas, ramas, troncos o vegetación sumergida (**Figura 4.2**).
- Enjuagar el material colectado en la red de nylon manualmente para reducir la cantidad de materia orgánica y sedimento que pudo acumularse. También revisar las hojas y ramas que pueden haberse capturado en la red para desprender cualquier material adherido (**Figura 4.3**).
- Traspasar el contenido de la red a un balde plástico de 20 L. Para asegurar que todo el contenido de la red sea transferido al balde, se recomienda coleccionar agua del cuerpo de agua con una botella, balde, o contenedor plástico para enjuagar la red y así recuperar todos los especímenes de macroinvertebrados que podrían quedar atrapados en ella (**Figura 4.4**).
- Repetir el proceso para cada una de las orillas seleccionadas en el cuerpo de agua hasta concretar la muestra compuesta.



**Figura 4.1.** Vista de distintos puntos de muestreo de macroinvertebrados (orillas) en la poza minera Inundación.



**Figura 4.2.** Colecta de macroinvertebrados con la red de nylon D-net de 500 µm.



**Figura 4.3** Enjuague de la muestra.



**Figura 4.4** Transferencia de la muestra al balde.

#### **5. Datos de apoyo: Parámetros fisicoquímicos (en campo)**

- Dirigirse hacia el punto central del cuerpo de agua o hacia una ubicación alejada de los bordes y enjuagar el balde de 20 L con agua del sitio. Registrar nuevamente las coordenadas del cuerpo de agua en este punto con el GPS.
- Colectar agua del centro del cuerpo de agua con un balde de plástico de 20 L a una profundidad aproximada de 30 cm. De preferencia, coleccionar el agua y medir los parámetros fisicoquímicos del agua antes de la colecta de muestras biológicas o utilizar agua de una zona cercana no alterada por la colecta.

- Insertar el disco Secchi en el agua hasta no diferenciar la sección blanca de la negra. Medir la longitud de la cuerda con una cinta métrica y anotar los resultados de transparencia en un cuaderno (**Figura 5.1**).
- Trasladar el balde de 20 L con el agua colectada a la orilla del cuerpo de agua y medir los parámetros fisicoquímicos con un multiparámetro digital (**Figura 5.2**)
- Guardar los datos detectados en el equipo, anotar los resultados en un cuaderno de campo y fotografiar.



**Figura 5.1** Medición de la transparencia del agua con el disco Secchi.



**Figura 5.2** Toma de parámetros fisicoquímicos con el multiparámetro.

## 6. Recuperación e identificación de macroinvertebrados (en campo)

- Trasladar el balde con la muestra compuesta a la orilla del cuerpo de agua y verter su contenido sobre por una torre de dos tamices de acero inoxidable o nylon<sup>6</sup>. Añadir agua del sitio a la torre de tamices para facilitar que el material traspase con mayor facilidad. Este paso permite segregar restos o fragmentos de materiales ajenos a las muestras (pequeñas piedras, ramas, hojas u otros materiales) y facilita la posterior identificación y almacenamiento de los individuos.
- Traspasar el material retenido en los tamices a una bandeja plástica blanca o envase plástico blanco con un pequeño volumen de agua del sitio (**Figura 6.1**). Revolver levemente y revisar el material en los envases para identificar el movimiento de los macroinvertebrados y colectarlos. Revisar también los tamices en caso algún individuo se haya quedado retenido.
- Identificar<sup>7</sup> a los macroinvertebrados de las familias Belostomatidae, Coenagrionidae, Libellulidae y Gomphidae y agrupar en envases plásticos limpios (200 ml) en base a su grupo taxonómico.
- Para calcular la cantidad mínima de individuos a colectar para cada grupo taxonómico se sugiere considerar las recomendaciones de la **Sección 9**.
- Llenar los envases de plástico con agua del sitio a un 50% para que los organismos sobrevivan por un tiempo más prolongado. Rotular, cerrar y almacenar los envases (**Figura 6.2**).
- En caso enfrentar dudas sobre la identificación de algún macroinvertebrado, almacenar en un envase separado para una posterior identificación más detallada.
- Transportar los envases al lugar donde se realizará la preparación de las muestras a temperatura ambiente.
- Mantener las muestras en sus envases de colecta (**Figura 6.2**) por un máximo de 24 horas (considerando el tiempo de transporte) para que liberen materia orgánica

---

<sup>6</sup> El tamaño de los tamices se debe seleccionar dependiendo del tamaño de macroinvertebrados que se busque colectar. En este caso se consideró apropiado utilizar una apertura de 0,5 cm y 1cm

<sup>7</sup> Se sugiere utilizar una Guía de la región para orientar la identificación de los macroinvertebrados. En este caso se utilizó la “Guía de macroinvertebrados acuáticos de Madre de Dios” [3] y la “Guía para el estudio de los macroinvertebrados acuáticos del Departamento de Antioquia en Colombia” [4].

(detritos) y otras partículas ingeridas por el organismo [5]. Así se garantiza que la determinación de mercurio en las muestras represente la concentración presente solo en los tejidos o esqueleto de los organismos. Posterior a este periodo de tiempo, proceder a la preparación de muestras. En caso de no poder preparar las muestras de forma inmediata, refrigerar las muestras o añadir preservante en caso aplique<sup>8</sup>.



**Figura 6.1** Identificación de los macroinvertebrados utilizando tamices, bandejas y envases plásticos blancos.

---

<sup>8</sup> Este protocolo no abarca la aplicación de preservantes a las muestras, ya que el ingreso de disolventes orgánicos al liofilizador utilizado podría generar deterioro al equipo.



**Figura 6.2** Muestras colectadas en campo agrupadas por cuerpo de agua y grupo taxonómico.

## 7. Preparación de muestras<sup>9</sup>

- En el laboratorio, concluir con el proceso de identificación y agrupación de aquellos macroinvertebrados que no se culminaron de categorizar en alguno de los grupos taxonómicos determinados.
- Verter cada muestra en un tamiz de nylon de 500  $\mu\text{m}$ <sup>10</sup> y enjuagar con la ayuda de una piseta con agua destilada (**Figura 7.1**). Colectar a los macroinvertebrados de interés con pinzas de plástico o acero inoxidable y pasar a placas de Petri.
- Medir, contar y fotografiar a los macroinvertebrados de cada placa Petri (muestras a nivel de grupo taxonómico y cuerpo de agua) (**Figura 7.2**).
- Identificar si existen diferencias significativas en el tamaño de organismos de una misma muestra. Apartar a los organismos de diferente tamaño en una muestra nueva

<sup>9</sup> Es preferible realizar la preparación de las muestras en inmediaciones del laboratorio, para que sean congeladas directamente en la instalación donde se van a liofilizar y analizar. Sin embargo, dependiendo de las condiciones, la preparación de las muestras (a excepción de la liofilización) se puede realizar en cualquier ambiente limpio que cuente con un refrigerador y congelador.

<sup>10</sup> Equivalente a un colador de plástico

para un análisis separado en caso se busque asociar el tamaño con la acumulación del mercurio durante el análisis de resultados. Por el contrario, en caso los organismos sean de un tamaño muy inferior al promedio o se considere que alteraran los resultados, pueden ser segregados del análisis.

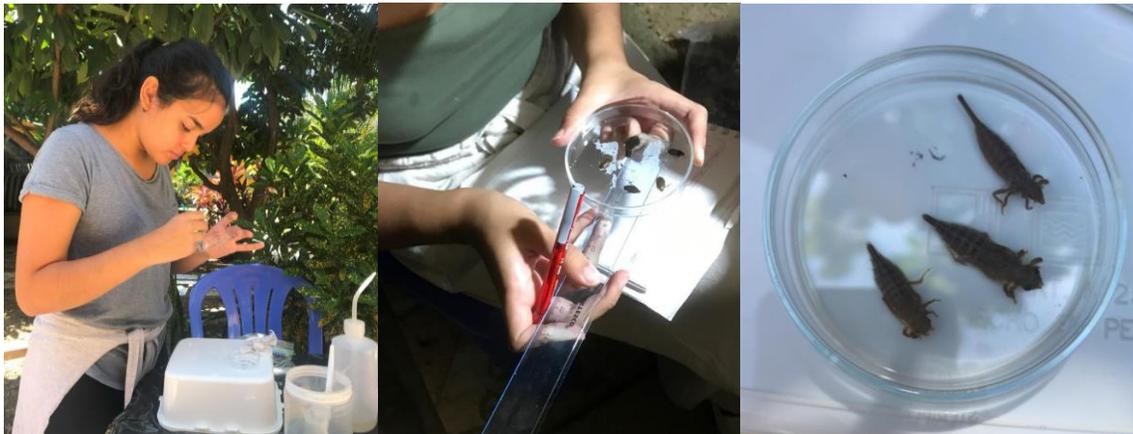
- Enjuagar a los macroinvertebrados de cada muestra con agua destilada o agua de su propio cuerpo de agua para eliminar partículas de materiales ajenos que pueden haber quedado adheridos al tejido del organismo.
- Traspasar los macroinvertebrados a un nuevo envase limpio. En el proyecto piloto descrito anteriormente se utilizaron bolsas estilo Ziploc (16.5 x 11 cm). Sin embargo, se recomienda utilizar envases plásticos o de vidrio con tapa rosca de aproximadamente 50 ml, bolsas Whirl-Pak de 120 ml, o bolsas estilo Ziploc de menor tamaño (p. ej. 6 x 8 cm). Asegurar que el envase seleccionado sea apto para ingresar al liofilizador.
- Codificar cada muestra y rotular con los datos de su grupo taxonómico, cuerpo de agua, tamaño promedio, abundancia y fecha de colecta (**Figura 7.3**).
- Congelar todas las muestras a -18 °C por un mínimo de 24 horas
- Liofilizar las muestras congeladas por un periodo de 72 horas (**Figura 7.4**). Para garantizar un secado uniforme, colocar los envases con las muestras semi abiertos en el liofilizador. Una vez secas las muestras, congelar nuevamente hasta su análisis<sup>11</sup>.

---

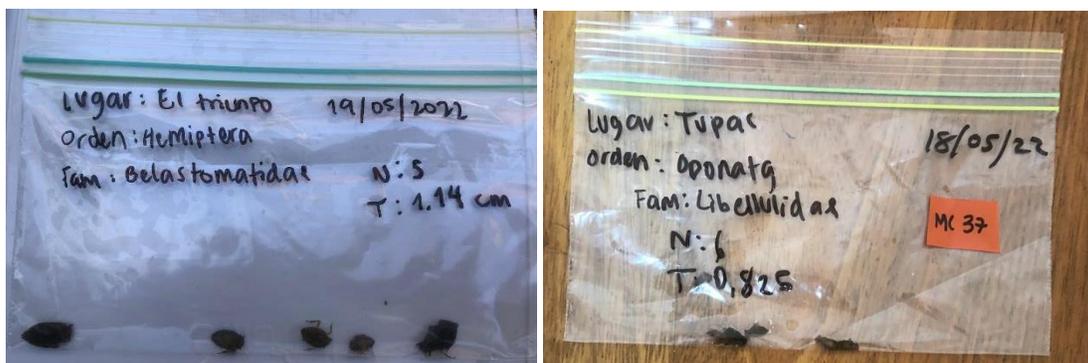
<sup>11</sup> Este paso fue realizado debido al alto contenido de humedad ambiental en LAMQA, que podría haber rehumedecido las muestras.



**Figura 7.1** Macroinvertebrados de la familia Gomphidae (izquierda) y Belostomatidae (derecha) enjuagándose en un tamiz de nylon de 500 µm.



**Figura 7.2** Ejemplos de conteo y medición de los macroinvertebrados.



**Figura 7.3.** Ejemplo de muestras de dos grupos taxonómicos colectadas en dos cuerpos de agua diferentes. Bolsas Ziploc rotulada (derecha se encuentra codificada) conteniendo muestras para su posterior liofilización y análisis.



**Figura 7.4** Secado de las muestras en el liofilizador Liobras L101.

## 8. Análisis de mercurio total (THg)

- Detalles específicos del análisis de mercurio y de los materiales a utilizar se pueden encontrar en el Protocolo de Métodos M-002 de CINCIA: Guía operacional del Equipo Milestone DMA-80 Direct Mercury Analyzer [1], así como en el Método

7473 de la U.S. EPA: Mercurio en sólidos y soluciones por descomposición térmica, amalgamación y espectrofotometría de absorción atómica [2].

- Realizar la limpieza del Analizador Directo de Mercurio (DMA) y seguir los pasos de calibración y control de calidad estipulados en [1] y [2] a lo largo del análisis.
- Decidir si se desea homogeneizar las muestras de macroinvertebrados<sup>12</sup>. En caso de homogeneizar las muestras, evitar el uso de envases tipo “bolsa” y utilizar pequeñas botellas de plástico o vidrio de aproximadamente 50 ml.
- De ser posible, utilizar materiales de referencia certificados (CRM, por sus siglas en inglés) de músculo de langosta [6], ostra, mejillón [7] o algún macroinvertebrado para el control de calidad.
- Utilizar la pinza angulada para movilizar los botes de muestra durante este proceso. Utilizar pinzas o espátulas de acero inoxidable para manipular o transferir el contenido de las muestras.
- Por cada muestra:
  - Transferir a los macroinvertebrados a un bote de níquel con una pinza de acero inoxidable. En caso de tener una abundancia de macroinvertebrados que duplique o triplique las sugerencias de la **Tabla 9.1**, distribuir a los individuos en los botes correspondientes (**Figura 8.1**).
  - Pesar cada bote de níquel y anotar en un cuaderno su código y su cantidad de macroinvertebrados (**Figura 8.1**).
  - Colocar cada bote de níquel en la sección para muestras del equipo (**Figura 8.2**). Medir la concentración de THg en el bote de níquel con el DMA.

---

<sup>12</sup> Durante la ejecución del protocolo piloto mencionado anteriormente, se evidenció que al intentar homogeneizar/triturar la estructura de los macroinvertebrados para formar un polvo dentro del envase de colecta (bolsa Ziploc 16.5 x 11 cm), todas las partículas se dispersaron y adhirieron a los bordes de la bolsa, haciendo imposible recuperar el polvo. Por tanto, para evitar desperdiciar el material colectado, los macroinvertebrados se analizaron completos.



**Figura 8.1** Preparación de un bote de muestra y pesaje.



**Figura 8.2** Botes con muestra (flechas blancas) y botes con material de referencia certificado (flecha roja).

## 9. Recomendaciones adicionales

La masa de un individuo puede servir como indicador de su concentración de mercurio. Por ejemplo, el protocolo estandarizado de CINCIAS para análisis de mercurio en peces [8] indica que la masa de la muestra, dependiendo de si es de origen biótico o abiótico, puede orientar la preparación de los botes de muestra, y así asegurar que la masa es suficiente para que los niveles de mercurio sean detectados y cuantificados de forma precisa. Sin

embargo, pesar a los organismos en campo no es una práctica que añade eficiencia al proceso, más aún considerando que el dato recomendado se encuentra en peso seco (posterior al proceso de liofilización). Por tanto, utilizando los resultados del proyecto piloto realizado en Madre de Dios, se estimó el tamaño y cantidad mínima de macroinvertebrados a colectar para los grupos taxonómicos sugeridos (Belostomatidae, Coenagrionidae, Libellulidae y Gomphidae), dependiendo de su hábitat (lagos control o pozas mineras) (**Tabla 9.1**). Esta inferencia pudo justificarse al evidenciar que existe una relación entre la masa de los macroinvertebrados y su tamaño (**Figura 9.1**)

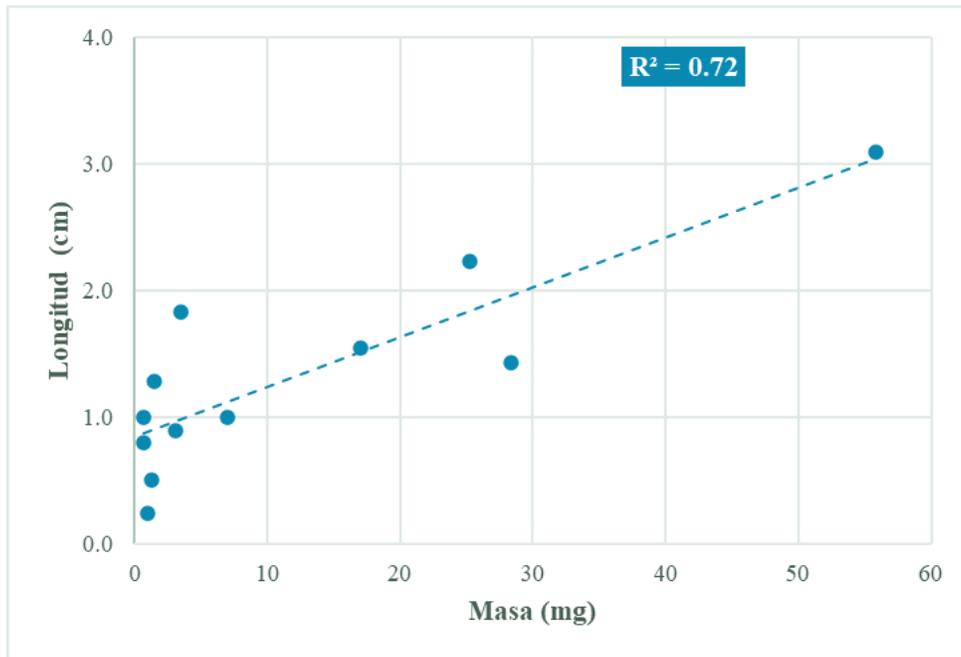
En otras palabras, se calculó el tamaño promedio de los botes de muestra que se encontraron > 1 ng (punto más bajo de la curva de calibración del equipo) y se estimó la cantidad de individuos requeridos para alcanzar dicho valor. La **Tabla 9.1** incluye tres posibles escenarios para pozas mineras y lagos control. El primer escenario (1 ng) indica la cantidad de macroinvertebrados a colectar para alcanzar el primer punto de la curva de calibración). El segundo escenario (2 ng) indica la cantidad de macroinvertebrados requeridos para duplicar el primer punto de la curva; de esta forma se brinda mayor seguridad de que el equipo cuantifique la cantidad de mercurio en todas las muestras de forma precisa. Considerar que estas sugerencias equivalen a 1 bote de muestra (1 medición), los valores deben duplicarse o triplicarse dependiendo de la robustez estadística que el investigador busque alcanzar.

**Tabla 6.1** Abundancia mínima de macroinvertebrados a colectar para obtener 1 resultado de THg por grupo taxonómico y cuerpo de agua. Se consideró como límite inferior el valor más bajo de la curva de calibración del Analizador Directo de Mercurio - DMA 80 marca Milestone (1 ng de THg)<sup>13</sup>.

Grupo taxonómico		Longitud (cm)	Lagos control			Pozas mineras		
Orden	Familia		1 ng	2 ng	5 ng	1 ng	2 ng	5 ng
Hemiptera	Belostomatidae	1.5	1	2	4	1	1	1

<sup>13</sup> Los valores se estimaron como parte de un proyecto piloto en la región de Madre de Dios que realizó el análisis de mercurio en macroinvertebrados (peso seco) de distintos grupos taxonómicos.

Odonata	Coenagrionidae	1-1.5	6	12	28	2	4	10
	Libellulidae	1	3	5	12	1	1	3
	Gomphidae	2-2.5	1	2	5	1	1	1



**Figura 9.1.** Correlación lineal entre la longitud media y la masa media (peso) corporal por grupo taxonómico. Se incluyen en el análisis los macroinvertebrados de pozas mineras y lagos control con concentraciones de mercurio > 1 ng.

## 10. Referencias

- [1] C. Vega and J. Pisconte, “CINCIA Protocolos de Métodos M-002: Guía operacional del Equipo Milestone DMA-80 Direct Mercury Analyzer ,” *Cent. Innovación Científica Amaz.*, 2020.
- [2] U.S. EPA, “EPA Method 7473 (SW-846): Mercury in Solids and Solutions by Thermal Decomposition, Amalgamation, and Atomic Absorption Spectrophotometry,” 1998.

- [3] Peralta-Argomeda, J., Araújo- Flores, J. M., Rodríguez-Achata, L., Prenda Marín, J., & Loayza Muro, R. (2015). Guía de Macroinvertebrados Acuáticos de Madre de Dios-Perú.
- [4] Roldán Pérez, Gabriel. (1996). Guía para el estudio de los macroinvertebrados acuáticos del Departamento de Antioquia. Fondo para la Protección del Medio Ambiente “José Celestino Mutis.”
- [5] Diaz, J. (2021). *Ecologies of Gold: Understanding the social, political, and ecological impacts of mercury use in informal, small-scale gold mining in Madre de Dios, Peru.*
- [6] Wolfe, J. D., Lane, O. P., Mark Brigham, R., & Hall, B. D. (2018). Mercury exposure to red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*) and dragonfly (Odonata: Aeshnidae) nymphs in Prairie Pothole wetlands. *Facets*, 3(1), 174–191. <https://doi.org/10.1139/facets-2017-0086>
- [7] Marziali, L., Roscioli, C., & Valsecchi, L. (2021). Mercury bioaccumulation in benthic invertebrates: From riverine sediments to higher trophic levels. *Toxics*, 9(9). <https://doi.org/10.3390/toxics9090197>
- [8] Vega, C., & Pisconte, J. (2020). CINCIA Protocolos de Métodos M-007: Análisis de Mercurio Total en Músculo de Pescado. 1–10.

## Anexo 5: Tablas complementarias a la sección de Resultados

**Tabla 1.** Matriz de coeficiente de correlación (r) entre los datos de apoyo y la concentración media de mercurio (>LOQ) en macroinvertebrados en los cuatro cuerpos de agua muestreados.

	Temperatura (°C)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Conductividad (μS/cm)	pH	Transparencia (cm)	Área (ha)	Antigüedad (años)	THg promedio (ng/g) macros
Temperatura (°C)	1.00							
Oxígeno disuelto (mg/L)	SD	1.00						
Conductividad (μS/cm)	-0.60	-0.07	1.00					
pH	-0.54	-0.93	0.85	1.00				
Transparencia (cm)	0.09	-0.06	-0.79	-0.92	1.00			
Área (ha)	-0.45	0.71	0.21	-0.33	0.21	1.00		
Antigüedad (años)	0.24	0.77	-0.07	-0.58	0.43	0.96	1.00	
<b>THg promedio (ng/g) macros</b>	<b>0.10</b>	<b>-0.92</b>	<b>-0.70</b>	<b>-0.33</b>	<b>0.54</b>	<b>-0.71</b>	<b>-0.53</b>	<b>1.00</b>

**Tabla 2.** Matriz de coeficiente de determinación ( $R^2$ ) entre los datos de apoyo y la concentración media de mercurio (>LOQ) en macroinvertebrados en los cuatro cuerpos de agua muestreados.

	Temperatura (°C)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Conductividad ( $\mu$ S/cm)	pH	Transparencia (cm)	Área (ha)	Antigüedad (años)	THg promedio (ng/g) macros
Temperatura (°C)	1.00							
Oxígeno disuelto (mg/L)	SD	1.00						
Conductividad ( $\mu$ S/cm)	0.36	0.00	1.00					
pH	0.29	0.86	0.72	1.00				
Transparencia (cm)	0.01	0.00	0.63	0.84	1.00			
Área (ha)	0.21	0.51	0.04	0.11	0.04	1.00		
Antigüedad (años)	0.06	0.59	0.00	0.33	0.18	0.92	1.00	
<b>THg promedio (ng/g) macros</b>	<b>0.01</b>	<b>0.84</b>	<b>0.49</b>	<b>0.11</b>	<b>0.29</b>	<b>0.50</b>	<b>0.28</b>	<b>1.00</b>

**Tabla 2.** Abundancia absoluta de los macroinvertebrados colectados durante el trabajo de campo.

Grupo taxonómico		Lagos control		Pozas mineras	
Orden	Familia	Tupac	El Triunfo	Inundación	Shansho
Hemiptera	Belostomatidae	1	9	1	24
	Corixidae/Notonectidae	37	SD	SD	SD
Caridea*		SD	SD	6	6
Coleoptera*		11	SD	60	54
Odonata	Coenagrionidae	12	4	12	12
	Libellulidae	8	6	2	2
	Gomphidae	SD	3	SD	3
Gastropoda*		2	SD	2	SD
Glossiphoniiformes*		SD	41	2	10
Ephemeroptera	Leptophlebiidae	9	100	SD	SD
	Polymitarcyidae	SD	SD	3	2
Diptera	Chironomidae	SD	60	SD	SD

\*No se logró identificar a nivel de familia

SD: sin dato

**Tabla 3.** Suma de la abundancia relativa de cada grupo taxonómico de macroinvertebrados con respecto a los demás presentes en el cuerpo de agua.

Grupo taxonómico		Lagos control		Pozas mineras		Suma
Orden	Familia	Tupac	El Triunfo	Inundación	Shansho	
Hemiptera	Belostomatidae	1.25	4.04	1.14	21.24	27.66
	Corixidae/Notonectidae	46.25	0.00	0.00	0.00	46.25
Caridea*		0.00	0.00	6.82	5.31	12.13
Coleoptera*		13.75	0.00	68.18	47.79	129.72
Odonata	Coenagrionidae	15.00	1.79	13.64	10.62	41.05
	Libellulidae	10.00	2.69	2.27	1.77	16.73
	Gomphidae	0.00	1.35	0.00	2.65	4.00
Gastropoda*		2.50	0.00	2.27	0.00	4.77
Glossiphoniiformes*		0.00	18.39	2.27	8.85	29.51
Ephemeroptera	Leptophlebiidae	11.25	44.84	0.00	0.00	56.09
	Polymitarcyidae	0.00	0.00	3.41	1.77	5.18
Diptera	Chironomidae	0.00	26.91	0.00	0.00	26.91

\*No se logró identificar a nivel de familia