

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y DE RECURSOS
NATURALES



**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FITORREMEDIADORA DE
TRES ESPECIES VEGETALES ALTOANDINAS ASISTIDAS CON
BIOCHAR EN SUELOS CONTAMINADOS POR DRENAJE ÁCIDO
DE ROCA EN LA MICROCUENCA QUILLCAYHUANCA,
ANCASH”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES

AUTOR:

BACH. ANTHONY JEANPIER FOW ESTEVES

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Anthony Jeanpier Fow Esteves'.

Callao, 2021

PERÚ

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Anthony Jeanpier Fow Esteves'.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES

ANEXO 2



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS SIN CICLO DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES RN°029-2021-D-FIARN

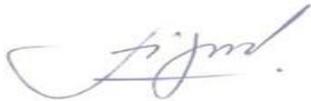
A los 26 días del mes de marzo del año 2021, siendo las 10:00. horas, se reunió, en la sala meet: meet.google.com/kaw-hwgm-nat, el **JURADO DE SUSTENTACIÓN DE TESIS** para la obtención del título profesional de **INGENIERO AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES**, de la **Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales**, conformado por los siguientes docentes ordinarios de la **Universidad Nacional del Callao**:

Blg° Ms.C.	MARÍA TERESA VALDERRAMA ROJAS	: Presidente
Ing. Mtro.	AMÉRICO CARLOS MILLA FIGUEROA	: Secretario
Ing. Ms.C.	MARÍA ANTONIETA GUTIÉRREZ DÍAZ	: Miembro
Ing. Ms.C.	CARMEN ELIZABETH BARRETO PIO	: Asesor

Quienes en cumplimiento de la Resolución de Decana N° 029-2021-D-FIARN dieron inicio al acto de sustentación de la tesis del Bachiller **ANTHONY JEANPIER FOW ESTEVES**, quien habiendo cumplido con los requisitos para optar el Título Profesional de **INGENIERO AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES**, sustenta la tesis titulada **"EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FITORREMIADORA DE TRES ESPECIES VEGETALES ALTOANDINAS ASISTIDAS CON BIOCHAR EN SUELOS CONTAMINADOS POR DRENAJE ÁCIDO DE ROCA EN LA MICROCUENCA QUILLCAYHUANCA, ÁNCASH"**, cumpliendo con la sustentación en acto público, de manera no presencial a través de la Plataforma Virtual, en cumplimiento de la declaración de emergencia adoptada por el Poder Ejecutivo para afrontar la pandemia del Covid19, a través del D.S. N° 044-2020-PCM y lo dispuesto en el DU N° 026-2020 y en concordancia con la Resolución del Consejo Directivo N°039-2020-SUNEDU-CD y la Resolución Viceministerial N° 085-2020-MINEDU, que aprueba las "Orientaciones para la continuidad del servicio educativo superior universitario".

Con el quórum reglamentario de ley, se dio inicio a la sustentación de conformidad con lo establecido por el Reglamento de Grados y Títulos vigente. Luego de la exposición, y la absolución de las preguntas formuladas por el Jurado y efectuadas las deliberaciones pertinentes, acordó: Dar por **APROBADO** la presente tesis con la escala de calificación cualitativa **EXCELENTE** y calificación cuantitativa **19**, conforme a lo dispuesto en el Art. 27 del Reglamento de Grados y Títulos de la UNAC, aprobado por Resolución de Consejo Universitario N° 245-2018- CU del 30 de Octubre del 2018.

Siendo las **11:30** horas del día **26 de MARZO del 2021** se dio por cerrada la Sesión.

 _____ Presidente	 _____ Secretario
 _____ Miembro	 _____ Asesor



INFORME PJST RN° 029-2021-D-FIARN

PARA: Ms.C. CARMEN BARRETO PIO
Decana FIARN-UNAC

De: Ms.C. Teresa Valderrama Rojas
Presidenta del Jurado de Sustentación de Tesis

Asunto: Sustentación de Tesis del Bachiller:
Sr. Anthony Jeanpier Fow Esteves

Fecha: Santiago de Surco, 28 de Abril de 2021

Sirva el presente para saludarla muy cordialmente, al mismo tiempo informar a su despacho sobre el Acto de Sustentación de la tesis titulada **“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FITORREMEDIADORA DE TRES ESPECIES VEGETALES ALTOANDINAS ASISTIDAS CON BIOCHAR EN SUELOS CONTAMINADOS POR DRENAJE ÁCIDO DE ROCA EN LA MICROCUENCA QUILLCAYHUANCA, ÁNCASH”**, presentado por el Sr. Bachiller Anthony Jeanpier Fow Esteves en cumplimiento a la Resolución N° 029-2021-D-FIARN, sobre el particular informo:

- El acto de Instalación del Jurado se llevó a cabo vía Plataforma Virtual Google Meet, a partir de las 10:00 horas en presencia de los miembros del Jurado Evaluador conformado por los docentes:

Blg° Ms.C. MARÍA TERESA VALDERRAMA ROJAS	: Presidente
Ing. Mtro. AMÉRICO CARLOS MILLA FIGUEROA	: Secretario
Ing. Ms.C. MARÍA ANTONIETA GUTIÉRREZ DÍAZ	: Miembro
Ing. Ms.C. CARMEN ELIZABETH BARRETO PIO	: Asesor

- A partir de las 11:30 horas, se dio inicio a la sustentación de la Tesis, por el Bachiller Anthony Jeanpier Fow Esteves, luego de la exposición se llevó a cabo la ronda de preguntas respectivas, que fueron absueltas por el Bachiller.
- Terminada la exposición y las rondas de preguntas, el Jurado se retiró a otra sala Meet , vía Plataforma Virtual Google a fin de efectuar la calificación, luego de las deliberaciones el Jurado acuerda no haber observaciones que subsanar y dar por APROBADA la Tesis con la escala de calificación cualitativa EXCELENTE y calificación cuantitativa DIECINUEVE (19),
- Acto seguido retornamos a la primera sala para dar cuenta del resultado y dar por concluido el acto de sustentación conforme a la normatividad vigente siendo las 11:30 horas.

Es todo cuanto debo informar, sin otro particular me despido de usted.

..

Atentamente,


Ms. C. MARÍA TERESA VALDERRAMA ROJAS
Presidenta del Jurado

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a mis padres y hermano, que en el camino de mi formación profesional siempre creyeron en mí, en mi potencial y fueron un soporte para nunca rendirme.

También va dedicado para mi tío (E.W.E.A) y abuelo (J.B.E.R) que lamentablemente tuvieron que partir de este mundo sin verme lograr esta gran meta; están siempre conmigo.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por ser un soporte moral en cada momento y apoyarme a culminar con esta etapa de mi desarrollo profesional.

Al Instituto Nacional de Investigación en Glaciares y Ecosistemas de Montaña (INAIGEM) por el financiamiento completo para el desarrollo de la presente investigación.

Al grupo humano de la Dirección de Investigación en Ecosistemas de Montaña (DIEM) del INAIGEM por su apoyo en cada paso del desarrollo de la tesis, por sus aportes y por sus enseñanzas; un especial agradecimiento a quienes me acompañaron y apoyaron en los campamentos en la Quebrada Cayesh y sobre todo a la MSc. Yeidy Nayclin Montano Chávez, la Bach. Melissa Catherine Aranda Depaz y el Técnico Abel Flores por su tiempo brindado para el mantenimiento y correcta finalización del experimento en invernadero.

Al Parque Nacional Huascarán por brindarnos las facilidades y permisos necesarios para el ingreso al área de estudio y la toma de muestras respectivas.

A mi casa de estudios, la Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales y sus docentes quienes me formaron y brindaron su conocimiento.

A mi asesora, la Mg. Carmen Elizabeth Barreto Pio, por su apoyo y orientación desde el planteamiento de la investigación para la postulación al financiamiento, hasta sus posteriores consejos durante el desarrollo de la investigación.

A mis co-asesores, el PhD. Pedro Miguel Tapia Ormeño y la MSc. Yeidy Nayclin Montano Chávez, por sus consejos, orientación, apoyo y sobre todo paciencia durante el desarrollo de la investigación y las prolongadas reuniones.

A la directora de la DIEM, la Dra. Beatriz Fuentealba Durand por su apertura y disposición a apoyar a todos por igual, por demostrar lo que es realmente un líder y buscar siempre la armonía del grupo humano de la DIEM.

Por último, a todas las personas que de alguna manera influyeron en mi desarrollo profesional con sus consejos y experiencias.

INDICE

RESUMEN.....	17
ABSTRACT.....	18
INTRODUCCIÓN.....	19
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	20
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	20
1.2. Formulación del problema.....	21
1.2.1. Problema General.....	21
1.2.2. Problemas Específicos.....	21
1.3. Objetivos.....	22
1.3.1. Objetivo General.....	22
1.3.2. Objetivos Específicos.....	22
1.4. Limitantes de la investigación.....	22
II. MARCO TEÓRICO.....	23
2.1. Antecedentes.....	23
2.1.1. A nivel Internacional.....	23
2.1.2. A nivel Nacional.....	25
2.2. Bases teóricas.....	27
2.2.1. Metales.....	27
2.2.1.1. Metales pesados.....	27
2.2.1.2. Biodisponibilidad y movilidad de metales pesados en el suelo.....	28
2.2.1.3. Efecto de los metales pesados en la salud.....	33
2.2.1.4. Metales pesados en las plantas.....	36
2.2.2. Drenaje ácido de roca.....	38
2.2.3. Biorremediación.....	40
2.2.3.1. Técnicas de biorremediación.....	40
2.2.4. Fitorremediación.....	41
2.2.4.1. Fitorremediación de suelos contaminados.....	42
2.2.5. Factores de concentración.....	43
2.2.5.1. Factor de bioconcentración (BCF).....	43
- Factor de bioconcentración en la raíz de la planta ($BCF_{raíz}$ o FBR):.....	43
- Factor de bioconcentración en la parte aérea de la planta ($BCF_{aérea}$ o FBA):.....	44
2.2.5.2. Factor de traslocación (FT).....	44

2.2.6.	Especies vegetales altoandinas con potencial fitorremediador	44
2.2.7.	Biochar	47
2.2.7.1.	Definición	47
2.2.7.2.	Aplicaciones y propiedades del biochar	48
2.2.7.3.	Procesos de producción del biochar	49
-	<i>Pirólisis</i>	49
-	<i>Carbonización hidrotérmica</i>	50
-	<i>Gasificación</i>	51
2.2.7.4.	Tecnologías para la producción de biochar	52
2.2.8.	Pruebas rápidas de germinación y desarrollo de una plántula para determinar toxicidad en el biochar	54
2.2.9.	Biochar en la fitorremediación	56
2.3.	Marco Conceptual	57
2.3.1.	Cambio climático	57
2.3.2.	Desglaciación y cambio climático	59
2.3.3.	Legislación referida a suelos	59
2.3.4.	Legislación referida a agua	61
2.3.5.	Efectos ambientales de la quema de biomasa	61
2.4.	Definición de términos básicos	64
III.	HIPÓTESIS Y VARIABLES	65
3.1.	Hipótesis	65
3.1.1.	General	65
3.1.2.	Específicas	65
3.2.	Definición conceptual de las variables	65
3.2.1.	Operacionalización de las variables	66
IV.	DISEÑO METODOLÓGICO	68
4.1.	Tipo y diseño de investigación	68
4.2.	Método de investigación	68
4.3.	Población y muestra	69
4.4.	Lugar de estudio	69
4.5.	Metodología	70
4.5.1.	Caracterización del agua y suelo en la zona de estudio	70
4.5.1.1.	Muestreo en campo	70
-	<i>Muestreo de agua</i>	70

- Muestreo de suelo.....	70
4.5.1.2. Preparación y análisis de las muestras.....	71
- Análisis de parámetros de campo en muestras de agua:	71
- Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV - Visible en agua y suelo:	71
4.5.2. Identificación y análisis de las especies vegetales altoandinas con potencial fitorremediador.....	71
4.5.2.1. Identificación de las especies vegetales altoandinas	71
4.5.2.2. Muestreo en campo.....	72
- Muestreo de especies vegetales altoandinas	72
- Muestreo de suelo.....	73
4.5.2.3. Preparación y análisis de las muestras.....	73
- Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV-Visible en plantas y suelo:	73
4.5.3. Selección de especies vegetales altoandinas con potencial fitorremediador.....	73
4.5.4. Producción del biochar.....	74
4.5.4.1. Fuente potencial de biochar	74
4.5.4.2. Colecta y acondicionamiento de materia prima	74
4.5.4.3. Pirólisis de la biomasa.....	74
4.5.5. Bioensayos de germinación y evaluación del desarrollo de la plántula <i>Lactuca sativa</i> L.....	75
4.5.5.1. Materiales.....	75
4.5.5.2. Bioensayos.....	76
4.5.5.3. Procesamiento de datos	76
4.5.6. Selección de dosificaciones para aplicar en la etapa de invernadero..	79
4.5.7. Análisis del biochar	79
4.5.7.1. Análisis de caracterización del biochar	79
4.5.7.2. Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV - Visible en biochar	80
4.5.8. Colecta de especies vegetales altoandinas y suelo contaminado	80
4.5.8.1. Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV - Visible en muestras de plantas y suelo	81
4.5.8.2. Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV - Visible en el suelo contaminado por DAR.....	81

4.5.8.3.	Análisis de caracterización en el suelo colectado:	82
4.5.9.	Dosificación de biochar a las especies vegetales altoandinas en el invernadero.....	82
4.5.10.	Evaluación de la asistencia del biochar en la capacidad fitoremediadora de las especies vegetales altoandinas	83
4.6.	Técnicas e instrumentos para la recolección de la información	83
4.7.	Análisis y procesamiento de datos	86
V.	RESULTADOS.....	87
5.1.	Caracterización del agua y suelo en la zona de estudio	87
5.1.1.	Muestreo en campo	87
5.1.1.1.	Muestreo de agua.....	87
5.1.1.2.	Muestreo de suelo	88
5.1.2.	Análisis de las muestras	90
5.1.2.1.	Análisis de parámetros de campo en muestras de agua.....	90
5.1.2.2.	Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV – Visible en agua	90
5.1.2.3.	Análisis de metales en suelo mediante Espectrofotometría UV – Visible	91
5.2.	Identificación y análisis de las especies vegetales altoandinas con potencial fitorremediador.....	93
5.2.1.	Identificación de las especies vegetales altoandinas	93
5.2.2.	Muestreo en campo	93
5.2.2.1.	Muestreo de especies vegetales altoandinas.....	93
5.2.2.2.	Muestreo de suelo	94
5.2.3.	Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV – Visible en plantas y suelo.....	96
5.3.	Selección de especies vegetales altoandinas con potencial fitorremediador.....	98
5.3.1.	Análisis de metales en <i>Werneria nubigena</i>	99
5.3.2.	Análisis de metales en <i>Baccharis buxifolia</i>	100
5.3.3.	Análisis de metales en <i>Lupinus</i> spp.	101
5.3.4.	Análisis de metales en <i>Calamagrostis</i> spp.....	102
5.3.5.	Análisis de metales en <i>Paranephelium ovatus</i>	103
5.4.	Producción del biochar	105
5.5.	Bioensayos de germinación y evaluación del desarrollo de la plántula <i>Lactuca sativa</i> L.....	107

5.5.1.	Bioensayos	107
5.5.2.	Procesamiento de datos	110
5.5.2.1.	Primer bioensayo	110
5.5.2.2.	Segundo bioensayo	111
-	<i>Análisis de regresión lineal</i>	113
5.6.	Selección de dosificaciones para aplicar en la etapa de invernadero ...	116
5.7.	Análisis del biochar	116
5.7.1.	Análisis de caracterización del biochar	117
5.7.2.	Análisis de caracterización elemental del biochar	117
5.7.3.	Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV – Visible en biochar	118
5.8.	Colecta de especies vegetales altoandinas y suelo contaminado	119
5.8.1.	Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV- Visible en muestras de planta y suelo	120
5.8.2.	Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV – Visible en el suelo contaminado por DAR	121
5.8.3.	Análisis de caracterización en el suelo contaminado por DAR	122
5.9.	Dosificaciones de biochar a las especies vegetales altoandinas en el invernadero.....	123
5.10.	Evaluación de la asistencia del biochar en la capacidad fitoremediadora de las especies vegetales altoandinas	126
5.10.1.	Medición de las raíces de las plantas	127
5.10.1.1.	Variación del número de raíces	128
5.10.1.2.	Longitud de raíces.....	130
5.10.2.	Medición de longitud de las plantas	132
5.10.3.	Medición de pH en el sustrato en cada tratamiento del experimento	134
5.10.4.	Análisis de metales mediante UV-Visible tras el experimento en invernadero.....	136
5.10.4.1.	Análisis de metales en la parte aérea de las especies vegetales	137
-	<i>Análisis de metales en la parte aérea de Calamagrostis spp. y dosificaciones de biochar</i>	138
-	<i>Análisis de metales en la parte aérea de Paranephelius ovatus y dosificaciones de biochar</i>	139

- <i>Análisis de metales en la parte aérea de Werneria nubigena y dosificaciones de biochar</i>	142
- <i>Análisis comparativo de acumulación de metales en la parte aérea de las tres especies vegetales y dosificaciones de biochar</i>	143
5.10.4.2. Análisis de metales en la parte radicular de las especies vegetales	149
- <i>Análisis de metales en la parte radicular de Calamagrostis spp. y dosificaciones de biochar</i>	150
- <i>Análisis de metales en la parte radicular de Paranephelium ovatus y dosificaciones de biochar</i>	152
- <i>Análisis de metales en la parte radicular de Werneria nubigena y dosificaciones de biochar</i>	154
- <i>Análisis comparativo de acumulación de metales en la parte radicular de las tres especies vegetales y dosificaciones de biochar</i>	156
5.10.4.3. Análisis del factor de traslocación de las especies vegetales ..	161
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	165
CONCLUSIONES	176
RECOMENDACIONES	177
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	178
ANEXOS.....	197
ANEXO 1: Matriz de consistencia	197
ANEXO 2: Base de datos.....	198
ANEXO 3: Otros	208
Procesamientos estadísticos	208
Reportes de análisis en laboratorio	319

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Movilidad de los elementos traza en función del pH.	29
Tabla 2. Movilidad de los metales pesados y elementos asociados en función de las condiciones de pH y Eh.	30
Tabla 3. Metales pesados en el cuerpo humano.	35
Tabla 4. Técnicas de fitorremediación.	42
Tabla 5. Valores y fórmulas para factores de bioconcentración en una planta.	44
Tabla 6. Lista de especies de plantas altoandinas con potencial de fitorremediación.	45
Tabla 7. Parámetros inorgánicos evaluados en el Estándar de Calidad Ambiental para suelo en Perú.	60
Tabla 8. Norma canadiense para calidad de suelo	61
Tabla 9. Operacionalización de las variables	67
Tabla 10. Metodologías para análisis de biochar.	80
Tabla 11. Metodologías de análisis para las muestras de suelo.	82
Tabla 12. Recipientes para toma de muestras, método de preservación, equipos e instrumentos y método de análisis por cada parámetro para las muestras y aplicación del biochar.	84
Tabla 13. Recipientes para toma de muestras, método de preservación, equipos e instrumentos y método de análisis por cada parámetro para las muestras drenaje ácido de roca (agua y suelo)	85
Tabla 14. Recipientes para toma de muestras, método de preservación, equipos e instrumentos y método de análisis por cada parámetro para las especies vegetales.	85
Tabla 15. Parámetros ambientales en los puntos AG1-QUI-M y AG2-QUI-M.	90
Tabla 16. Estándar de Calidad Ambiental Agua – Categoría 3 y 4.	90
Tabla 17. Análisis de metales en muestras de agua contaminada por DAR.	91
Tabla 18. Concentración de metales en las muestras de suelo colectadas en el área impactada por DAR y el área visualmente menos impactada.	91
Tabla 19. Concentración de metales en la parte aérea de las muestras de plantas altoandinas colectadas.	96
Tabla 20. Concentración de metales en la parte radicular de las muestras de plantas altoandinas colectadas	97
Tabla 21. Concentración de metales en las muestras de suelo correspondiente a cada individuo de planta colectada	97
Tabla 22. Factores de traslocación en <i>Werneria nubigena</i>	99
Tabla 23. Factores de traslocación en <i>Baccharis buxifolia</i>	100
Tabla 24. Factores de traslocación en <i>Lupinus</i> spp.	101
Tabla 25. Factores de traslocación en <i>Calamagrostis</i> spp.	102
Tabla 26. Factores de traslocación en <i>Paranephelius ovatus</i>	103
Tabla 27. Potencial fitorremediador de cada especie vegetal en función de los metales analizados	104
Tabla 28. Promedio de los valores de los parámetros meteorológicos monitoreados durante los bioensayos.	107

Tabla 29. Biochar y arena para el desarrollo del primer bioensayo.	108
Tabla 30. Biochar y arena para el desarrollo del segundo bioensayo.	109
Tabla 31. Índices de germinación de Zucconi del primer bioensayo.	110
Tabla 32. Índices de germinación de Zucconi del segundo bioensayo.	111
Tabla 33. Cuadros de análisis de regresión lineal, coeficientes de regresión y estadísticos asociados y análisis de la varianza.	115
Tabla 34. Análisis de caracterización del biochar de residuos de pino.	117
Tabla 35. Análisis de caracterización elemental del biochar.	117
Tabla 36. Concentración de metales en el biochar de residuos de pino.	118
Tabla 37. Concentración de metales, factores de bioacumulación y traslocación de una muestra de cada planta colectada.	120
Tabla 38. Análisis de metales en el suelo contaminado por DAR.	121
Tabla 39. Análisis de caracterización completa del suelo contaminado por DAR.	122
Tabla 40. Contenido de fósforo, potasio y materia orgánica para determinar fertilidad del suelo.	122
Tabla 41. Cuadro de análisis de varianza para el efecto simple y efectos principales en la variación del número de raíces.	128
Tabla 42. Test LSD de Fisher para las especies vegetales con respecto a la variación del número de raíces.	130
Tabla 43. Cuadro de análisis de varianza para el efecto simple y efectos principales en la variación de la longitud de raíces.	131
Tabla 44. Cuadro de análisis de varianza para el efecto simple y efectos principales en la variación de la longitud de las plantas.	133
Tabla 45. Cuadro de análisis de varianza para el efecto simple y efectos principales en la variación del pH en los tratamientos.	135
Tabla 46. Test LSD de Fisher para las dosificaciones de biochar con respecto a la variación del pH en el sustrato de los tratamientos.	136
Tabla 47. Resultados del análisis de varianza aplicado a la variación de la concentración de metales en la parte aérea de las especies vegetales tras el experimento en invernadero.	147
Tabla 48. Resultados del análisis de varianza aplicado a la variación de la concentración de metales en la parte radicular de las especies vegetales tras el experimento en invernadero.	160
Tabla 49. Factores de traslocación de las especies vegetales antes y después del experimento en invernadero.	164
Tabla 50. Datos completos de concentración de metales en las muestras las muestras de suelo colectadas en el área impactada por DAR y el área visualmente menos impactada.	198
Tabla 51. Base de datos de número de semillas germinadas, longitud del hipocotilo y longitud de radícula del primer bioensayo de toxicidad del biochar producido a partir de residuos de pino.	198
Tabla 52. Base de datos de número de semillas germinadas, longitud del hipocotilo y longitud de radícula del segundo bioensayo de toxicidad del biochar producido a partir de residuos de pino.	199

Tabla 53. Variación del número de raíces según el tratamiento aplicado en el experimento en invernadero.	202
Tabla 54. Variación de la longitud de las raíces según el tratamiento aplicado en el experimento en invernadero.	202
Tabla 55. Variación de la longitud de las plantas según el tratamiento aplicado en el experimento en invernadero.	203
Tabla 56. Variación del pH en el sustrato de cada tratamiento aplicado en el experimento en invernadero.	204
Tabla 57. Concentración de metales en suelo del experimento realizado en invernadero.	205
Tabla 58. Concentración de metales en la parte aérea de las especies vegetales altoandinas sometidas a suelo contaminado por drenaje ácido de roca y dosificaciones de biochar.	206
Tabla 59. Concentración de metales en la parte radicular de las especies vegetales altoandinas sometidas a suelo contaminado por drenaje ácido de roca y dosificaciones de biochar.	206
Tabla 60. Composición nutricional de diversas enmiendas orgánicas.	207

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Técnicas de biorremediación ex-situ e in-situ.....	41
Figura 2. Representación esquemática de los distintos mecanismos de fitorremediación.	42
Figura 3. Descripción del proceso de pirólisis.	50
Figura 4. Rendimiento de la producción de biochar según el tipo de pirólisis. ...	50
Figura 5. Descripción del proceso hidrotérmico	51
Figura 6. Descripción del proceso de gasificación.	51
Figura 7. Técnicas de producción de biochar (a. producción en un horno de doble tambor, b. producción en un horno de retorta y doble tambor, c. producción bajo tierra)	53
Figura 8. Técnicas de producción de biochar (a. producción en horno de barro, b. producción en KON-TIKI).....	53
Figura 9. Hornos de producción de biochar (a. pirolizador de flujo continuo, b. horno de retorta móvil).	54
Figura 10. Posibles efectos positivos obtenidos mediante la combinación de fitorremediación y biochar para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados.....	57
Figura 11. Productos generados durante una combustión y una pirólisis.	63
Figura 12. Mapa de ubicación del lugar de estudio.	69
Figura 13. Estructura del "KON-TIKI" para producción de biochar.	75
Figura 14. Desarrollo de las pruebas de germinación y evaluación del desarrollo de la plántula <i>Lactuca sativa</i> L.	77
Figura 15. Diseño del experimento para la etapa de invernadero.	81
Figura 16. Procesamiento estadístico de los datos obtenidos.	86
Figura 17. Puntos de muestreo de agua en el área impactada por DAR.....	87
Figura 18. Colecta de muestras de agua en el área impactada por DAR	88
Figura 19. Puntos de muestreo de suelo en el área impactada por DAR y el área visualmente menos impactada.....	89
Figura 20. Colecta de muestras de suelo en el área impactada por DAR (a. Rotulado de la muestra, b. Extracción de la muestra, c. Registro del punto de colecta en GPS).....	89
Figura 21. Comparación de la concentración promedio de metales entre las muestras colectadas en SC-QUI y SNC.....	92
Figura 22. Plantas altoandinas desarrollándose en los contornos del área impactada por DAR.....	93
Figura 23. Colecta de suelo en los individuos de plantas colectadas.	94
Figura 24. Especies de plantas altoandinas colectadas	95
Figura 25. Distribución de las concentraciones de metales en muestras de suelo de cada especie vegetal colectada	98
Figura 26. Factores de bioacumulación aérea y bioacumulación radicular en <i>Werneria nubigena</i>	99
Figura 27. Factores de bioacumulación aérea y bioacumulación radicular en <i>Baccharis buxifolia</i>	100

Figura 28. Factores de bioacumulación aérea y bioacumulación radicular en <i>Lupinus</i> spp.	101
Figura 29. Factores de bioacumulación aérea y bioacumulación radicular en <i>Calamagrostis</i> spp.	102
Figura 30. Factores de bioacumulación aérea y bioacumulación radicular en <i>Paranephelius ovatus</i>	103
Figura 31. Producción de biochar a partir de residuos de pino mediante la metodología KON-TIKI.....	106
Figura 32. Comportamiento de la temperatura y humedad relativa durante los bioensayos de germinación y desarrollo de la plántula <i>Lactuca sativa</i>	108
Figura 33. Bioensayos de germinación y desarrollo de la plántula <i>Lactuca sativa</i> L.	109
Figura 34. Comportamiento del IGN y el IER en el primer bioensayo.	111
Figura 35. Comportamiento del IGN y el IER en el segundo bioensayo.	112
Figura 36. Gráfico de dispersión entre el IG y las dosificaciones de biochar. .	113
Figura 37. Supuestos evaluados en el análisis de regresión lineal.....	115
Figura 38. Rectas ajustadas (a. Recta ajustada con bandas de confianza al 95%; b. Recta ajustada con bandas de predicción al 95%).....	116
Figura 39. Niveles de cobre y zinc en el biochar con respecto a límites internacionales.....	118
Figura 40. Recorrido desde el campamento establecido en la Quebrada Cayesh hacia el área impactada por DAR.	119
Figura 41. Mapa de concentración de metales en el suelo del área impactada por drenaje ácido de roca.	120
Figura 42. Preparación de materiales y especies vegetales altoandinas para el experimento en invernadero.	124
Figura 43. Siembra de especies vegetales altoandinas en suelo contaminado por DAR y dosificaciones de biochar.....	125
Figura 44. Fase de monitoreo y fin del experimento en invernadero.	126
Figura 45. Comportamiento de la temperatura y humedad relativa durante el experimento de fitorremediación en el invernadero del CICTEM.	127
Figura 46. Variación del número de raíces en <i>Werneria nubigena</i> y <i>Paranephelius ovatus</i> durante el experimento en invernadero.	128
Figura 47. Variación de la longitud de raíces en <i>Werneria nubigena</i> y <i>Paranephelius ovatus</i> durante el experimento en invernadero.....	130
Figura 48. Variación de la longitud de las plantas durante el experimento en invernadero.....	132
Figura 49. Variación de la lectura de pH en los tratamientos durante el experimento en invernadero.	134
Figura 50. Distribución de las concentraciones de metales en la parte aérea de las especies vegetales del experimento en invernadero.	137
Figura 51. Concentración de metales en la parte aérea de las plantas de <i>Calamagrostis</i> spp. antes y después del experimento en invernadero.	138
Figura 52. Concentración de metales en la parte aérea de las plantas de <i>Paranephelius ovatus</i> antes y después del experimento en invernadero.	139

Figura 53. Concentración de cobre en la parte aérea de las plantas de <i>Paranephelius ovatus</i> tras el experimento en invernadero.	141
Figura 54. Concentración de metales en la parte aérea de las plantas de <i>Werneria nubigena</i> antes y después del experimento en invernadero.	142
Figura 55. Concentración de metales acumulados en la parte aérea de las especies vegetales altoandinas tras el experimento en invernadero.	144
Figura 56. Variación de la concentración de metales en la parte aérea de las especies vegetales altoandinas tras el experimento en invernadero.	146
Figura 57. Distribución de las concentraciones de metales en la parte radicular de las especies vegetales del experimento en invernadero.	149
Figura 58. Concentración de metales en la parte radicular de las plantas de <i>Calamagrostis</i> spp. antes y después del experimento en invernadero.	150
Figura 59. Concentración de metales en la parte radicular de las plantas de <i>Paranephelius ovatus</i> antes y después del experimento en invernadero.	152
Figura 60. Concentración de metales en la parte radicular de las plantas de <i>Werneria nubigena</i> antes y después del experimento en invernadero.	154
Figura 61. Concentración de cobre en la parte radicular de las plantas de <i>Werneria nubigena</i> tras el experimento en invernadero.	155
Figura 62. Concentración de metales acumulados en la parte radicular de las especies vegetales altoandinas tras el experimento en invernadero.	157
Figura 63. Variación de la concentración de metales en la parte radicular de las especies vegetales altoandinas tras el experimento en invernadero.	159
Figura 64. Concentración de metales en la muestra de suelo contaminado por DAR y los suelos de donde fueron colectadas las especies vegetales altoandinas.	163

RESUMEN

La generación del Drenaje Ácido de Roca (DAR) es un proceso favorecido por la pérdida de masa glaciaria y algunas otras condiciones, que incrementan la acumulación de metales pesados en el agua y suelo por donde discurre, impactando negativamente a los ecosistemas de montaña y a la población que utiliza estos recursos. En la Cordillera Blanca, en la microcuenca Quillcayhuanca (Ancash, Perú) se ha detectado un proceso avanzado de DAR, encontrando altas concentraciones de Al, Cu, Fe, Mn, y Zn en el agua y suelo. Ante esta problemática, el objetivo de la investigación ha sido evaluar la capacidad fitorremediadora de tres especies vegetales altoandinas asistidas con biochar en suelos contaminados por DAR. Para ello, se realizaron visitas a la zona afectada por DAR en la Microcuenca Quillcayhuanca, donde en primer lugar se evaluaron parámetros ambientales y concentración de metales en el área de estudio, luego se identificaron cinco especies vegetales que predominaban en la zona para posteriormente, en función a su capacidad fitorremediadora, escoger tres de ellas, las cuales fueron *Calamagrostis* spp., *Paranephelium ovatus* y *Werneria nubigena*. Seguido de ello, en una segunda visita a la Microcuenca Quillcayhuanca se colectaron individuos de las tres especies, los cuales fueron colocados en macetas con suelo contaminado por DAR y dosificaciones del 0%, 1% y 3% de biochar en un invernadero a 3850 m.s.n.m, el experimento en invernadero tuvo una duración aproximada de 3 meses. Los resultados nos demostraron que la presencia del DAR genera que sus áreas adyacentes tengan altas concentraciones de metales, los cuales son acumulados por las plantas que se desarrollan en esas zonas. Con respecto al experimento de fitorremediación en invernadero, se determinó que la aplicación de biochar influye significativamente en el aumento del pH en el sustrato, mientras que, en niveles de acumulación de metales, hubieron diferencias significativas por parte de la dosificación del 1% de biochar en concentraciones de Cu para *Werneria nubigena* y *Paranephelium ovatus*. En cuanto al potencial fitorremediador de las plantas evaluadas en el experimento, estas tuvieron variaciones específicas en cada metal analizado y por último, mediante un análisis de la variación de concentración de metales, del inicio al final del experimento, se determinó que *Calamagrostis* spp. presentó un aumento significativo de Cu y Al en su parte aérea, mientras que, *Werneria nubigena* y *Paranephelium ovatus* presentaron aumentos significativos de Fe, Mn, Zn y Cu en sus partes radicales. Finalmente, se concluye que la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales altoandinas se ve modificada tras ser sometidas a un suelo con mayor concentración de metales y/o diferentes dosificaciones de biochar. Además, las dosificaciones del biochar modifican las características físico-químicas del suelo; generando así que las plantas en estudio cambien su potencial fitorremediador de estabilizador a extractor o viceversa.

Palabras clave: Fitorremediación, Metales pesados, Plantas altoandinas, Biochar, Drenaje ácido de roca.

ABSTRACT

The generation of Acid Rock Drainage (ARD) is a process favored by the loss of glacial mass and some other conditions, which increase the accumulation of heavy metals in water and soil where it flows, negatively impacting mountain ecosystems and the population that uses these resources. An advanced ARD process has been detected at the Cayesh gorge Quillcayhuanca subbasin, Cordillera Blanca, Ancash, Peru, where high concentrations of Al, Cu, Fe, Mn, and Zn are found in water and soils. The main goal of the research has been to evaluate the phytoremediation capacity of three high Andean plants assisted with biochar in soils contaminated by ARD. For this purpose, visits were made to the area affected by ARD in the Quillcayhuanca micro-basin, where environmental parameters and concentration of metals in the study area were evaluated, then five plant species were identified that predominated in the area for later, three of them were chosen according to their phytoremediation capacity, which were *Calamagrostis* spp., *Paranephelius ovatus* and *Werneria nubigena*. Following this, in a second visit to the Quillcayhuanca micro-basin, specimens of the three species were collected and placed in pots with soil contaminated by ARD and dosages of 0%, 1% and 3% biochar in a greenhouse at 3850 m.a.s.l., the greenhouse experiment lasted approximately 3 months. The results show that the presence of ARD causes its adjacent areas have high concentrations of metals, which are accumulated by the plants that are growing in those areas. About the phytoremediation experiment in greenhouse, it was determined that the application of biochar significantly influences the increase of pH in the substrate, while, in the accumulation of metals, there were significant differences by the dosage of 1% biochar in concentrations of Cu for *Werneria nubigena* and *Paranephelius ovatus*. Regarding the phytoremediation potential of the plants evaluated in the experiment, these had specific variations in each analyzed metal. On the other side, through an analysis of the variation of metal concentration from the beginning to the end of the experiment, it was determined that *Calamagrostis* spp. presented a significant increase of Cu and Al in its aerial part, while, *Werneria nubigena* and *Paranephelius ovatus* presented significant increases of Fe, Mn, Zn and Cu in their radicular parts. Finally, it is concluded that the phytoremediation capacity of high Andean plants is modified after being submitted to a soil with higher concentration of metals or different biochar concentrations. Furthermore, biochar dosages modify the physical-chemical characteristics of the soil; thus generating that the plants under study change their phytoremediation potential from stabilizer to extractor or in the opposite direction.

Keywords: Phytoremediation, Heavy metals, High Andean plants, Biochar, Acid Rock Drainage.

INTRODUCCIÓN

El Perú posee el 71% de los glaciares tropicales del mundo y estos se encuentran distribuidos en 18 cordilleras con cobertura glaciar a lo largo del país, entre ellas destaca la Cordillera Blanca, representando el 41% del territorio glaciar, con un área aproximada de 13.602 km² y una longitud de 274 km; la Cordillera Blanca viene siendo perjudicada por el retroceso glaciar, proceso generado a partir del cambio climático, éste ha provocado que la Cordillera Blanca pierda en los últimos 54 años el 38.20% de su superficie glaciar al año 2016 y se ha estimado que manteniendo la tendencia de la tasa de retroceso glaciar y bajo las condiciones climáticas actuales los glaciares que conforman dicha cordillera desaparecerían el 2111 (INAIGEM 2018).

Una de las consecuencias del cambio climático y el retroceso glaciar es la generación del drenaje ácido de roca (en adelante "DAR"), y este a su vez es uno de los problemas ambientales que mayor inquietud genera en países con cobertura glaciar (Luna Solano 2018; Reyes Nolasco 2018). Este drenaje se genera cuando la roca madre (cuerpo de roca mineralizado) se expone a las condiciones atmosféricas, como resultado del retroceso glaciar, y al tener contacto con cuerpos de agua superficial producirá aguas ácidas con elevadas concentraciones de metales pesados tales como hierro, aluminio, cobre, manganeso, zinc, entre otros, generando un ambiente tóxico para los organismos acuáticos, las personas y los ecosistemas adyacentes (Xu et al. 2013; Santofimia et al. 2017). Todo este proceso se genera también desde el sub-suelo, el DAR generado desde ahí también interactúa con la litología circundante antes de llegar a la superficie, influyendo fuertemente en el pH y la geoquímica del DAR, sus precipitados minerales y la liberación de otros elementos (Feige Gault, Gammon y Fortin 2015).

Existen problemas ambientales por DAR en la microcuenca de Quillcayhuanca; geomorfológicamente, la microcuenca está formada por un valle glaciar, cuyos flancos actualmente están desnudos de glaciar, sin embargo, estacionalmente se presentan parches de nieve y hielo cuyo derretimiento aporta agua al sistema, asimismo no se descarta un aporte de agua subterránea que aflora antes de la zona impactada; cuando la cobertura de hielo estacional desaparezca por completo, los efectos del DAR serán máximos. La roca basal que se encuentra libre está constituida por granodioritas; y hacia su parte oriental yacen rocas sedimentarias con presencia significativa de piritas, las cuales al quedar expuestas provocan el fenómeno de DAR, afectando el curso de agua principal, los suelos y por ende a todo el ecosistema de montaña adyacentes (Reyes Nolasco 2018).

Una vez que el metal pesado contamina el suelo, persiste en él durante muchos años debido a su naturaleza no biodegradable y además puede retenerse en el suelo cambiando de un estado de oxidación a otro (Shah y Daverey 2020). Esta situación empobrece la calidad del suelo y supone un riesgo permanente para el funcionamiento de los ecosistemas, la producción de alimentos, las actividades económicas y la salud humana (Chang Kee et al. 2018).

Ante esta problemática es importante proponer la aplicación de medidas de remoción de contaminantes y de recuperación de estos ambientes contaminados, tales como la fitorremediación. Es por ello, que el presente proyecto propone la identificación y la evaluación de tres especies vegetales altoandinas con potencial fitorremediador, que se desarrollan en un área de DAR de la microcuenca Quillcayhuanca, para luego probar si su capacidad de traslocación, bioacumulación y/o bioconcentración son potenciados con biochar de pino.

Por lo tanto, la presente investigación tiene como meta evaluar la capacidad fitorremediadora de tres especies vegetales altoandinas asistidas con biochar en suelos contaminados por DAR.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

La microcuenca Quillcayhuanca presenta como rocas basales a granodioritas y rocas sedimentarias con presencia localizada de minerales sulfurosos (Reyes Nolasco 2018); la desglaciación acelerada en la Cordillera Blanca y la meteorización natural de estos cuerpos sulfurosos están generando aguas ácidas con metales pesados afectando el curso de agua y los suelos por donde discurre, poniendo en riesgo la salud de la población huaracina (Palomino Cadenas 2007).

Los problemas ambientales generados por el drenaje ácido de roca (DAR) en la microcuenca de Quillcayhuanca, Ancash, Perú, incluyen la disminución de la calidad del agua expresados en bajos valores de pH y elevadas concentraciones de algunos metales pesados por encima del ECA-Agua (categorías 3 y 4) y el Reglamento de la Calidad del Agua para consumo humano (D.S N° 031 – 2010 – SA (ANEXO II)), mientras que los suelos de color rojizo contienen elevadas concentraciones de metales pesados que están por encima de algunos estándares internacionales que miden la calidad del suelo, tales como el estándar Canadiense y el Australiano (Towett, Shepherd y Cadisch 2013). La degradación de los ecosistemas de montaña; también afectan a la población local que se beneficia de los servicios ecosistémicos, debido a que los metales pesados tienen la propiedad de acumularse a lo largo de la cadena alimentaria

causando toxicidad aguda y crónica en los seres vivos (Kumar Gautam et al. 2016), además, que algunos de estos son altamente tóxicos para los humanos inclusive en cantidades mínimas (Shah y Daverey 2020).

Por otro lado, estudios como los de Palomino Cadenas (2007); Miguel et al. (2013); Loayza Muro (2014); Jara-Peña et al. (2017) y Chang Kee et al. (2018) demuestran que existen alrededor de 17 especies de plantas altoandinas (**Tabla 6**) que tienen la capacidad de sobrevivir y adaptarse a estas condiciones de altas concentraciones de metales en la microcuenca de Quillcayhuanca y otros lugares en Huaraz, es decir, plantas con potencial fitorremediador que podrían ser utilizadas en sistemas de biorremediación.

De otro lado, las investigaciones de Sun, Sha y Chunming (2018) y Zhang et al. (2019) mostraron que el biochar es una alternativa prometedora para potenciar la capacidad fitoremediadora de diversas plantas por lo que se justifica el uso de biochar en la presente investigación, mientras que la elección del pino como materia prima de biochar se sustenta en el estudio de Suliman et al. (2017) donde demuestran que el biochar producido a partir de madera de pino influyen en el crecimiento de las plantas en contraste con el blanco. Asimismo, investigaciones como las de Huff, Kumar y Lee (2014) y Kalderis et al. (2020) demuestran la efectividad del biochar producido a partir de residuos de pino para la adsorción de contaminantes orgánicos e inorgánicos. Cabe resaltar que el pino es una especie introducida y altamente usada en la provincia de Huaraz por lo que si en algún futuro se pretende producir biochar en esta provincia existirá ya materia prima disponible en el área.

Ante esta problemática se plantean las siguientes preguntas.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema General

- ¿Cuál es la capacidad fitoremediadora de tres especies vegetales altoandinas asistidas con biochar en suelos contaminados por drenaje ácido de roca?

1.2.2. Problemas Específicos

- ¿Qué concentraciones de Al, Cu, Fe, Mn y Zn presentan el suelo y el agua de una zona expuesta al drenaje ácido de roca y en un área adyacente sin contacto con el drenaje ácido de roca?
- ¿Qué especies vegetales altoandinas presentan potencial fitorremediador en la zona de estudio?

- ¿Cuál es la dosificación adecuada de biochar para asistir a la fitorremediación de tres especies vegetales altoandinas plantadas en macetas con suelos contaminados por drenaje ácido de roca?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

- Evaluar la capacidad fitoremediadora de tres especies vegetales altoandinas asistidas con biochar en suelos contaminados por drenaje ácido de roca.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Analizar las concentraciones de Al, Cu, Fe, Mn y Zn en el suelo y agua de una zona expuesta al drenaje ácido de roca y una zona adyacente sin contacto con el drenaje ácido de roca.
- Identificar tres especies vegetales altoandinas en la zona de estudio y determinar su potencial fitoremediador.
- Determinar la dosificación adecuada de biochar para asistir a la fitorremediación de tres especies vegetales altoandinas plantadas en macetas con suelos contaminados por drenaje ácido de roca.

1.4. Limitantes de la investigación

- Características de la zona de estudio y logística en campo

La investigación se realizó en una zona agreste dentro de la Microcuenca Quillcayhuanca y los puntos de estudio donde se han identificado problemas por drenaje ácidos de roca se encuentran aproximadamente a 17 km de distancia desde donde se inició el recorrido a pie y a uno 4200 m.s.n.m., por lo que los trabajos de campo como la colecta de muestras y extracción de suelo para la etapa experimental requirió de una preparación logística y acampar mínimo cuatro días cerca de la zona de estudio, para lograr culminar actividades establecidas en laboratorio (instalaciones del INAIGEM en Huaraz), invernadero (instalación del Centro de Investigación Científica y Tecnológica en Ecosistemas de Montaña, Cátac, Huaraz) y gabinete.

- Tiempo y clima

El tiempo habitual en Huaraz durante los meses de diciembre a marzo es de fuertes precipitaciones, lo que complicó los procedimientos a realizar durante las etapas de salida de campo cómo las colectas muestras de suelo, extracción de plantas, entre otros; necesarios para el desarrollo de la investigación, además

las condiciones climáticas para el campamento durante las salidas de campo fueron adversas.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. A nivel Internacional

- ***Acid rock drainage and rock weathering in Antarctica: Important Sources for Iron Cycling in the Southern Ocean.***

(Dold et al. 2013) Esta investigación proviene de una expedición realizada durante los años 2009 – 2011 en las islas Shetland del Sur en la Antártida, dicha investigación tiene por objetivo demostrar la implicancia que ha tenido el retroceso glaciar en la mineralización de sulfuro y generación de aguas ácidas que terminan en el océano antártico, describiendo los procesos biogeoquímicos que conducen a la generación del drenaje ácido de roca. Esta investigación demuestra que existe una intensa mineralización de sulfuro y que el pH de las aguas producto del drenaje ácido se encuentran entre 3,2 – 4,5, más la presencia de Fe en aguas subterráneas y la formación de Schwertmannita en el mar – hielo; finalmente se concluyó que la mayor cantidad de Fe procede de la meteorización de las rocas con un flujo de $0,45 \times 10^9$ g Fe.año⁻¹. Esta investigación advirtió que dicha problemática se incrementaría en un futuro escenario de calentamiento global.

- ***Native herbaceous plant species with potential use in phytoremediation of heavy metals, spotlight on wetlands - A review***

(Oyuela Leguizamo, Fernández Gómez y Gutiérrez Sarmiento 2016) Este artículo de revisión bibliográfica realizado en Bogotá, Colombia, demuestra la presencia de 41 plantas con gran potencial fitorremediador, las especies están repartidas entre endémicas y nativas por lo que algunas de ellas se pueden encontrar en todo el mundo. Por lo tanto, son de gran interés debido a su presencia global y su potencial de uso en la fitorremediación. La investigación concluye que deberían realizarse más investigaciones en cuanto a la capacidad fitorremediadora de las plantas nativas ya que según la literatura son las que mayor potencial fitorremediador tienen, además recomienda investigaciones en cuanto a la propagación de las mismas a fin de remediar zonas afectadas por metales pesados.

- ***Biochar facilitated the phytoremediation of cadmium contaminated sediments: Metal behavior, plant toxicity, and microbial activity.***
(Gong et al. 2019) Este estudio buscó remediar sedimentos contaminados con Cd del Río Xiangjiang en Changsha, China, aplicando biochar de residuos de té en ramio (*Boehmeria nivea*); se aplicaron distintas dosis de biochar a la planta mejorando así la capacidad de acumulación de Cd y traslocación en las plantas; la aplicación de biochar en bajas dosis promovió el crecimiento de la planta y mitigar el estrés oxidativo producto la toxicidad inducida por el Cd. Estos hallazgos demostraron que el biochar a bajas concentraciones podría mejorar la eficiencia de la fitorremediación y mitigar la toxicidad inducida por Cd para plantas y microbios en sedimentos contaminados con Cd.

- ***Compost and biochar assisted phytoremediation potentials of Moringa oleifera for remediation of lead contaminated soil.***
(Ogundiran, Mekwunyei y Adejumo 2018) El objetivo de este estudio fue investigar la germinación, crecimiento, tolerancia y acumulación de Pb de *Moringa oleifera* en los suelos contaminados con Pb, aplicando compost de aves de corral y 2 biochars (cáscara de arroz y cáscara de maní) para una fitorremediación asistida, se aplicaron a 10 g/kg por separado a los suelos por triplicado y se incubaron durante 2 semanas. El compost y biochar de cáscara de arroz mejoraron la producción de raíces y brotes de *M. oleifera*. y además mejoraron la eficiencia de fitoextracción de Pb. La combinación de biochar de cáscara de maní y *M. oleifera* mejoró la eficiencia de fitoestabilización de Pb. Se puede recomendar la utilización de compost y biochar con *M. oleifera* para la fitorremediación del suelo contaminado con Pb.

- ***Performance of an open limestone channel for treating a stream affected by acid rock drainage (León, Spain)***
(Santofimia y López-Pamo 2016) Durante la construcción de una carretera en León (España) se observó una disolución por oxidación de lutitas negras ricas en pirita (excavadas durante la construcción de la carretera). Los DAR presentaban altas concentraciones de sulfatos y metales (Fe, Al, Mn, Zn, Cu, Co, Ni, Th y U), así como bajos niveles de pH, por lo que construyeron e implementaron un sistema de tratamiento pasivo (canal abierto de piedra caliza, pequeños estanques y un humedal), finalmente la calidad del agua tras ser tratada por la propuesta sólo eliminaba todo el Fe y el Al disueltos, mientras que el pH continuaba teniendo valores bajos, por lo que se concluyó que el sistema fue ineficaz a pesar de ser el diseño más adecuado para el valle y las características del agua, por ello recomiendan considerar todas las variables posibles a fin de obtener resultados beneficiosos.

2.1.2. A nivel Nacional

- ***Acid rock drainage in Nevado Pastoruri glacier area (Huascarán National Park, Perú): hydrochemical and mineralogical characterization and associated environmental implications.***

(Santofimia et al. 2017) tuvieron como objetivo realizar un estudio hidroquímico integral en una microcuenca de 2 km², esta microcuenca viene a ser la cabecera del Río Pachacoto, realizaron un muestreo a 12 manantiales y 22 lagunas de la zona proglacial obteniendo como resultado valores anormales de pH y CE en las fuentes de agua, altas concentraciones de Fe⁻ y SO₄⁻², presencia de elementos como Fe, Al, Mg, Mn, Zn, Co y Ni; además el Río Pachacoto, cuya evolución de la calidad del agua ha sido estudiada a lo largo de su curso, corre por 30 km hasta su confluencia con el Río Santa, en un punto ubicado a 5500 m aguas abajo de este punto. El agua mostró una fuerte atenuación natural con un pH de 6.9 y baja concentración de metales demostrando una fuerte atenuación natural, este proceso de mitigación es posible debido a la formación de precipitados que retienen elementos tóxicos, la mezcla con aguas naturales que promueven la dilución y el contacto con especies nativas que se presume tienen capacidad biorremediadora, lo que favorece el aumento del pH; se concluyó que el proceso de dilución oxidativa de la pirita producto del drenaje ácido de roca resultado de retroceso glaciar es intenso, los parámetros físico y químicos de los drenajes ácidos de roca varían con respecto al clima, factores hidrogeológicos, geológicos y mineralógicos.

- ***A phytoremediation approach using Calamagrostis ligulata and Juncus imbricatus in Andean wetlands of Peru.***

(Miguel et al. 2013) tuvieron como objetivo extraer *Calamagrostis rígida* del humedal de Huancapetí y *Juncus imbricatus* del humedal de Mesapata, ambos humedales contaminados por drenajes ácidos de mina, para determinar su capacidad fitoremediadora; estas especies fueron encontradas por encima de los 3500 m.s.n.m en Ancash, se determinaron parámetros físicos y químicos, metales y el factor de bioacumulación; concluyeron que ambas plantas evidenciaron gran capacidad de fitoacumulación de Fe, Zn, As, Pb, Al y Cd, potencialmente acumulable en su biomasa y además refieren que un mecanismo de estabilización metal - raíz aumentaría el procesamiento de fitoremediación de metales pesados.

- ***Accumulation of heavy metals in Calamagrostis rigida (Kunth) Trin. ex Steud. (Poaceae) and Myriophyllum quitense Kunth (Haloragaceae) evaluated in four high Andean wetlands of Peru.***

(Jara-Peña et al. 2017) Este estudio fue realizado en las lagunas de Yanamate, Quiulacocha (Región Pasco), Ticticocha y Yuracmayo (Región Lima), del Perú central. Se determinó que *Calamagrostis rigida* y *Myriophyllum quitense* son las especies nativas que acumulan metales pesados en mayor cantidad en tejido radicular en comparación del tejido foliar, por consiguiente, estas especies serían consideradas como fitoestabilizadoras de metales pesados. La mayor acumulación de Cd, Cu, Zn y Pb en todas las lagunas la obtuvo *C. rigida*; mientras que *M. quitense* fue registrada solamente en la laguna Ticticocha y en sus tejidos se obtuvieron los menores valores de acumulación de los metales, es importante mencionar que la contaminación se produjo por drenajes ácidos de mina.

- ***Accumulation of heavy metals in native Andean plants: potential tools for soil phytoremediation in Ancash (Peru)***

(Chang Kee et al. 2018) Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el potencial fitorremediador de nueve especies vegetales altoandinas, las semillas y esquejes fueron colectadas en Cátac, Recuay y Huancapetí (*áreas afectadas por actividades mineras*), se desarrollaron en almácigos durante 5 meses, luego fueron trasplantadas a macetas con suelo contaminado por metales, el suelo donde fueron plantadas correspondió a cada lugar de donde se colectaron las semillas y esquejes, luego de 4 meses se extrajeron las plantas y suelo para realizar mediciones de Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, el potencial fitorremediador de cada especie colectado se basó en el análisis de los factores de bioacumulación y traslocación, se concluyó que *Achyrocline alata*, *Juncus bufonius*, *Penicetum clandestinum* y *Werneria nubigena* son especies hiperacumuladoras y fitoestabilizadoras de metales específicos, debido a que sus factores de traslocación, bioacumulación radicular y bioacumulación aérea son >1 en la mayoría de los metales.

- ***Improvement of the quality of contaminated soils with F2 hydrocarbon fraction from phytoremediation using Typha latifolia (Totorá) and biochar.***

(Cornejo Escurra 2016) La investigación determinó la eficiencia de remoción de un suelo contaminado con fracción de hidrocarburos F2 empleando el tratamiento de fitorremediación con la técnica de fitoestimulación; es decir, mejoraron la capacidad de remoción de la planta *Typha latifolia* aplicando el 25% de biochar en cada situación problema, 4 513, 19 115 y 48 510 mg de hidrocarburo por cada kg de suelo, reduciendo el contaminante en 319, 5 594 y 24 209 mg/kg; es decir con eficiencias de remoción del 92.9%, 70.7%, 50.1%, respectivamente.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Metales

Los metales son todas las sustancias y/o elementos químicos caracterizados por tener una alta conductividad eléctrica, tanto como su maleabilidad, ductilidad, flexibilidad y su alta reflectividad a la luz; los metales tienen estas propiedades debido al enlace metálico que poseen, sin embargo, pueden diferir ampliamente en su reactividad química (Luna Solano 2018). Aproximadamente tres cuartos de todos los elementos conocidos son metales y los más abundantes en la tierra son el aluminio, hierro, calcio, sodio, potasio y manganeso; además, la presencia de cada uno de estos tiene la capacidad de beneficiar, molestar y hasta ser tóxico, dependiendo de la concentración en la que se encuentren (BRITANNICA 2020).

2.2.1.1. Metales pesados

El término metales pesados suele usarse con un significado negativo, sin embargo, la definición de metales pesados hace referencia al grupo de elementos en la tabla periódica cuya densidad es mayor a 5.0 g/cm^3 o que se encuentren ubicados entre el cobre y el bismuto, es decir, que tengan un peso atómico entre 63.5 - 208.9 g/g.mol (Tasharrofi et al. 2018), para que un metal sea considerado como pesado debe cumplir con una o ambas de las características antes mencionadas.

La presencia en mínimas cantidades de algunos metales pesados, considerados como “nutrientes esenciales”, es importante para el crecimiento de plantas y desarrollo de organismos vivos, tales como el vanadio, manganeso, hierro, cobalto, cobre, zinc, selenio, estroncio y molibdeno; otros son considerados como inofensivos debido a su baja capacidad de reaccionar, tales como el oro, plata, indio, etc.; mientras que la presencia de algunos metales pesados es considerada como altamente tóxica para el desarrollo de organismos vivos y plantas, tales como el cadmio, mercurio, plomo y arsénico, los cuales se encuentran dentro de la lista de los 10 químicos de mayor peligro para la salud, publicada por la Organización Mundial de la Salud, debido a su alta toxicidad y carcinogénesis (Tasharrofi et al. 2018; Salehabadi y Enhessari 2019).

Los metales pesados no son biodegradables en el medio ambiente, por el contrario tienen la capacidad de bioacumularse en las personas pudiendo causar serios daños a los organismos (Salehabadi y Enhessari 2019); por ejemplo, algunos metales pesados considerados como “nutrientes esenciales” pueden llegar a ser tóxicos al superar ciertos umbrales en el organismo y en el ambiente, del mismo modo, para que los metales pesados considerados como “altamente

tóxicos” generen afecciones, se toman en cuenta ciertos umbrales establecidos en normativas nacionales e internacionales (Dueñas Salas 2015; Vega Picon 2018).

2.2.1.2. Biodisponibilidad y movilidad de metales pesados en el suelo

Los metales en el ambiente se pueden encontrar de forma poco soluble, es decir, en el agua o unidos a las partículas del suelo, formando complejos con la materia orgánica u óxidos hidratados y ocluidos en estructuras minerales (Huamán De La Cruz 2018; Corpus Quiroz 2018); además, se conoce que las propiedades físicoquímicas del suelo pueden influir ampliamente en la especiación de los metales y, por consiguiente, en la movilidad y biodisponibilidad de estos (Olaniran, Balgobind y Pillay 2013; Abdel-Salam et al. 2015).

La movilidad natural de los metales en los suelos se produce por la actividad biológica, las interacciones sólido-líquido y de la acción propia del agua (Avelino Carhuaricra 2013); por otro lado, Kim et al. (2015) menciona que la biodisponibilidad de los metales pesados en el suelo puede considerarse como un proceso dinámico complejo que comprende tres fases o categorías:

a. Disponibilidad ambiental, es decir, la cantidad total de metales pesados en el suelo, incluidas las fracciones reales y potenciales que pueden disolverse de la matriz del suelo en el agua de los poros.

b. Biodisponibilidad ambiental, es decir, la cantidad de fracción disuelta en el agua de los poros que puede ser absorbida por las raíces de las plantas u otros organismos del suelo.

c. Biodisponibilidad toxicológica, es decir, la cantidad de metal pesado que puede inducir fisiológicamente la bioacumulación u otro efecto en las plantas dependiendo de la translocación, el metabolismo y la desintoxicación de la misma.

Se conoce también que las propiedades físico-químicas del suelo afectan a la fitodisponibilidad de los metales pesados, es decir, el suelo puede actuar como agente aglutinante de metales y la capacidad de absorción y desorción controla la movilidad y la disponibilidad de los metales pesados (Shah y Daverey 2020).

Los factores que más influyen en la biodisponibilidad y movilización de los metales pesados asociados al suelo son:

- ***Materia orgánica:***

Los suelos con menor cantidad de materia orgánica son muy susceptibles a la contaminación por metales traza, se conoce, que la adición de materia

orgánica al suelo afecta a la inmovilización del metal debido a la capacidad de retención de la propia materia orgánica, mostrando efectos beneficiosos en la disponibilidad de metales (Shah y Daverey 2020); por ejemplo, metales pesados como Co, Cu, Hg, Ni, Pb y Zn exhiben afinidades bastante altas con la materia orgánica llegando a formar complejos solubles e insolubles, esto debido a que la materia orgánica tiene la capacidad de intercambio de cationes y complejación, la formación de estos complejos organometálicos potencia la toxicidad de los metales pesados, lo que facilita su solubilidad, disponibilidad, dispersión y por ende su remediación (Benigno Vega 2018).

- **Potencial de hidrógeno (pH)**

El pH del suelo es uno de los factores más importantes que afectan directamente a la movilidad y disponibilidad de los metales en el suelo; en el caso de los cationes metálicos, un pH bajo (<5,0) refleja mayor movilidad y disponibilidad de los metales, mientras que, en un medio alcalino, los cationes metálicos tienden a ser absorbidos por el suelo, es decir, disminuyen su movilidad y disponibilidad; por otro lado, para los aniones metálicos este mecanismo sucede, al contrario (Vega Picon 2018; Shah y Daverey 2020). Además, el pH afecta a la carga de la superficie de las arcillas, la complejación de los metales con la materia orgánica, en las reacciones de precipitación disolución, reacciones redox y dispersión de coloides (Benigno Vega 2018).

Tabla 1. Movilidad de los elementos traza en función del pH.

ASOCIACIONES GEOQUÍMICAS EN SUELOS	PRÁCTICAMENTE INMOVIBLES	MODERADAMENTE INMÓVILES	FÁCILMENTE INMÓVILES
Ácido (pH < 5.5)	Mo	Pb ⁺² , Cr ⁻³⁺⁶ , Ni ⁻²⁺³ , V ⁺⁵ , As ⁺³ , Co ⁻²⁺³	Sr, Ba, Cu, Zn, Cd, Hg
Neutro o débilmente ácido (pH 5.5 – 7.5)	Pb	Sr, Ba, Cu, Cd, Cr ³⁺⁶ , Mo ⁺⁴ , Co ⁻²⁺³	Zn, V ⁺⁵ , As ⁺⁵
Alcalino o fuertemente alcalino (pH 7.5 - 9.5)	Pb, Ba, Co	Zn, Ag, Sr, Cu, Cd	Mo ⁺⁶ , V ⁺⁵ , As ⁺⁵

Fuente: Tomado de (Corpus Quiroz 2018)

- **Potencial oxidación - reducción**

La oxidación o reducción del metal en el suelo se realiza por los microorganismos, ya sea directamente o a través de un agente oxidante/reductor producido por ellos (Shah y Daverey 2020). El potencial de oxidación-reducción es responsable de que el metal se encuentre en estado oxidado o reducido y del cambio directo en la valencia de ciertos metales; por ejemplo, en condiciones reductoras el Fe^{3+} se transforma en Fe^{2+} . Generalmente, las condiciones redox afectan indirectamente la movilidad de los metales, siendo más solubles en medios reducidos; por ejemplo, la movilidad de metales pesados, especialmente Cd, Cu, Cr y Zn, aumenta en suelos pobremente aireados con un bajo estados de oxidación ($Eh < 100mV$) (Corpus Quiroz 2018).

Tabla 2. Movilidad de los metales pesados y elementos asociados en función de las condiciones de pH y Eh.

MOVILIDAD	OXIDANTE	ÁCIDO	NEUTRO Y ALCALINO	REDUCTOR
<i>Alta</i>	Zn	Zn, Cu, Co, Ni, Hg, Ag, Au	-	-
<i>Media</i>	Cu, Co, Ni, Hg, Ag, Au, Cd	Cd	Cd	-
<i>Baja</i>	Pb	Pb	Pb	-
<i>Muy baja</i>	Fe, Mn, Al, Sn, Pt, Cr, Zr	Al, Sn, Pt, Cr	Al, Sn, Cr, Zn, Cu, Co, Ni, Hg, Ag, Au	Zn, Cu, Co, Ni, Hg, Ag, Au, Cd, Pb

Fuente: Tomado de (Benigno Vega 2018; Vega Picon 2018).

- **Textura y estructura**

La textura y la estructura cumplen un papel importante en la entrada, infiltración, adsorción y/o pérdida de los metales pesados en el suelo (Vega Picon 2018). Las arcillas pueden retener los metales pesados en las posiciones de cambio, impidiendo su paso a los niveles freáticos, cada especie mineral tiene unos determinados valores de superficie específica y descompensación eléctrica, esas características son las responsables del poder de adsorción de estos minerales y la reducción de su pérdida por lixiviación, ese hecho es muy importante puesto que, gracias a este proceso de adsorción, los cationes están disponibles para la vegetación (Avelino Carhuaricra 2013).

- **Capacidad de intercambio catiónico (CIC)**

La CIC es la cantidad de cationes reversiblemente adsorbidos (expresados como moles de carga positiva) por unidad de peso del mineral (Vega Picon 2018).

La CIC de los suelos es ampliamente dependiente de las superficies de adsorción determinadas por la cantidad y tipo de arcillas, materia orgánica y óxidos de Fe, Al y Mn. Cuanto mayor es el contenido en arcilla, mayor es la CIC y por tanto mayor será la capacidad del suelo de fijar metales sin peligro potencial, ya que se limita la solubilidad y movilidad de los metales intercambiados. El poder de adsorción de los distintos metales pesados depende de su valencia y del radio iónico hidratado; a mayor tamaño y menor valencia, menos fuertemente quedan retenidos (Avelino Carhuaricra 2013; Corpus Quiroz 2018).

- **Contenido de humedad**

El contenido de humedad de los suelos es un factor importante que gobierna la biodisponibilidad y movilidad de metales a través de reacciones de oxidación-reducción. Bajo condiciones reductoras se pueden formar sulfuros de metales, que son bastante insolubles, por lo que la movilidad y biodisponibilidad son considerablemente menores que las esperadas bajo condiciones oxidante (Corpus Quiroz 2018; Benigno Vega 2018).

- **Óxidos de Fe y Mn**

Tienen una alta capacidad de fijar los metales pesados e inmovilizarlos. Además, estos compuestos se presentan finamente diseminados en la masa del suelo por lo que son muy activos. Los suelos con altos contenidos de Fe y Mn juegan un rol muy importante en la retención de metales pesados, ya tienen capacidad de adsorber metales divalentes, especialmente Cu, Pb y en menor grado Zn, Co, Cr, Mo y Ni (Benigno Vega 2018; Vega Picon 2018).

- **Salinidad**

La presencia de sales en el suelo tiende a aumentar los niveles de pH, su aumento puede favorecer la movilización de metales pesados por dos mecanismos; en el primer mecanismo, los cationes asociados con las sales (Na^+ , K^+) pueden reemplazar a metales pesados en lugares de adsorción y como segundo mecanismo, los aniones de cloruro pueden formar complejos solubles estables con metales pesados tales como cadmio, zinc y mercurio (Avelino Carhuaricra 2013).

- **Carbonatos**

La presencia de carbonatos garantiza el mantenimiento de altos valores de pH, los cuales tienden a precipitar los metales pesados, por ejemplo el Cd y otros metales presentan una marcada tendencia a ser adsorbidos por los carbonatos presentes en los suelos (Avelino Carhuaricra 2013; Vega Picon 2018).

- **Quelatos**

Un componente esencial del proceso de biodisponibilidad es la exudación de compuestos quelantes de metales por las raíces de las plantas (por ejemplo, los *fitosidióforos*). Estos quelantes son sintetizados por las plantas y pueden movilizar metales pesados como el cobre, el plomo y el cadmio mediante la formación de complejos estables; se ha demostrado que la adición de agentes quelantes sintéticos a los suelos contaminados aumentaba sustancialmente la solubilidad del metal en el suelo. Es probable que, en suelos contaminados, la aplicación de quelantes mejore la formación de complejos de quelatos metálicos, reduciendo la absorción de metales a las partículas suelo (Dan 2001).

Los metales pesados presentes en los suelos no se comportan como elementos estáticamente inalterables, sino que siguen unas pautas de movilidad generales, además, tienen ciertos mecanismos para que se movilicen en el suelo (Torres Saavedra 2018) cada mecanismo se agrupan según sus condiciones:

- **Rutas para el transporte de elementos traza en el suelo**

Los metales incorporados al suelo pueden seguir cuatro rutas diferentes (Dueñas Salas 2015):

- Quedar retenidos en el suelo, disueltos en la fase acuosa del suelo y ocupando sitios de intercambio.
- Ser absorbidos por constituyentes inorgánicos del suelo.
- Asociarse con la materia orgánica del suelo.
- Precipitándose como sólidos puros o mixtos.

- **Dinámica de los metales pesados**

La dinámica y disponibilidad de los metales están influenciadas por las condiciones físicoquímicas del suelo, como el pH y el potencial redox, mientras que, los constituyentes orgánicos e inorgánicos del suelo son los que en gran medida condicionan los mecanismos de retención de metales por ejemplo, mediante la adsorción, complejación y precipitación (Torres Saavedra 2018).

2.2.1.3. Efecto de los metales pesados en la salud

Los metales pesados no son biodegradables y deben ser eliminados física o químicamente mediante su conversión en sustancias no tóxicas, de lo contrario tienden a acumularse en los organismos vivos al entrar en la cadena alimentaria o en los recursos hídricos generando afecciones en la salud (Tasharrofi et al. 2018). La toxicidad debida a los metales pesados puede dañar o disminuir las actividades mentales y del sistema nervioso central, dañar los pulmones, el hígado, los riñones, la composición de la sangre y otros órganos fundamentales (Vardhan, Kumar y Panda 2019).

Para comprender de qué manera los metales presentes en las aguas y suelos pueden generar afecciones a nuestro organismo, necesitamos saber un poco más en qué estado ingresan, tiempo de exposición, concentración, y cómo salen del mismo, además no todas las sustancias tóxicas afectan en igual magnitud a todos los órganos con los que tienen contacto, sino que, cada órgano es susceptible de ser dañado por ciertos químicos de acuerdo a las características de los mismos y el tiempo de exposición (Torres Saavedra 2018; Soriano Figueroa 2018).

Los metales pesados son peligrosos porque tienden a bioacumularse, esto significa que habrá un aumento continuo de la concentración de una sustancia química en un organismo a lo largo del tiempo, en comparación con su concentración en el medio ambiente (Kumar Gautam et al. 2016). En concentraciones bajas, algunos de los metales pesados estimulan ciertos procesos biológicos, pero en el umbral de concentración éstos se vuelven tóxicos y al no ser biodegradables, los metales se acumulan en varios niveles tróficos a través de la cadena alimentaria; por ejemplo, (Kuramshina et al. 2014), realizó un análisis del proceso migratorio de los metales pesados desde el suelo hacia las plantas y animales, pudiendo demostrar que existía relación entre las concentraciones de metal en cada muestra, es decir, que los animales bioacumulan metales pesados debido a que se alimentan de plantas que están creciendo en suelos contaminados por esos metales, pudiendo influir de manera indirecta en la ingesta de metales pesados por parte de las personas. Por otro lado, (Rai et al. 2019), en un artículo de revisión bibliográfica encontró que la inhalación y/o contacto dérmico con partículas de suelo contaminados por metales pesados y la ingestión de frutas, cultivos y vegetales contaminados también por metales pesados, causa serios problemas de salud humana, como cáncer gastrointestinal, mecanismo inmunológicos frágiles, retraso del desarrollo mental y malnutrición; además, los metales que ingresan al cuerpo humano tienden a acumularse en, la sangre, los huesos o los tejidos grasos y que los principales cultivos con mayor concentración de metales pesados, registrados a nivel mundial, son el maíz, trigo, lechuga, espinaca, rábano y zanahoria.

La concentración de contaminantes en el cuerpo de una persona, se expresa frecuentemente en unidades de peso por peso o en unidades de peso del contaminante por volumen de sangre, esto debido a que los metales ejercen sus efectos de muchas maneras, tanto en la sangre como en las células (Nava Ruíz y Méndez Armenta 2011), tal y como se observa en la tabla 3.

Tabla 3. Metales pesados en el cuerpo humano.

METAL	PRINCIPALES SISTEMAS Y ÓRGANOS AFECTADOS	PRINCIPALES EFECTOS EN LA SALUD	NIVEL PERMITIDO EN SANGRE (mg/L)
ARSÉNICO	Sistema nervioso pulmonar, Piel	Perforación del tabique nasal, cáncer pulmonar, neuropatía periférica, dermatomas, cáncer de piel, irritación de las mucosas, conjuntivitis, bronquitis, disnea, vómito, diarreas, edema facial, calambres, daño neuronal reacciones cardiovasculares.	0.05
CADMIO	Riñones, Pulmones	Proteinuria, glucosuria, osteomalacia, aminociaduria, neumonitis, edema pulmonar, vómitos, diarrea y dolor abdominal, enfisema.	0.01
CROMO	Pulmones	Úlcera, perforación del tabique nasal y cáncer pulmonar.	0.05
COBRE	Sistema nervioso, Pulmones	Convulsiones, calambres y espasmos que causan la muerte, enfermedad de Wilson e insomnio.	0.25
MERCURIO	Sistema nervioso y riñones	Proteinuria, glucosuria, osteomalacia, aminociaduria, enfisema, tumores cerebrales, pérdida de apetito y peso, alteraciones psíquicas, convulsiones, irritaciones cutáneas, anemia, hipertensión, insuficiencia renal.	0.00003
NIQUEL	Pulmones, Piel	Cáncer bronquial, alergias, rinitis, sinusitis y enfermedades respiratorias.	0.2
PLOMO	Sistema nervioso, Sistema Hematopoyético, Riñones, Tejido óseo	Encefalopatía, neuropatía periférica, trastornos nerviosos centrales, anemia, ataxia, malestar general, confusión, dolor de cabeza, irritabilidad, difusión motriz, convulsiones, cambios de personalidad, debilidad en las extremidades y parétesis, insuficiencia renal, cólico, dolores musculares, calambres.	0.006
MANGANESO	Sistema nervioso	Neuropatías centrales y periféricas.	0.015
ESTAÑO	Sistema nervioso y sistema pulmonar	Desorden en el sistema nervioso central, disminución de la vista, neumoconiosis.	-
ZINC	Tejido ósea, hígado y glóbulos blancos	Inhibición del desarrollo de glóbulos blancos, depresión, letargo, signos neurológicos y aumento de la sed.	0.8

Fuente: Adaptado de (ATSDR 2000; Rodríguez Senen 2012; Mahurpawar 2015; Tasharofi et al. 2018)

2.2.1.4. Metales pesados en las plantas

El sistema suelo – planta se considera un sistema abierto, que se encuentra sujeto a contribuciones, tales como contaminantes, fertilizantes, pesticidas y también a pérdidas mediante lixiviación, erosión o volatilización. La incorporación de los metales por las plantas que se hacen a través de las raíces, se encuentra influenciada por varios factores en las que destacan la temperatura, pH, aireación, condiciones redox y fertilización, la especie vegetal, el momento del desarrollo y el sistema radical, etc. (Grandez Argomeda 2017), además la forma en la cual se encuentra el metal retenido en el suelo, condicionará la disponibilidad relativa por las plantas.

Al ir transcurriendo el tiempo disminuye la disponibilidad de los metales, ya que se van fijando en las posiciones de adsorción más fuertes (Avelino Carhuaricra 2013); algunos metales juegan un rol dual, al ser esenciales para el desarrollo de las plantas pero dañinos a altas concentraciones, los elementos limitantes en el desarrollo de las plantas pueden conducirlos a la muerte mediante el incremento relativamente pequeño de la concentración del elemento esencial, como puede ser el caso del Zn, Cu o Ni (Dueñas Salas 2015).

En las plantas la acción tóxica de los metales pesados está determinada por su accesibilidad al organismo y por reacciones bioquímicas y fisiológicas, cuyos efectos pueden ser inhibición de la fotosíntesis y de la respiración, alteración de la relación hídrica, marchitamiento, bloqueo de enzimas, o del transporte de nutrimentos, sustitución de elementos esenciales de las biomoléculas, entre otros (Corpus Quiroz 2018), mientras que la tolerancia hacia los metales pesados está representada por la habilidad de sobrevivir en suelos que son tóxicos a otras plantas, y se manifiesta mediante una interacción entre el genotipo y su ambiente lo cual determina su sobrevivencia, la capacidad de un genotipo para funcionar en un rango de ambientes mediante una respuesta plástica y/o estable, se denomina flexibilidad fenotípica, en la literatura botánica la respuesta plástica en plantas es interpretada como un valor adaptativo (Vega Picon 2018).

Los metales pesados son transportados al interior de la planta en forma de iones, estos atraviesan una serie de transportadores especializados o acoplados a proteínas portadoras de protones en la membrana plasmática de la raíz, luego, los iones podrán ser almacenados en las raíces o traslocados a los tejidos a través de los vasos de la xilema donde serán depositados en vacuolas, eliminando así el exceso de iones metálicos del citosol, logrando reducir las interacciones con los procesos metabólicos celulares (Recharte Tello, Mejía Rodríguez y Fajardo Cuevas 2018); todas las plantas absorben metales del suelo donde se encuentran, pero en distinto grado, dependiendo de la especie vegetal, y de las características y contenido en metales del suelo (Benigno Vega 2018),

las distintas estrategias que pueden adoptar las plantas frente a la presencia de metales en su entorno son las de excluir, acumular e indicar.

Según Medina Marcos y Montano Chávez (2014); Dueñas Salas (2015) y Rifo Estay (2016) se denomina a una planta como exclusora cuando la planta restringe la entrada o traslocación de metales hacia las hojas, permitiéndole a la planta vivir en suelos con elevadas concentraciones de metales; se les denomina indicadoras aquellas que sus concentraciones de absorción y traslocación reflejan la concentración del metal en el suelo, pero además presentan síntomas de toxicidad; se les denomina acumuladoras aquellas que sus concentraciones de absorción y traslocación reflejan la concentración del metal en el suelo, sin presentar ningún síntoma de toxicidad; además existen las especies hiperacumuladora, siendo las plantas que incrementan activamente la concentración de metales en sus tejidos sin presentar algún síntoma de toxicidad.

Los órganos de las plantas difieren en su capacidad para acumular metales, es decir que las raíces, tallos, hojas, frutos y semillas de las plantas presentan diferentes niveles de concentración y acumulación de metales pesados; cuando la fuente de metales pesados es el suelo, en general los niveles decrecen en el orden: *raíces > tallos > hojas > frutos > semillas* (Medina Marcos y Montano Chávez 2014).

Los procesos fisiológicos en que ingresan los metales a las plantas se pueden dividir en interacciones, es decir, la **interacción suelo – raíz** y la **interacción raíz – parte aérea**:

- ***Interacción suelo – raíz***

La absorción de metales por raíces de plantas involucra varios procesos como (Benigno Vega 2018):

- *Intercepción de raíces de iones metálicos.*
- *Entrada del ion metálico en las raíces a través del flujo y la difusión de masa.*
- *Translocación de los iones metálicos desde la raíz hasta el brote.*
- *Moléculas quelantes de metales (fitosideróforos) secretadas en el rizósfera.*
- *Reductasas metálicas unidas a la membrana plasmática específica.*
- *Extrusión de protones desde las raíces.*

Cualquier modificación de los valores de pH rizosféricos tendría, a su vez, un impacto en la relación catión/ anión, la liberación de carbonato y la

excreción de ácidos orgánicos. La acidificación de la rizosfera a través de la exudación de protones de las raíces también ha demostrado que mejora la absorción y acumulación de metales (Dan 2001).

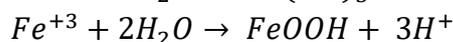
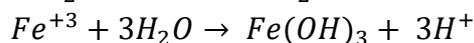
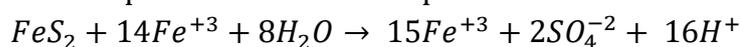
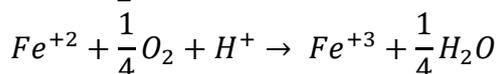
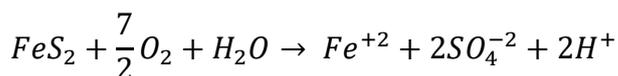
Los compuestos orgánicos liberados de las raíces (*rizodepósitos o exudados*) influyen en el crecimiento de la comunidad microbiana de la rizósfera que pueden ser responsables de las diferencias en la estructura de las comunidades microbianas comúnmente observadas entre la rizósfera y el suelo. Los microbios del suelo en la rizosfera, incluidas las rizobacterias son las promotoras del crecimiento de las plantas, las bacterias que ayudan a micorrizas y hongos micorrízicos arbusculares, juegan un papel importante en la dinámica de nutrientes, incluidos los oligoelementos. Por ejemplo, los hongos micorrízicos producen una glucoproteína insoluble, glomalina, que secuestra el metal (Dan 2001; Benigno Vega 2018).

- ***Interacción raíz – parte aérea***

Los mecanismos de traslocación de metal parecen ser muy similares a los de nutrientes esenciales como Fe o Ca, en tanto que el transporte desde la raíz a el rodaje se lleva a cabo principalmente a través de la xilema, otros factores como la tasa de transpiración, la absorción de raíz, el transporte radial y xilema, influyen en la traslocación del metal; una vez absorbidos por las células de la raíz, los iones metálicos encuentran su camino hacia el brote y luego a su final destino intracelular, como las vacuolas, mediante un proceso llamado translocación (Benigno Vega 2018).

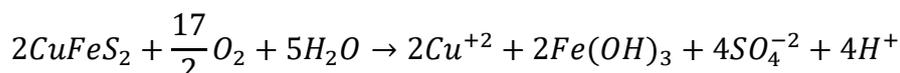
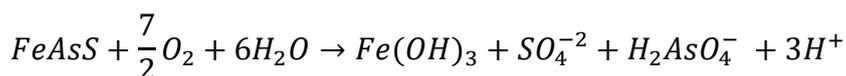
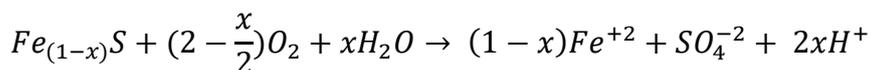
2.2.2. Drenaje ácido de roca

El fenómeno de drenaje ácido proveniente de minerales sulfurosos es un proceso que ocurre en forma natural; debido a la alta cantidad de hierro oxidado en la solución, esta se torna comúnmente de color rojizo (Luna Solano 2018). El drenaje ácido de roca (**DAR**) se puede generar por la oxidación de diferentes tipos de roca siendo una de la más comunes las rocas ricas en sulfuro, estas se oxidan al estar expuestas a la atmósfera por procesos naturales o antropogénicos, lo cual da por resultado la producción de acidez, sulfatos y la disolución de metales, principalmente hierro, manganeso y aluminio; este proceso puede resultar en una contaminación de los recursos de aguas superficiales, subterráneas y los suelos por donde discurre el drenaje (Xu et al. 2013; Reyes Nolasco 2018).

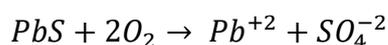
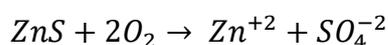


Otros sulfuros tienen potencial de formación de ácido y tasas de reacción diferentes, dependiendo de la cantidad de Fe presente, siendo los sulfuros de Fe los que generan mayor acidez; los sulfuros, que no contienen Fe en su red cristalina (por ejemplo, galena, esfalerita pobre en Fe), no tienen la capacidad de generar directamente grandes cantidades de ácido, pero pueden ser fuentes de metales potencialmente nocivos como Cd, Pb y Zn (Moncur et al. 2009; Parbhakar-Fox y Lottermoser 2015).

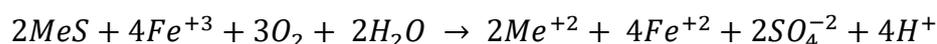
Las reacciones generales de oxidación que producen ácido para la pirrotita ($Fe_{(1-x)}S$), arsenopirita ($FeAsS$) y chalcopirita ($CuFeS_2$) para las cuales el oxígeno es el oxidante, se dan en las siguientes ecuaciones (Parbhakar-Fox y Lottermoser 2015):



La oxidación de la esfalerita (ZnS) y la galena (PbS) se muestran en las ecuaciones:



En presencia de Fe^{+3} la oxidación del MeS (Me = metal divalente) producirá acidez, como se documenta en la siguiente ecuación:



Generalmente, la reactividad de los sulfuros ha sido reportada en el orden de: pirrotita > galena - esfalerita > piritita - arsenopirita > chalcopirita (Moncur et al. 2009).

2.2.3. Biorremediación

La biorremediación es un método de tratamiento biológico de contaminantes ambientales en el que se requiere de organismos vivos como plantas y microorganismos que destruyen y/o transforman contaminantes peligrosos (Luna Solano 2018); por lo tanto, la biorremediación de suelos contaminados por metales pesados incluye todas las técnicas antes mencionadas (González Miranda 2016).

La biorremediación es una de las opciones más viables para corregir o reestablecer las condiciones naturales de suelos y aguas contaminadas que son considerados un riesgo para el hombre y los ecosistemas, ya que es una técnica económicamente eficiente y provee una solución permanente (Khalid et al. 2017; Huamán De La Cruz 2018).

2.2.3.1. Técnicas de biorremediación

El paso más importante para una biorremediación exitosa es la caracterización del sitio, que ayuda a establecer la técnica de biorremediación más adecuada y factible (*ex situ* o *in situ*). Las técnicas de biorremediación *ex situ* tienden a ser más costosas debido a los costos adicionales atribuidos a la excavación y al transporte. No obstante, pueden utilizarse para tratar una amplia gama de contaminantes de forma controlada; por el contrario, las técnicas *in situ* no tienen un costo adicional atribuido a la excavación; sin embargo, el costo de la instalación *in situ* del equipo, junto con la incapacidad de visualizar y controlar eficazmente el subsuelo del sitio contaminado, puede hacer que algunas técnicas de biorremediación *in situ* sean ineficientes. En consecuencia, el costo de la remediación aparentemente no es el factor principal que debe determinar la técnica de biorremediación que se va a utilizar en cualquier lugar contaminado, sino que las características geológicas de la zona de estudio incluyendo tipo de suelo, profundidad del contaminante, ubicación del sitio en relación con el asentamiento de las poblaciones y características de rendimiento de cada técnica de biorremediación en la toma de decisiones determinará el método más eficaz para tratar los lugares contaminados (Chibueze, Chioma y Chikere 2016; Liu et al. 2018).

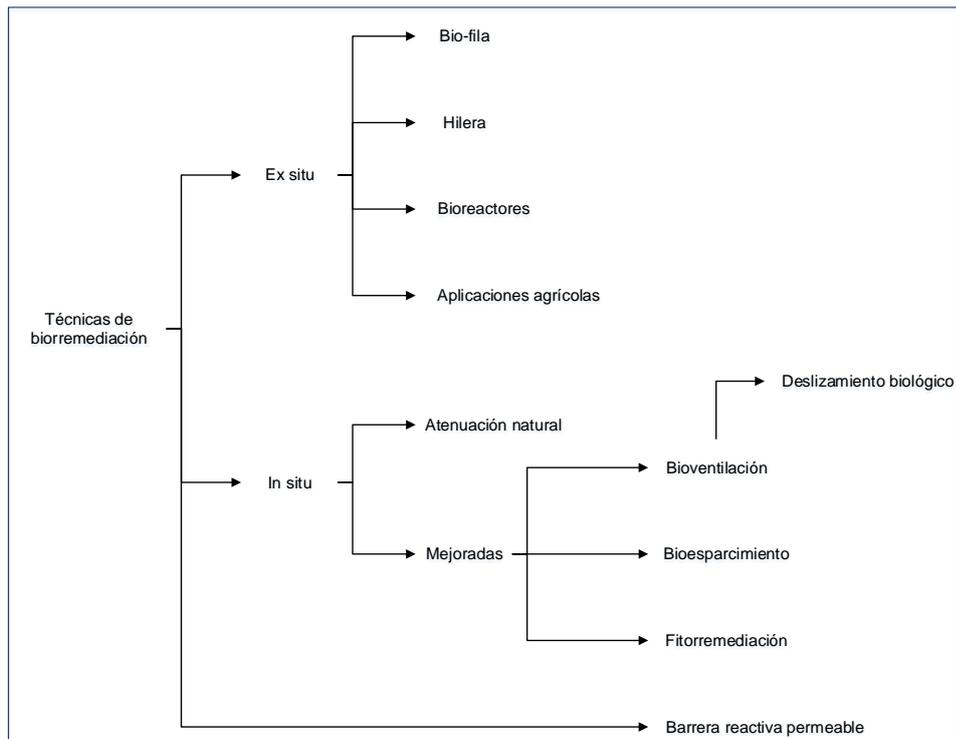


Figura 1. Técnicas de biorremediación ex-situ e in-situ.
 Fuente: Adaptado de (Chibueze, Chioma y Chikere 2016)

2.2.4. Fitorremediación

Uno de los tipos de biorremediación más utilizada es la fitorremediación, tecnología que usa plantas y microorganismos, término genérico para una serie de técnicas que combinan las disciplinas de la microbiología y química del suelo y la fisiología de las plantas (Paz Ferreiro et al. 2013; León Menacho 2017).

Esta técnica se basa en el uso de interacciones vegetales (físicas, bioquímicas, biológicas, químicas y microbiológicas) en sitios contaminados para mitigar los efectos tóxicos de los contaminantes; dependiendo del tipo de contaminante (elemental u orgánico), existen varios mecanismos (acumulación o extracción, degradación, filtración, estabilización y volatilización) involucrados en la fitoterapia; los contaminantes elementales (metales pesados tóxicos y radionucleidos) se eliminan en su mayoría por extracción, transformación y secuestro, mientras que, los contaminantes orgánicos (hidrocarburos y compuestos clorados) se eliminan predominantemente por degradación, rizoremediación, estabilización y volatilización (Dan 2001; Chibueze, Chioma y Chikere 2016).

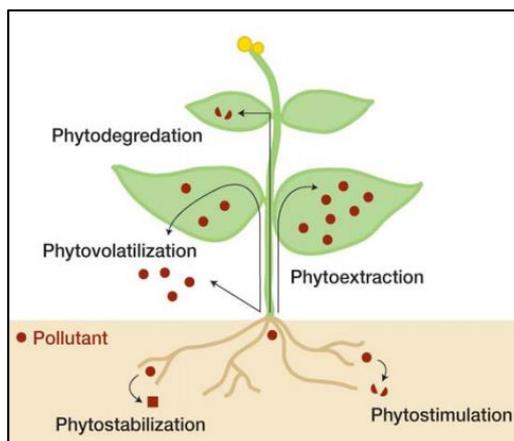


Figura 2. Representación esquemática de los distintos mecanismos de fitorremediación.
Fuente: Extraído de (Medina Marcos y Montano Chávez 2014)

2.2.4.1. Fitorremediación de suelos contaminados

Según el mecanismo de acumulación, extracción, inmovilización o transformación es que se clasifica el tipo de fitocorrección que realizan las plantas (León Menacho 2017), dichos tipos de fitocorrección mostrados en la **Figura 2** se describen a continuación:

Tabla 4. Técnicas de fitorremediación.

Técnicas de Fitorremediación	Proceso involucrado	Contaminación tratada
Fitoextracción	Las plantas se usan para concentrar los contaminantes en las partes cosechables sin desarrollar síntomas de toxicidad (principalmente la parte aérea).	Suelos y aguas contaminadas con metales.
Rizofiltración	Generalmente las plantas acuáticas, de humedales, algas, bacterias y hongos, resultan ser buenos para absorber, precipitar y concentrar metales mediante su absorción a partir de aguas contaminadas a través de sus raíces.	Agua contaminadas con metales pesados, isótopos radioactivos y compuestos fenólicos.
Fitoestabilización	Las plantas idóneas para su uso en la fitoestabilización son aquellas tolerantes a altas concentraciones de metales pero que no absorben ni movilizan los contaminantes, limitando la absorción por las raíces y/o evitando su translocación a la parte aérea.	Aguas subterráneas, suelo, lagunas contaminadas por desechos mineros.

<i>Fitovolatilización</i>	Las plantas captan y modifican los contaminantes o compuestos orgánicos y los liberan a la atmósfera con la transpiración.	Aguas residuales y suelos.
<i>Fitodegradación</i>	Es el proceso mediante el cual las plantas toman el contaminante y lo metabolizan transformándolo en un material sin riesgos para el medio natural.	Aguas subterráneas dentro de la rizósfera y el suelo.
<i>Remoción de contaminantes aéreos</i>	Absorción de diversos compuestos orgánico volátiles por las hojas.	Aire
<i>Fitoestimulación</i>	Es el proceso por medio del cual las raíces de las plantas, su microflora asociada y/o los productos excretados destruyen el contaminante en la zona radicular.	Aguas residuales y suelos contaminados con hidrocarburos o metales.

Fuente: Adaptado de (Arias Martínez et al. 2010; Medina Marcos y Montano Chávez 2014; Mendoza, Salazar y Bravo 2016).

2.2.5. Factores de concentración

Existen factores que permiten conocer la capacidad que tienen las plantas para absorber metales y traslocarlos del suelo a la parte aérea, tales como el factor de bioconcentración y el factor de traslocación.

2.2.5.1. Factor de bioconcentración (BCF)

También conocido como índice de bioconcentración (BI), coeficiente de absorción biológica (BAC), coeficiente de transferencia (TC), factor de concentración (Cf) o coeficiente de bioacumulación (BAC); se utiliza para medir la capacidad de captación de un metal por una planta (en la raíz y parte aérea) con relación a su concentración en el suelo (Medina Marcos y Montano Chávez 2014); para las plantas el factor de bioacumulación, se utiliza como una medida de la eficiencia de acumulación de metales en biomasa, donde valores mayores a 1 indican que las especies son potencialmente hiperacumuladoras y aquellas especies exclusoras poseen un BCF menores a 1, cuanto más menor sea este valor, mayor es su capacidad de exclusión; existen dos factores de bioacumulación (Riffo Estay 2016), los cuales son:

- ***Factor de bioconcentración en la raíz de la planta (BCF_{raíz} o FBR):***

Se calcula como la relación entre la concentración de metales en la raíz de la planta respecto a la concentración de metales en el suelo.

- *Si FBR > 1, la planta es potencialmente hiperacumuladora.*

- Si $FBR < 1$, la planta es exclusiva.
- **Factor de bioconcentración en la parte aérea de la planta ($BCF_{aérea}$ o FBA):**

Es la proporción del elemento contenido en la parte aérea de la planta con respecto al suelo

- Si $FBA > 1$, la planta es potencialmente hiperacumuladora.
- Si $FBA < 1$, la planta es exclusiva.

Tabla 5. Valores y fórmulas para factores de bioconcentración en una planta.

FACTOR	VALORES			FÓRMULA
	<1	>1; <10	>10	
FBR	EXCLUSORA	ACUMULADORA	POTENCIALMENTE HIPERACUMULADORA	$\frac{[metal_{raíz}]}{[metal_{suelo}]}$
FBA	EXCLUSORA	ACUMULADORA	POTENCIALMENTE HIPERACUMULADORA	$\frac{[metal_{aérea}]}{[metal_{suelo}]}$

Fuente: Adaptado de (Dueñas Salas 2015; Medina Marcos y Montano Chávez 2014; Riffo Estay 2016)

2.2.5.2. Factor de traslocación (FT)

Es el cociente entre la concentración del metal en los órganos aéreos y raíz (Medina Marcos y Montano Chávez 2014), factores de traslocación mayores a 1 sugieren gran capacidad para transportar metales desde las raíces hasta los vástagos, explicada en su mayor parte, por eficientes sistemas de transporte de metales y, probablemente, por secuestro de metales en las vacuolas de las hojas y en el apoplasto. Las plantas hiperacumuladoras se caracterizan por una relación concentración de metal parte aérea/concentración de metal raíz, mayor a 1. En cambio, las plantas no acumuladoras tienen una más alta concentración de metal en raíces que en las hojas y tallo (Riffo Estay 2016).

El factor de traslocación se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$FT = \frac{[metal_{aérea}]}{[metal_{raíz}]}$$

2.2.6. Especies vegetales altoandinas con potencial fitorremediador

En función a estudios realizados en Huaraz, Ancash, se ha elaborado una lista de 17 especies vegetales altoandinas que han presentado potencial para fitorremediar ambientes degradados por metales pesados, esta lista se generó con la finalidad de tener una base de datos con respecto a las plantas más

estudiadas y utilizadas en fitorremediación dentro de la zona de estudio. En esta lista se puede observar el tipo de contaminación en el cual fueron estudiadas las plantas, los cuales son el Drenaje Ácido de Mina (DAM) y el Drenaje Ácido de Roca (DAR), ambos son aguas ácidas, con elevadas concentraciones de metales, sulfatos, y altos niveles de sólidos disueltos totales, la principal diferencia entre ambas es que el DAM es generado por los procesos mineros, mientras que, el DAR es generado de forma natural debido a la interacción de la roca desnuda de glaciación (producto de la desglaciación) con el oxígeno y el agua.

Tabla 6. Lista de especies de plantas altoandinas con potencial de fitorremediación.

N°	ESPECIES CON POTENCIAL DE FITORREMEDIACIÓN					
	ESPECIE	FAMILIA	ÁREA DE ESTUDIO	CONTAMINACIÓN	METALES ANALIZADOS	REFERENCIA
1	<i>Achyrocline alata</i>	Asteraceae	Mesapata Microcuenca Quillcayhuanca	DAM, DAR	Cd, Cu, Ni, Pb, Zn	(León Menacho 2017; Loayza Muro 2018; Chang Kee et al. 2018)
2	<i>Baccharis spp.</i>	Asteraceae	Laguna Shallap	-	Al, Ba, Cu, Fe, Mn, Sr, Zn	(Loayza Muro 2014)
3	<i>Calamagrostis recta</i>	Poaceae	Quebrada Yanayacu, Microcuenca Quillcayhuanca	DAM, DAR	Cd, Cu, Ni, Pb, Zn	(Corpus Quiroz 2018; Loayza Muro 2018; Chang Kee et al. 2018)
4	<i>Calamagrostis brevifolia*</i>	Poaceae	Microcuenca Quillcayhuanca	DAR	Cd, Cu, Pb, Zn	(Loayza Muro 2018)
5	<i>Calamagrostis glacialis</i>	Poaceae	Nevado Pastoruri, Microcuenca Quillcayhuanca	DAR	Al, Fe, Mn, Ni, Cd, Cu, Pb, Zn	(Luna Solano 2018; Loayza Muro 2018)
6	<i>Calamagrostis ligulata</i>	Poaceae	Humedal de Mesapata y Huancapetí, Microcuenca Quillcayhuanca	DAM, DAR	Al, As, Cd, Cu, Pb, Zn, Fe	(Miguel et al. 2013; Palomino Cadenas 2007; Loayza Muro 2018)
7	<i>Juncus imbricatus*</i>	Juncaceae	Humedal de Mesapata y Huancapetí, Microcuenca Quillcayhuanca			

8	<i>Festuca glyceriantha</i>	Poaceae	Huancapetí, Microcuenca Quillcayhuanca	DAM, DAR	Cd, Cu, Ni, Pb, Zn	(Corpus Quiroz 2018; Loayza Muro 2018; Chang Kee et al. 2018)
9	<i>Huperzia crassa*</i>	Lycopodiaceae	Microcuenca Quillcayhuanca	DAR	Cd, Cu, Pb, Zn	(Loayza Muro 2018)
10	<i>Medicago polymorpha*</i>	Fabaceae				
11	<i>Festuca dolichophylla</i>	Poaceae				
12	<i>Juncus bufonius</i>	Juncaceae	Humedal de Mesapata, Microcuenca Quillcayhuanca	DAM, DAR	Cd, Cu, Pb, Zn, Fe	(Palomino Cadenas 2007; Loayza Muro 2018; Chang Kee et al. 2018)
13	<i>Lupinus spp.*</i>	Fabaceae	Laguna Shallap	-	Al, Ba, Cu, Fe, Mn, Sr, Zn	(Loayza Muro 2014)
14	<i>Medicago lupulina</i>	Fabaceae	Planta Polimetálica Mesapata, Collahuasi Microcuenca Quillcayhuanca	DAM, DAR	Cd, Cu, Ni, Pb, Zn	(Torres Saavedra 2018; Loayza Muro 2018; Chang Kee et al. 2018)
15	<i>Penicetum clandestinum</i>	Poaceae	Planta Polimetálica Mesapata, Microcuenca Quillcayhuanca	DAM, DAR	Cd, Cu, Ni, Pb, Zn	
16	<i>Scirpus olneyi*</i>	Cyperaceae	Humedal de Mesapata	DAM, DAR	Cd, Cu, Pb, Zn, Fe	(Palomino Cadenas 2007)
17	<i>Werneria nubigena*</i>	Asteraceae	Quebrada Yanayacu Microcuenca Quillcayhuanca	DAR DAM	Cd, Cu, Pb, Zn	(Loayza Muro 2018; Chang Kee et al. 2018)

*Plantas altoandinas con poca investigación

Metales priorizados por INAIGEM: Al, Cu, Fe, Mn y Zn.

DAR: Drenaje Ácido de Roca

DAM: Drenaje Ácido de Mina

Fuente: Elaboración propia.

2.2.7. Biochar

2.2.7.1. Definición

El biochar es un producto obtenido de un proceso termoquímico conocido como pirólisis, las fuentes de materia prima para la producción de biochar son muy variables, pudiendo ser residuos forestales, agropecuarios, municipales, etc. (Fow Esteves y Camino Tenorio 2018), actualmente la definición exacta del término biochar y sus potenciales aplicaciones ha sido estudiada, discutida y analizada ampliamente por la comunidad científica (Trujillo Aranda 2017).

Según Lehmann, Gaunt y Rondon (2006) y Lehmann (2009) el biochar es el producto de la degradación térmica de los materiales orgánicos en ausencia de aire, y se distingue del carbón vegetal por su uso como enmienda del suelo, cuenta con potencialidad para mejorar la fertilidad del suelo, así como otros servicios de los ecosistemas, y secuestrar carbono para mitigar el cambio climático; los efectos positivos sobre la fertilidad del suelo se han explicado principalmente por un aumento del pH en suelos ácidos, mejorando la adsorción de nutrientes mediante la mejora de capacidad de intercambio catiónico.

Según la Iniciativa Internacional del Biochar (*IBI, International Biochar Initiative*) mediante una guía realizada por Major (2010) menciona que el biochar contiene carbono estable (C) y después de añadirlo al suelo, este carbono permanece secuestrado durante períodos mucho más largos de lo que lo haría en la biomasa original de la que se hizo el biochar, propiedad conocida como recalcitrancia, además se ha demostrado repetidamente mejoras en el rendimiento de los cultivos con biochar en suelos tropicales ácidos y muy erosionados.

Según Zheng et al. (2018) el biochar es un material sólido poroso rico en carbono, se produce por conversión termoquímica de materiales orgánicos en ausencia o presencia de aire limitado a 350-270 °C y se produce intencionalmente para mitigar el cambio climático secuestrando carbono en los suelos y mitigando las emisiones de gases de efecto invernadero (por ejemplo, CO₂, CH₄ y N₂O), mejorando las propiedades del suelo y aumentando el crecimiento y la productividad de los cultivos.

Actualmente las investigaciones en cuanto a biochar han crecido exponencialmente (Zheng et al. 2018) y son más específicas y/o especializadas, por ejemplo, hay investigaciones acerca de biochar magnetizado (Yi et al. 2019), biochar modificado para tratamiento de aguas contaminadas (Li et al. 2019), etc. demostrando así que la comunidad científica se encuentra realizando mejoras en los distintos tipos de biochar a fin de mejorar su efectividad según sea su objetivo de estudio.

2.2.7.2. Aplicaciones y propiedades del biochar

El biochar ha sido ampliamente utilizado para la remediación ambiental in situ (Huang, Hui et al. 2017), su producción y aplicaciones proporcionan varias corrientes de valor importantes adicionales más allá de la mitigación directa del cambio climático (Lehmann 2009).

Según una revisión bibliográfica realizada por (Fow Esteves y Camino Tenorio 2018) demuestra que el biochar ha sido utilizado con el fin de fertilizar y mejorar la calidad del suelo para la sostenibilidad agrícola (Riaz et al. 2017), así como una mejora en las propiedades hidrológicas de un suelo arenoso con el uso del biochar elaborado a partir de madera de pino (Suliman et al. 2017) y con la mineralización de nitrógeno en un suelo alcalino con deficiencia de carbono usando biochar elaborado a partir de mazorca de maíz a escala de laboratorio (Riaz et al. 2017). También han demostrado que el biochar tiene potencial como adsorbente medioambiental para eliminar contaminantes orgánicos e inorgánicos de los sistemas de agua (Mohan et al. 2014; Jin et al. 2014), eliminación de cadmio en una solución acuosa con el uso de biochar elaborado a partir de *Ipomoea fistulosa*, llevada a condiciones de pirolisis lenta (Goswami et al. 2016), para contaminantes orgánicos tenemos el caso de la eliminación de glifosato con el uso de biochar obtenido a partir de cascara de arroz (Herath et al. 2016). El biochar también reduce la biodisponibilidad de metales pesados en suelos contaminados previniendo su riesgo de entrar en la cadena alimentaria (Lu et al. 2014), como la eliminación elemental de mercurio derramado en un suelo de cultivo con el uso de biochar elaborado con residuos sólidos municipales llevado a condiciones de pirolisis rápida (Li et al. 2015), la recuperación de suelos contaminados con Cd, Cr, Ni, Cu, Pb, Zn después de 35 años con el uso de biochar obtenido a partir de tallos de maíz a escala industrial (Qiao et al. 2015), además mitiga la lixiviación de pesticidas en suelos (Cederlund, Börjesson y Stenström 2017), como la reducción del lixiviado de glifosato en suelos agrícolas con el uso de biochar elaborado de madera de abedul (Hagner et al. 2015). Investigaciones también demuestran el papel del biochar como reductor de las emisiones de gases de efecto invernadero (GHG) con el uso de biochar elaborado a partir de residuos de cultivo de aceite de palma (Harsono, Grundmann y Siahaan 2015) y el potencial de secuestrar el carbono y mantener los servicios del ecosistema del suelo con biochar elaborado a partir de virutas de madera caducifolias y coníferas (Andert y Mumme 2015), asociaciones de biochar y compost para mejorar la fitorremediación en suelos contaminados por metales pesados (Sun, Sha y Chunming 2018; Ogundiran, Mekwunyei y Adejumo 2018), investigaciones recientes demuestran modificaciones en el biochar para potenciar su efectividad según sea el caso de aplicación, por ejemplo Park et al. (2019) impregno de azufre a un biochar producido a partir de astillas de madera para la sorción de Hg (II) en aguas, Shen

et al. (2019) impregnó de MgO a un biochar producido a partir de tuza de maíz para la inmovilización de Pb en el suelo.

Las propiedades y/o características físicas y químicas de un biochar dependen del proceso mediante el cual fue producido, existen relaciones atómicas como la H/C y O/C que sirven para estimar la estabilidad de las enmiendas producidas, las cuales se relacionan directamente con el contenido de grupos funcionales (grupo carboxilo, hidroxilo, etc.) presentes en la materia carbonosa y que afecta a la capacidad de intercambio catiónico (Milesi Delaye et al. 2016), además es importante determinar los niveles de N, P, K, pH, C, H, O, S y la conductividad eléctrica del biochar, ya que estos influyen directamente en la efectividad de su aplicación (Fow Esteves y Camino Tenorio 2018).

2.2.7.3. Procesos de producción del biochar

El proceso de producción de biochar más aplicado es el de la pirólisis lenta, sin embargo, existen otros procesos mediante los cuales se obtiene biochar, como la carbonización hidrotermal y la gasificación.

- Pirólisis

El proceso de pirólisis se puede dividir en: lenta, rápida y flash, la diferencia entre estos son las condiciones del proceso que implican los tiempos de residencia, la velocidad de calentamiento, el tamaño de partícula y la temperatura (Canabarro et al. 2013), conduciendo a la producción de aceite líquido útil, gases y productos sólidos (Goyal, Seal y Saxena 2008). Esta facilidad para combinar la temperatura y los tiempos de residencia hace que la pirólisis sea un proceso muy versátil, lo que ha permitido el desarrollo de muchas posibilidades tecnológicas diferentes. En general, los procesos de pirólisis se diferencian entre sí en cuanto a la rapidez con la que se eleva la temperatura (Novotny et al. 2015).

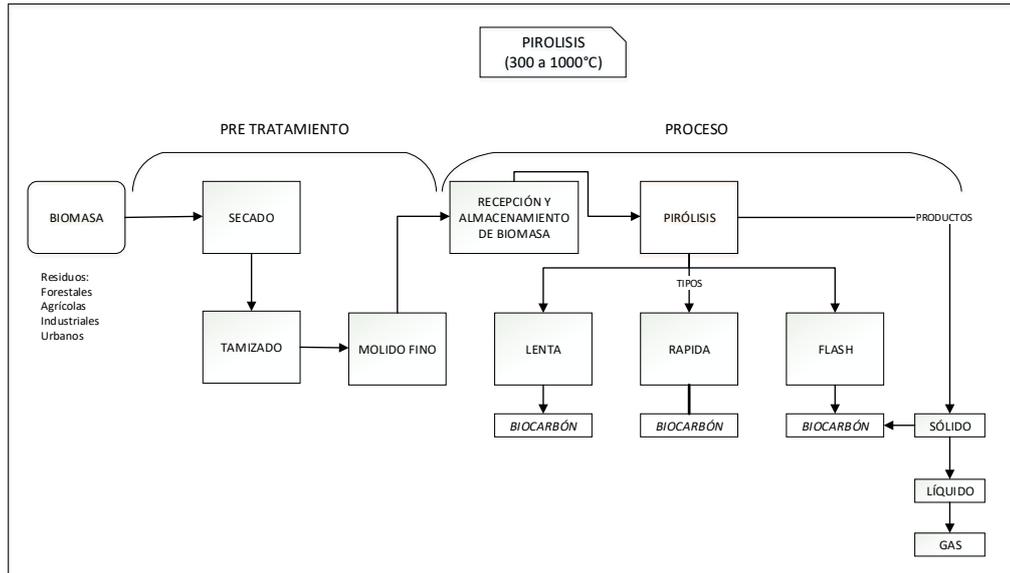


Figura 3. Descripción del proceso de pirólisis.

Fuente: Extraído de (Fow Esteves y Camino Tenorio 2018)

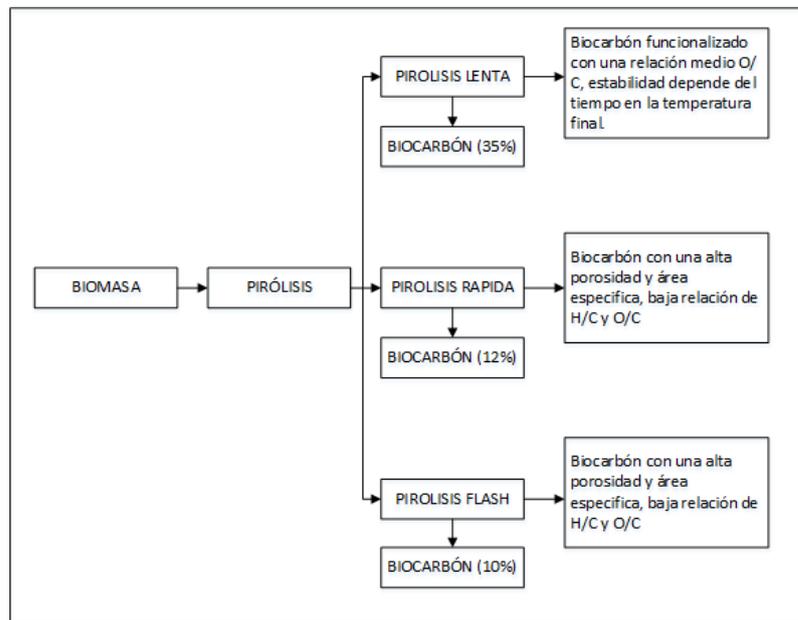


Figura 4. Rendimiento de la producción de biochar según el tipo de pirólisis.

Fuente: Adaptado de (Novotny et al. 2015)

- Carbonización hidrotérmica

La carbonización hidrotérmica (HTC) de la biomasa tiene lugar en el agua a temperaturas elevadas (160-800 °C). Dado que la temperatura del agua está por encima de 100 °C, también hay que elevar la presión de acción (más de 1 atm) a la corriente principal en el agua en forma líquida (Qian et al. 2015), la HTC tiene como principal fin la producción de aceite y líquidos.

El rendimiento de carbón de la biomasa de baja temperatura HTC varía de 30% a 60% dependiendo de las propiedades del material de alimentación, la temperatura y la presión de reacción. Dado que HTC requiere agua, este puede ser un método rentable de producción de biocarbón para biomásas con alto contenido de humedad.

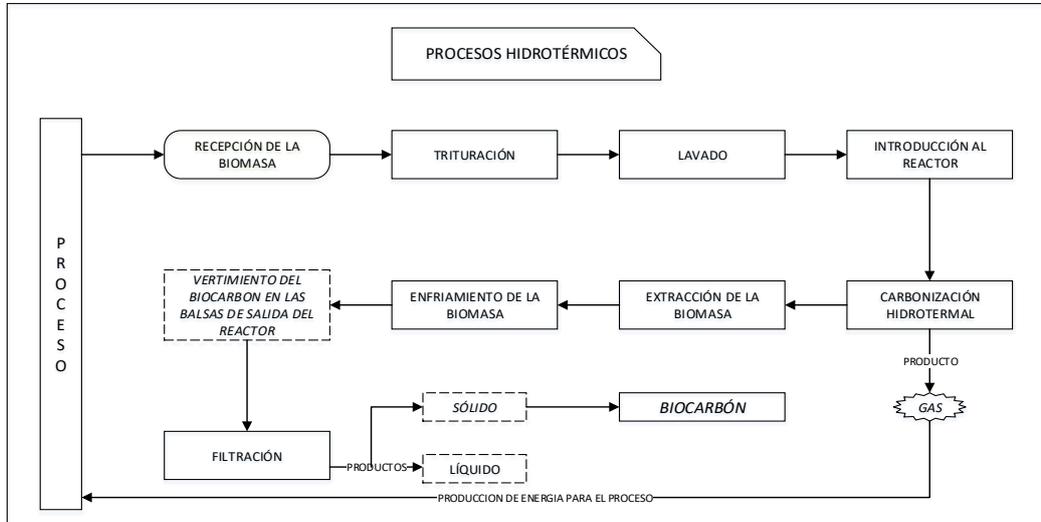


Figura 5. Descripción del proceso hidrotérmico
Fuente: Extraído de (Fow Esteves y Camino Tenorio 2018)

- **Gasificación**

La gasificación transforma la biomasa principalmente en una mezcla de productos gaseosos (gases de síntesis que contienen CO, H₂, CO₂, CH₄, y cantidades pequeñas de hidrocarburos); el rendimiento típico de biocarbón de la gasificación promedia aproximadamente 10% en peso de biomasa (Qian et al. 2015).

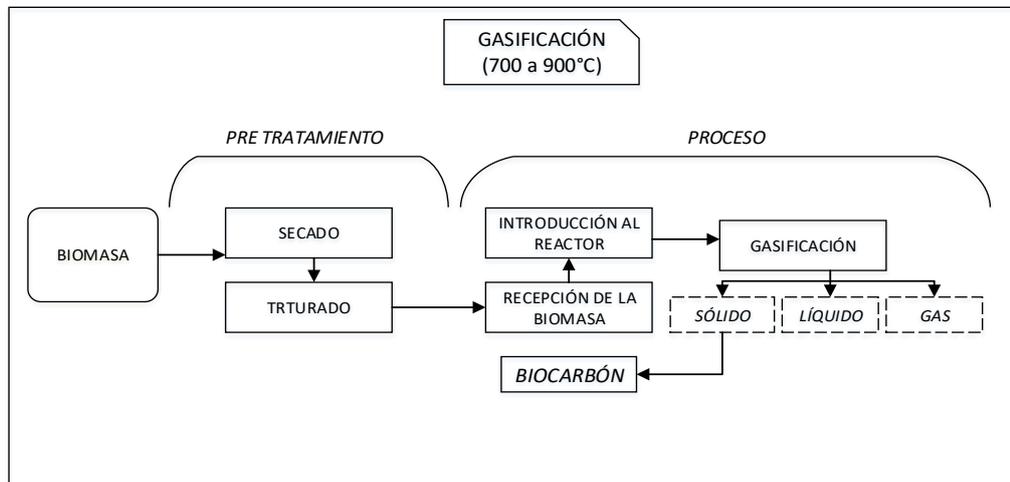


Figura 6. Descripción del proceso de gasificación.
Fuente: Extraído de (Fow Esteves y Camino Tenorio 2018)

Estudios muestran un rango entre 18% y 77% (Inyang et al. 2010; Zhang et al. 2013) para la producción de biochar mediante pirólisis lenta, 12% y 60% (Agblevor et al. 2010; Kim et al. 2012) para pirólisis rápida, 30% y 60% (Poerschmann et al. 2013; Kruse, Funke y Titirici 2013) para carbonización hidrotermal y 10% (Meyer, Glaser y Quicker 2011) para gasificación, por lo que la opción más conveniente para producir biochar es mediante pirólisis lenta.

2.2.7.4. Tecnologías para la producción de biochar

Debido a que desde mediados del 2017 se conoce que la producción de biochar mediante pirólisis lenta es la más adecuada la Iniciativa Internacional del Biochar y otros investigadores se ha encargado de difundir distintas metodologías para una producción adecuada basadas en experiencias; por ejemplo, los sistemas de producción de gasificación y pirólisis pueden ser desarrollados como unidades móviles o estacionarias, a nivel local o regional, las unidades de pirólisis y gasificación pueden ser operadas por cooperativas o industrias más grandes, y pueden procesar hasta 4.000 kg de biomasa por hora, mientras que los sistemas de gasificación y pirólisis a pequeña escala que pueden ser utilizados en granjas o por pequeñas industrias están disponibles comercialmente con insumos de biomasa de 50 kg/hr a 1.000 kg/hr (IBI 2018).

Hasta la fecha, las principales tecnologías utilizadas en las unidades que caen dentro de esta categoría son las unidades de autoclaves; las unidades TLUD (*Top Lit Up Draft*) y los hornos de doble tambor (IBI 2018), como es el caso de Guerra Laura (2015) que construyó un horno diseño común de dos tambores cilíndricos destinados para la producción de biochar en lotes de pequeñas cantidades para fines de análisis e investigación (**Figura 7a**), o el caso de Iglesias Abad (2018) que produjo biochar de dos maneras, la primera fue una producción bajo tierra la cual se basaba en el procedimiento de elaboración de carbón de las carbonerías de la zona de estudio (**Figura 7c**) y la segunda producción mediante la construcción de un horno tipo retorta y de doble cámara basándose en un diseño propuesto por el Departamento de Montes de la FAO (**Figura 7b**); obteniendo resultados positivos en ambas investigaciones.



Figura 7. Técnicas de producción de biochar (a. producción en un horno de doble tambor, b. producción en un horno de retorta y doble tambor, c. producción bajo tierra)
Fuente: Extraído de (Guerra 2015; Iglesias Abad 2018)

Existen otras técnicas para la producción de biochar que son validadas por el IBI (2018) y Lehmann y Joseph (2009) en el libro “**Biochar for Environmental Management**”, como es el caso de Zegarra Torres (2015) que utilizó un horno de barro el cual tenía un orificio por donde ingresaba la biomasa y una vez encendida ese orificio era sellado con barro, el biochar producido fue a partir de restos de ramas y vísceras de pescado (**Figura 8a**), o como es el caso de Ithaka Institute (2014) quienes desde el 2014 vienen promoviendo una técnica de producción de biochar denominada “KON-TIKI” (**Figura 8b**) la cual consta de una estructura metálica en forma de cono invertido y produce biochar mediante oxigenación controlada, es decir, se realiza una primera carga la cual se prende hasta que arda lo suficiente para que no se apague, luego se añade otra carga encima de la anterior y ésta última carga evitará el ingreso de oxígeno al cono, finalmente se ingresan cargas de biomasa la estructura metálica hasta culminar, es una metodología ampliamente probada, de bajo costo, que ha obtenido biochar de buena calidad, sin generar emisiones contaminantes (debido al control de la selección de biomasa) al medio ambiente y valores de pH relativamente altos lo cual es ideal para suelos ácidos Eurofins (2014).



Figura 8. Técnicas de producción de biochar (a. producción en horno de barro, b. producción en KON-TIKI).

Fuente: Extraído de (Zegarra Torres 2015; Ithaka Institute 2014)

Como se puede observar en la **Figura 8**, en las técnicas mostradas no se puede controlar la temperatura de producción de biochar, sólo se puede monitorear, las técnicas mostradas fluctúan entre 500°C a 750°C durante la producción del biochar, estas temperaturas dependen la biomasa utilizada durante la producción; existen hornos con tecnología más avanzada donde se puede controlar el tiempo de residencia y la velocidad de calentamiento, con ingreso se N₂ para lograr desplazar al oxígeno por completo, sin embargo, los costos para construir ese tipo de hornos son relativamente altos, un ejemplo de estos hornos es el caso del pirolizador de flujo continuo (**Figura 9a**) usado por CINCIA (2018) para la producción de biochar a partir de cáscaras de coco para aportar a la reforestación en Madre de Dios, este horno tiene la capacidad de controlar un nivel máximo de temperatura y además controlar la velocidad de calentamiento obteniendo un biochar producido bajo parámetros de producción controlados; este tipo de hornos también pueden ser móviles (**Figura 9b**) y fueron diseñados con la finalidad de evitar trasladar grandes cantidades de biomasa a una planta de producción y producir biochar de manera segura y controlada en distintos lugares (IBI 2010).



Figura 9. Hornos de producción de biochar (**a.** pirolizador de flujo continuo, **b.** horno de retorta móvil).

Fuente: Extraído de (CIN CIA 2018; IBI 2010)

2.2.8. Pruebas rápidas de germinación y desarrollo de una plántula para determinar toxicidad en el biochar

Durante las últimas décadas ha habido un amplio interés mundial en utilizar biochar para mitigar el cambio climático mediante su capacidad de almacenar carbono en el suelo (Gascó et al. 2016); tiene una importancia vital como aditivo al suelo, debido a sus características fisicoquímicas que son responsables de resolver los problemas ambientales y mitigar el cambio climático (Al-Wabel et al. 2018). Sin embargo investigaciones recientes reportan que la aplicación del biochar podría causar efectos adversos como por ejemplo, inhibición del crecimiento de las plantas en suelos y en microorganismo acuáticos (Buss et al. 2016; Zhang, Ying et al. 2019), pudiendo deberse a que durante la

descomposición termoquímica de la biomasa, la lignina y celulosa se degradan y pueden producir compuestos fenólicos, como los hidrocarburos poli aromáticos (HAP) y las dioxinas, los cuales representan un riesgo potencial para la biota del suelo (Garlapalli, Wirth y Reza 2016); es por ello que previamente a su aplicación en suelos se necesita desarrollar pruebas de toxicidad que sean cortas en tiempo y fiables en resultados, por ejemplo en una investigación realizada por Olszyk et al. (2018) se desarrollaron pruebas rápidas para detectar los efectos de seis tipos de biochar en la germinación de las semillas en dos tipos de suelo analizando las propiedades del biochar en laboratorio; mientras que, en un artículo de revisión Zheng et al. (2018) demuestra la cantidad de casos en que el biochar no resultó beneficioso en su aplicación, además de clasificar estas situaciones por cada contaminante hallado y cómo influyó en el desarrollo del experimento, una de sus conclusiones más resaltantes fue que se deben proponer varias pruebas biológicas simples y rápidas, como la prueba de germinación y la prueba de evitación de lombrices, para verificar rápidamente la calidad y la seguridad del biochar en aplicaciones prácticas, ante esa premisa se vuelve necesario y obligatorio realizar bioensayos de germinación y evaluación del desarrollo de la plántula.

Los bioensayos de germinación y evaluación del desarrollo de la plántula se proponen como un método rápido para evaluar la toxicidad del biochar, previniendo que éste afecte al suelo, el desarrollo de alguna planta y/o cultivo; las pruebas que sirven para descartar la toxicidad del biochar son propuestas inicialmente por investigadores relacionados a la Iniciativa Internacional del Biochar, en el boletín técnico #101 realizado por Major (2011) menciona una serie de pasos para descartar cualquier tipo de toxicidad en el biochar mediante pruebas rápidas con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), dicha prueba consiste en mezclar el biochar con el suelo, pudiendo ser la mezcla a usar en el proyecto o no, y propone colocar en cada tratamiento alrededor de 20 semillas de lechuga por contenedor, luego mantener el suelo a un nivel de humedad estandarizado hasta poder observar el crecimiento de las plántulas de lechuga, finalmente cuando haya concluido la prueba, se procede a contar las plántulas de lechuga de cada tratamiento incluyendo el “blanco” o “control”, comparar y verificar que el número de semillas germinadas en el suelo combinado con biochar sea mayor o igual al número de semillas germinadas en la prueba de control, con ese resultado basta para determinar algún tipo de toxicidad en el biochar, sin embargo la investigación realizada por Sobrero y Ronco (2004) denominado “*Ensayo de la toxicidad aguda con semillas de Lactuca sativa*” muestra pruebas donde se mide el efecto fito-tóxico de compuestos puros en el desarrollo fisiológico de las plántulas, en esta prueba se miden y/o calculan parámetros como el porcentaje de inhibición en la germinación y la inhibición en la elongación de la radícula y del hipocófito, según Cuevas Díaz et al. (2015) las

pruebas de toxicidad aguda con semillas evalúan los efectos adversos de los contaminantes en el proceso de germinación y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento, tal y como se observa en el experimento realizado por Rodríguez Romero et al. (2014) donde calculan índices de germinación y elongación radical en las plántulas de *Lactuca sativa* L. para mejorar los resultados de biomonitoreos ambientales de calidad de agua, índices sencillos y rápidos de calcular que brindan información sustancial sobre la toxicidad de algún elemento y pueden aplicarse al suelo, tras la revisión bibliográfica de metodologías para evaluar la toxicidad de compuestos mediante pruebas en plántulas de *Lactuca sativa* L. se formuló una metodología que busca adaptar e integrar los índices de diferentes métodos de determinación de la toxicidad para los casos de aplicación de biochar a fin de generar una prueba rápida de determinación de la toxicidad del biochar y que además genera datos suficientes para determinar un rango óptimo de aplicación en una investigación futura de mayores dimensiones.

2.2.9. Biochar en la fitorremediación

Existe una gran cantidad de informes en la literatura sobre enmiendas como la cal y el compost que se utilizan para reducir la biodisponibilidad de los metales pesados y, por lo tanto, tienen el potencial de combinarse con la fitorremediación; el biochar se ha utilizado anteriormente para estabilizar los metales pesados del suelo y, por lo tanto, reducir la absorción por parte de las plantas, sin embargo, hasta hace poco no había experimentos que trataran de combinar ambos enfoques para la remediación del suelo (Paz Ferreiro et al. 2013).

Según los últimos estudios el biochar puede reducir la biodisponibilidad y lixiviabilidad de los metales pesados en el suelo, mientras que, por otro lado, los fitoextractores se pueden potenciar reduciendo la cantidad de metales pesados del suelo en áreas contaminadas (Paz Ferreiro et al. 2013); por ejemplo Zhang et al. (2019) aplicó dosificaciones del 1.5%, 3% y 6% de biochar en suelos contaminados con Cd y fungicidas orgánicos para mejorar la fitorremediación de *Medicago sativa* L. (alfalfa), determinando que la dosificación de 1.5% promovió el crecimiento radicular y de la biomasa de la alfalfa por ende fue la dosificación que más aumentó las concentraciones de Cd en la distintas partes de la planta; otro caso como el de Moore et al. (2017) que aplicó dosificaciones de 1%, 2%, 3%, 4% y 5% de biochar producido a partir de gallinaza y paja de arroz en suelos contaminados con Cu para mejorar la fitorremediación de *Oenothera picensis*, determinando que la dosificación del 5% para ambos tipos de biochar aumentó considerablemente el volumen de las raíces de la planta en comparación con los otros tratamientos y por ende fue la dosificación donde la planta pudo extraer mayor cantidad de metales tanto en sus raíces como en sus hojas.

Los beneficios potenciales de la aplicación del biochar en la fitoestabilización se pueden resumir en la **Figura 10**. La superficie de carga negativa del biocarbón y la naturaleza alcalina pueden adsorber y retener iones metálicos tóxicos por diferentes mecanismos, además, el biochar, también favorece un ambiente más favorable del suelo para los microorganismos benéficos y el desarrollo de las raíces de las plantas al liberar lentamente los nutrientes y mantener buenas estructuras del suelo (Sun, Sha y Chunming 2018).

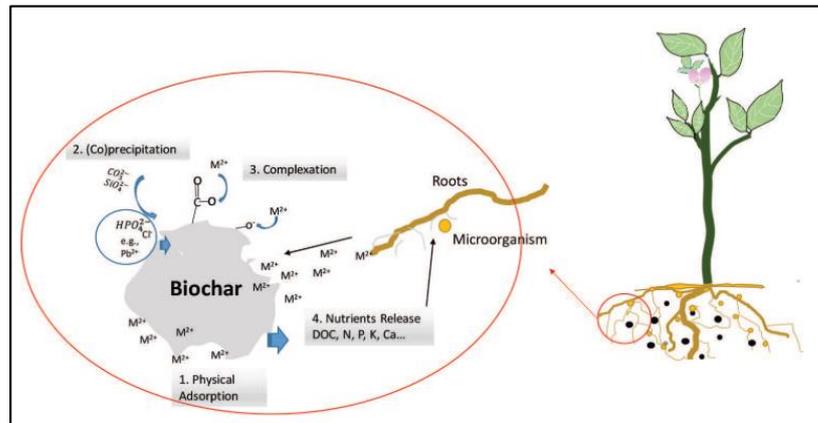


Figura 10. Posibles efectos positivos obtenidos mediante la combinación de fitorremediación y biochar para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados.

Fuente: Extraído de (Sun, Sha y Chunming 2018)

En la **Figura 10** se observan procesos enumerados los cuales se describen de la siguiente manera:

- (1) Adsorción física de metales catiónicos del agua de los poros del suelo.
- (2) (CO)precipitación con fosfato, carbonatos, silicato y cloruro.
- (3) Complejación con grupos funcionales en la superficie del biochar.
- (4) Liberación de nutrientes como N, P, K y Ca.

Los procesos (1, 2 y 3) se refieren a que el biochar puede reducir las concentraciones de metales biodisponibles en el agua de los poros del suelo y reducir aún más la fitotoxicidad.

2.3. Marco Conceptual

2.3.1. Cambio climático

El cambio climático es uno de los desafíos más importantes que enfrenta el mundo moderno (Lehmann, Gaunt y Rondon 2006), ya no cabe duda alguna de que es la temática ambiental más importante, que va en aumento y está afectando el bienestar humano y el desarrollo sostenible, desde el crecimiento económico hasta la seguridad alimentaria (PNUMA 2014).

Existen fuentes que aceleran el calentamiento global y están alterando el clima a escala global (IPCC 2014). Según Olmo (2016) la contribución principal para el calentamiento global son en su mayoría las emisiones de óxidos de nitrógeno procedentes de la actividad microbiana del suelo (nitrificación y desnitrificación) y descomposición de la materia orgánica, como también las emisiones antropogénicas de CO₂ y CH₄ (Beesley et al. 2011).

Existen numerosos trabajos que demuestran el cambio en los diferentes componentes climáticos a nivel global, regional y local, del mismo modo sobre los cambios que se vienen dando en el ámbito de la Cordillera Blanca con respecto a las variables climáticas como el incremento en la temperatura, con una aceleración a partir de la segunda mitad de la década de 1970, cambios zonales en el régimen de precipitación y el proceso de desglaciación que repercute en la disminución tanto de la masa como de la superficie de los glaciares y en la provisión de agua para la población en las partes bajas, entre otros (Reyes Nolasco 2018).

Al igual que en las montañas de todo el mundo, los glaciares andinos tropicales están experimentando una pérdida de masa que demuestra una evidencia categórica del cambio climático mundial y que suscita preocupación por el suministro sostenible de agua; los análisis muestran que el forzamiento climático es complejo y puede variar según la escala en estos entornos de baja latitud (Mark et al. 2017); los modelos regionales pronostican que la magnitud del cambio climático en los altos Andes Tropicales será uno de los más graves a nivel mundial, comparándola con los cambios en las latitudes altas del hemisferio norte, particularmente en lo que se refiere al calentamiento a grandes alturas; lo diferente en los Andes Tropicales son los impactos directos sobre las vidas y el sustento de millones de personas económicamente vulnerables y que dependen de los bienes y servicios que le ofrecen estos ecosistemas; principalmente sobre la disponibilidad de agua (Vuille et al. 2017; Reyes Nolasco 2018); la variable de referencia registrada en el Perú, en la que podemos guiarnos para saber si hay cambio climático es la temperatura ambiental, Reyes Nolasco (2018) indica que desde 1948 a 1976, las series temporales de temperatura media muestran un comportamiento similar, siendo a partir del año 1977, que se produce un cambio, en la tendencia, que se manifiesta en un incremento que va de acuerdo con los cambios detectados en otras regiones del planeta y que para el caso de la Cordillera Blanca significó un incremento de 0.5 grados.

El deshielo en la Cordillera Blanca está dejando expuestas a la intemperie rocas mineralizadas, que al oxidarse producen drenaje ácido y liberan metales desde las cabeceras de cuenca hasta los ríos, altera la calidad del agua, del suelo y del ambiente en general, modificando los ecosistemas de montaña y por ende

perjudicando a los pobladores que se benefician de este recurso (Loayza Muro 2014).

2.3.2. Desglaciación y cambio climático

La aceleración de la recesión de los glaciares en las tierras altas tropicales y en los Andes peruanos específicamente es una la manifestación del cambio climático global que está influyendo en el ciclo hidrológico y que está afectando recursos hídricos (Vuille et al. 2017), el retroceso glaciar tendría consecuencias negativas sobre la disponibilidad del agua, considerando que la mayor parte de los ríos de la vertiente occidental de nuestros andes presentan un mayor caudal sólo durante el período de lluvias (diciembre- abril) mientras que para el período de estiaje (mayo-noviembre) se abastecen ya sea por el escurrimiento por infiltración de las zonas altas o por la fusión del hielo de los glaciares (como ejemplo, aproximadamente el 40% del caudal del río Santa en período de estiaje proviene de la desglaciación) (Reyes Nolasco 2018).

Una de las consecuencias del contexto del cambio climático y desglaciación es lo relacionado a los procesos geoquímicos que se tienen a partir de una litología con abundancia de sulfuros y específicamente con piritas, este mineral se ha formado en condiciones reductoras (en ausencia de oxígeno) y se mantiene como tal cuando el glaciar cubre la superficie de la roca; sin embargo, cuando el glaciar se funde, los minerales quedan expuestos al aire, la pirita se oxida, se generan una serie de reacciones que llevan a la formación de hidróxido de hierro ($\text{Fe}(\text{OH})_3$) y ácido sulfúrico (H_2SO_4), creándose un entorno muy ácido sumamente agresivo (Reyes Nolasco 2018), degradando y modificando por completo los ecosistemas de montaña; estos contaminantes pueden transferirse a otros medios naturales, a través de procesos de lixiviación, disolución y erosión, convirtiéndolos en un gran riesgo para los ecosistemas; pudiendo acumularse en plantas y animales llegando a causarles efectos severos y pueden llegar a afectar la salud de los seres humanos por medio de la cadena trófica (Huamán De La Cruz 2018). De este modo, la desglaciación no solo está dejando a la región Ancash, sin un destino turístico a futuro, sino que también está dejando una gran cantidad de roca expuesta a la meteorización y consecuentemente irá generando mayores cantidades de drenajes ácidos (Luna Solano 2018).

2.3.3. Legislación referida a suelos

En el Perú, la aprobación de los Estándares de Calidad Ambiental Suelo - ECA Suelo, desde su primera versión, responde a una necesidad imperiosa de contar con instrumentos que permitan verificar el cumplimiento de las obligaciones ambientales en todos los proyectos y actividades que se desarrollen en el país,

que generen o puedan generar riesgos de contaminación de suelo (Avelino Carhuaricra 2013).

En ese sentido, el ECA-Suelo es una medida que establece el nivel de concentración o el grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos; que es necesaria ya que permite promover acciones de prevención y remediación ambiental en varios lugares del país que tienen suelos contaminados o con pasivos ambientales como hidrocarburos o minería, que afectan actualmente la salud y el desarrollo de actividades económicas competitivas y sostenibles (Avelino Carhuaricra 2013).

El ECA-Suelo vigente fue mediante Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM y comprende los parámetros mostrados en la **Tabla 7**, se puede observar que dicha normativa nacional no considera valores de pH, conductividad eléctrica en el suelo y la cantidad de metales es reducida por lo que en diferentes trabajos de investigación se utiliza también la norma canadiense denominada Norma de Calidad del Suelo para la Protección de la Salud Ambiental y Humana de las Normas Canadienses de Calidad Ambiental, la cual considera una mayor cantidad de parámetros aplicables en distintas situaciones y/o realidad y además es más rigurosa en cuanto valores permitidos **Tabla 8**.

Tabla 7. *Parámetros inorgánicos evaluados en el Estándar de Calidad Ambiental para suelo en Perú*

Parámetros inorgánicos en mg/kg	Usos de suelo		
	Suelo agrícola	Suelo residencial / Parques	Suelo Comercial / Industrial / Extractivo
Arsénico	50	50	140
Bario total	750	500	2000
Cadmio	1.4	10	22
Cromo total	**	400	1000
Cromo VI	0.4	0.4	1.4
Mercurio	6.6	6.6	24
Plomo	70	140	800
Cianuro Libre	0.9	0.9	8

Fuente: Extraído de (MINAM 2017)

Tabla 8. Norma canadiense para calidad de suelo

Parámetro	Tipo de uso de suelo y textura							
	Agricultura		Residencial		Comercial		Industrial	
	Grueso	Fino	Grueso	Fino	Grueso	Fino	Grueso	Fino
INORGÁNICOS (mg/kg)								
Arsénico	12		12		12		12	
Cadmio	1.4		10		22		22	
Cobre	63		63		91		91	
Plomo	70		140		260		600	
Mercurio	6.6		6.6		24		50	
Níquel	50		50		50		50	
Zinc	200		200		360		360	
FÍSICO QUÍMICOS								
pH	6 - 8		6 - 8		6 - 8		6 - 8	
Conductividad (dS/m)	2		2		4		4	

Fuente: Extraído de (Canadian Council of Ministers of the Environment 2007)

2.3.4. Legislación referida a agua

En el Perú, los Estándares de Calidad Ambiental Agua (ECA-Agua), responden a una necesidad de contar con instrumentos que permitan verificar el cumplimiento de las obligaciones ambientales en todos los proyectos y actividades que se desarrollen en el país, que generen o puedan generar riesgos de contaminación de agua; el ECA-Agua es una medida que establece el nivel de concentración o el grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos; que es necesaria ya que permite promover acciones de prevención y remediación ambiental en varios lugares del país que tienen aguas contaminadas.

El ECA-Agua vigente fue mediante Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM y comprende parámetros físico-químicos, inorgánicos (metales pesados), orgánicos, organolépticos y microbiológico; la normativa en cuanto a calidad de agua en el Perú está dividida en cuatro categorías:

- **Categoría 1:** Poblacional y regional
- **Categoría 2:** Extracción, cultivo y otras actividades marino costeras.
- **Categoría 3:** Riego de vegetales y bebida de animales.
- **Categoría 4:** Conservación del ambiente acuático.

Estas categorías contienen sub-categorías las cuales son más específicas y se aplican dependiendo la situación y/o contexto.

2.3.5. Efectos ambientales de la quema de biomasa

La combustión es una reacción de oxidación en la que interviene el oxígeno como agente oxidante; pero para que sea propiamente una combustión debe ser

rápida y exotérmica, con aumento elevado de la temperatura. La biomasa reacciona con el oxígeno y arde produciendo suficiente energía como para autoalimentarse, la reacción cede calor al medio, por lo que es exotérmica, y los productos de la combustión alcanzan altas temperaturas que se ponen incandescentes, mostrándonos el fenómeno de fuego o llama. Cuando se queman completamente compuestos orgánicos, el combustible es oxidado totalmente por el carburante, dando lugar a productos de la combustión (Iglesias Abad 2018).

Tradicionalmente en la serranía andina, los residuos de biomasa han sido desaprovechados y en la mayoría de los casos quemados en el mismo lugar sin ningún control, situación que se ha vuelto muy peligrosa por las características inflamables de la biomasa, que es susceptible de alta combustión a nivel de: hojas, ramas y cortezas; acumuladas en el suelo. Al ser una especie cuya estructura y comportamiento (*por ejemplo, rápida acumulación de hojarasca, desprendimiento de cortezas, aceites volátiles*), favorece la propagación del fuego, siendo propensos a experimentar grandes incendios (Iglesias Abad 2018).

Las quemadas de biomasa no controlada en la superficie, genera condiciones desfavorables para el suelo, por las altas temperaturas alcanzadas, produciendo alteraciones físico químicas, escorrentía superficial e hidrofobicidad, los efectos post-fuego incluyen cambios en el microclima, incremento en el rango de la temperatura del suelo y cambios en los nutrientes del suelo, así como en la actividad microbiana y alteración del hábitat silvestre de vertebrados e invertebrados; en otras palabras, el fuego puede afectar tanto a la estructura como a la dinámica y funcionalidad de un ecosistema por otro lado, los efectos en la salud humana, el mayor daño se ocasiona por el diámetro aerodinámico del material particulado (PM), que se produce en un incendio forestal con PM menor a $2.5 \mu\text{m}$ el cual ocasiona contaminación atmosférica e impactos sobre la salud como: bronquitis y obstrucción bronquial crónica; bajo exposición prolongada causa fibrosis pulmonar, además pudiera originar alteraciones a la visibilidad humana (Iglesias Abad 2018); mientras que realizar una quema controlada, por ejemplo, mediante la pirólisis estas condiciones podrían cambiar ya que la pirólisis al ser una descomposición (*lisis*) de un material por calor, inicia de manera similar a la combustión ya que a medida que el material se descompone, libera gas que va desapareciendo conforme se controla el ingreso de oxígeno; todos los procesos involucrados en la pirólisis, gasificación y combustión se pueden ver en un fósforo en llamas **Figura 11**, la llama proporciona calor para la pirólisis, y los gases y vapores resultantes se queman en la zona luminosa en un proceso llamado combustión en llamas, dejando atrás el carbón, después de que la llama pasa un punto dado, el carbón puede o no continuar ardiendo y debido a la falta de oxígeno este va formando carbón de

forma lenta, sin generación de gases cómo lo haría una combustión y dando paso a un producto conocido como biochar (IBI 2018).

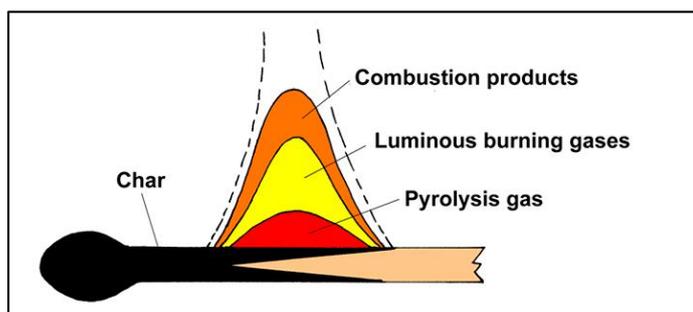


Figura 11. Productos generador durante una combustión y una pirólisis.
Fuente: Extraído de (IBI 2018)

2.4. Definición de términos básicos

- **Quelato**
Sustancia que forma complejos fuertes con iones de metales pesados evitando que los metales pesados reaccionen, por ejemplo, los quelatos sintetizados por las plantas pueden movilizar metales pesados como el cobre, el plomo y el cadmio mediante la formación de complejos estables (Dan 2001).
- **Ligando**
Agente acomplejante que coordina con el átomo central de un metal formando un complejo coordinante, evitando la reacción del metal (Dan 2001; Vega Picon 2018).
- **Fitosidióforos**
Complejo quelante exudado por microorganismos, convierten el ion Fe^{+3} a Fe^{+2} (Dan 2001).
- **Efectos neurotóxicos**
Son enfermedades reversibles o irreversibles que desarrolla un ser humano producto del contacto, ingesta, absorción, etc. de algunos metales pesados como por ejemplo el Hg y Pb (Nava Ruíz y Méndez Armenta 2011).
- **Traslocación en la planta**
La capacidad que tiene una planta para trasladar metales desde la raíz hacia la parte aérea (Benigno Vega 2018).
- **Schwertmannita**
Mineral de color amarillo amarronado, compuesto por óxido de hierro, óxido de sulfato e hidróxido de agua (Dold et al. 2013).
- **Horno de doble tambor**
Horno diseñado con dos cámaras internas, una denominada “reactor” donde ingresa la biomasa y otro donde ingresa la fuente de energía para el funcionamiento del horno (IBI 2018).
- **Toxicidad**
Es considerada como la capacidad de cualquier sustancia química para producir efectos que perjudiquen el desarrollo de algún ser vivo (Sobrero y Ronco 2004).
- **Estándar de Calidad Ambiental (ECA)**
Los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) establecidos por el MINAM, fijan los valores máximos permitidos de contaminantes en el ambiente. El propósito es garantizar la conservación de la calidad ambiental mediante el uso de instrumentos de gestión ambiental sofisticados y de evaluación detallada (MINAM 2017).

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis

3.1.1. General

- Las tres especies vegetales altoandinas mejoran su capacidad fitorremediadora tras la asistencia del biochar en suelos contaminados por drenaje ácido de roca.

3.1.2. Específicas

- Las muestras de suelo y agua de la zona expuesta al drenaje ácido de roca tienen mayores concentraciones de Al, Cu, Fe, Mn y Zn que las muestras de suelo y agua colectadas en una zona adyacente sin contacto al drenaje ácido de roca.
- Las tres especies vegetales altoandinas identificadas presentan un alto potencial fitorremediador en la zona de estudio.
- La dosificación adecuada de biochar mejora la fitorremediación realizada por las tres especies vegetales altoandinas en los suelos contaminados por drenaje ácido de roca.

3.2. Definición conceptual de las variables

VARIABLE INDEPENDIENTE (X):

- **Asistencia de biochar producido a partir de residuos de pino:** La asistencia del biochar refiere a la influencia de aplicar dicho biochar en el suelo contaminado por DAR y esperar que este mejore la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales altoandinas; además se conoce que el biochar podría influir en la adsorción física de metales catiónicos del agua de los poros del suelo, liberación de nutrientes como N, P, K y Ca para la mejora del desarrollo de la planta (Sun, Sha y Chunming 2018).

VARIABLES DEPENDIENTES (Y):

- **Capacidad de fitorremediación de tres especies vegetales altoandinas:** Es el tipo de fitorremediación que realizan las plantas evaluadas mediante la concentración de metales en sus tejidos, factor de traslocación, factor de bioacumulación aérea y bioacumulación radicular. Calcular estos factores incluye tener conocimiento de la concentración de metales en el suelo.

3.2.1. Operacionalización de las variables

Las variables de la investigación cumplen con la siguiente función:

$$Y_1 = f(X)$$

X : Asistencia de biochar producido a partir de residuos de pino.

Y₁ : Capacidad de fitorremediación de tres especies vegetales altoandina.

Tabla 9. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDADES
INDEPENDIENTE Asistencia de biochar producido a partir de residuos de pino.	La asistencia del biochar refiere a la influencia de aplicar dicho biochar en el suelo contaminado por DAR y esperar que este mejore la capacidad fitoremediadora de las especies vegetales altoandinas; además se conoce que el biochar podría influir en la adsorción física de metales catiónicos del agua de los poros del suelo, liberación de nutrientes como N, P, K y Ca para la mejora del desarrollo de la planta (Sun, Sha y Chunming 2018).	Se aplicarán distintas dosificaciones de biochar con el fin de medir su influencia en la capacidad fitoremediadora de las plantas altoandinas.	Parámetros físico - químicos y químicos del biochar	pH	-
				Capacidad de intercambio catiónico	meq/100g
				Conductividad Eléctrica	dS/cm
				N	%
				P ₂ O ₅	%
				K ₂ O	%
				Materia orgánica	%
				Al, Cu, Fe, Mn, Zn	mg/kg
			C, H, O, N	%	
			Capacidad de germinación de la enmienda	Índice de germinación	%
Índice de germinación residual normalizado	-				
DEPENDIENTE Capacidad de fitorremediación de tres especies vegetales altoandinas	Es el tipo de fitoremediación que realizan las plantas evaluadas mediante la concentración de metales en sus tejidos, factor de traslocación, factor de bioacumulación aérea y bioacumulación radicular. Calcular estos factores incluye tener conocimiento de la concentración de metales en el suelo.	La capacidad fitorremediadora de las plantas se medirá en función a los factores de concentración de metales de las plantas y su desarrollo vegetativo durante el experimento.	Capacidad fitoremediadora de las plantas nativas	Concentración de metales en el sistema radicular	mg/kg
				Concentración de metales en la biomasa aérea	mg/kg
				Factor de bioconcentración raíz	-
				Factor de bioconcentración parte aérea	-
				Factor de traslocación	-
				Concentración de metales en el suelo	mg/kg
			Desarrollo vegetativo de las plantas nativas	Altura de la planta	cm
				Longitud de la raíz	cm

Fuente: Elaboración propia.

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. Tipo y diseño de investigación

Tipo: La presente investigación es de tipo básica y aplicada. Investigación básica porque busca el progreso a través del incremento de conocimientos teóricos; e investigación aplicada debido a que depende de investigaciones básicas y persigue fines de aplicación directa e inmediata sobre una realidad con el objetivo de resolver un problema (Supo 2012).

Diseño: La presente investigación es de carácter experimental, ya que mediante el manejo y operación de las variables seleccionadas, y la consideración de un control, se obtendrá el resultado deseado (Supo 2012).

4.2. Método de investigación

El método de la presente investigación es “cuantitativo”, pues se generará y analizarán datos cuantitativos de las variables dependientes e independientes; para lo cual se utilizará herramientas informáticas y estadística univariada a fin de procesar dichos datos y obtener resultados consistentes.

La presente investigación busca identificar especies vegetales altoandinas que tengan la capacidad de acumular metales en sus tejidos, que además estén adaptadas a condiciones de altas concentraciones de metales, bajos niveles de pH y que cuenten con poca investigación; por lo que se realizó un primer campamento de 3 días cerca de un área impactada por drenaje ácido de roca en la Quebrada Cayesh (Microcuenca Quillcayhuanca, Huaraz, Áncash) a 4200 m.s.n.m. aproximadamente, ahí se colectaron muestras de cinco especies vegetales altoandinas y se evaluó su capacidad fitorremediadora de cada una para aluminio, cobre, hierro, manganeso y zinc; con esos resultados se determinó que tres de esas especies vegetales presentaron una mayor capacidad fitorremediadora con respecto a las demás, por lo que se realizó un segundo campamento de 4 días en el área de estudio, ahí se colectaron muestras de las tres especies vegetales altoandinas y además, se colectó suelo contaminado por drenaje ácido de roca, para luego establecer un experimento en el invernadero del Centro de Investigación Científica y Tecnológica en Ecosistemas de Montaña (3800 m.s.n.m aproximadamente) de la Dirección de Investigación en Ecosistemas de Montaña del INAIGEM, las plantas colectadas en la segunda visita al área de estudio, fueron sembradas en el suelo contaminado por drenaje ácido de roca y en otros dos tratamientos con el mismo suelo y dosificaciones de biochar producido a partir de residuos de pino (respetando el diseño experimental de la investigación); este experimento final

busca determinar la influencia de la aplicación de biochar en la capacidad o potencial fitorremediador de las tres especies vegetales altoandinas.

4.3. Población y muestra

Población: La población del estudio serán todas las especies vegetales altoandinas que están creciendo sobre el suelo contaminado por drenaje ácido de roca en la microcuenca Quillcayhuanca.

Muestra: La muestra del estudio son las tres especies vegetales altoandinas que están creciendo sobre el suelo contaminado por drenaje ácido de roca en el río Cayesh de la microcuenca Quillcayhuanca.

4.4. Lugar de estudio

En la **Figura 12** se encuentra la ubicación del área de estudio, esta se sitúa en la quebrada del Río Cayesh, en el entorno de la coordenada geográfica **X**: 243581.00; **Y**: 8954789.00. El área de estudio se encuentra dentro de la Microcuenca Quillcayhuanca y esta a su vez dentro de la Unidad Hidrográfica Quillcay. El lugar de estudio tiene un área aproximada de 15.500 m².

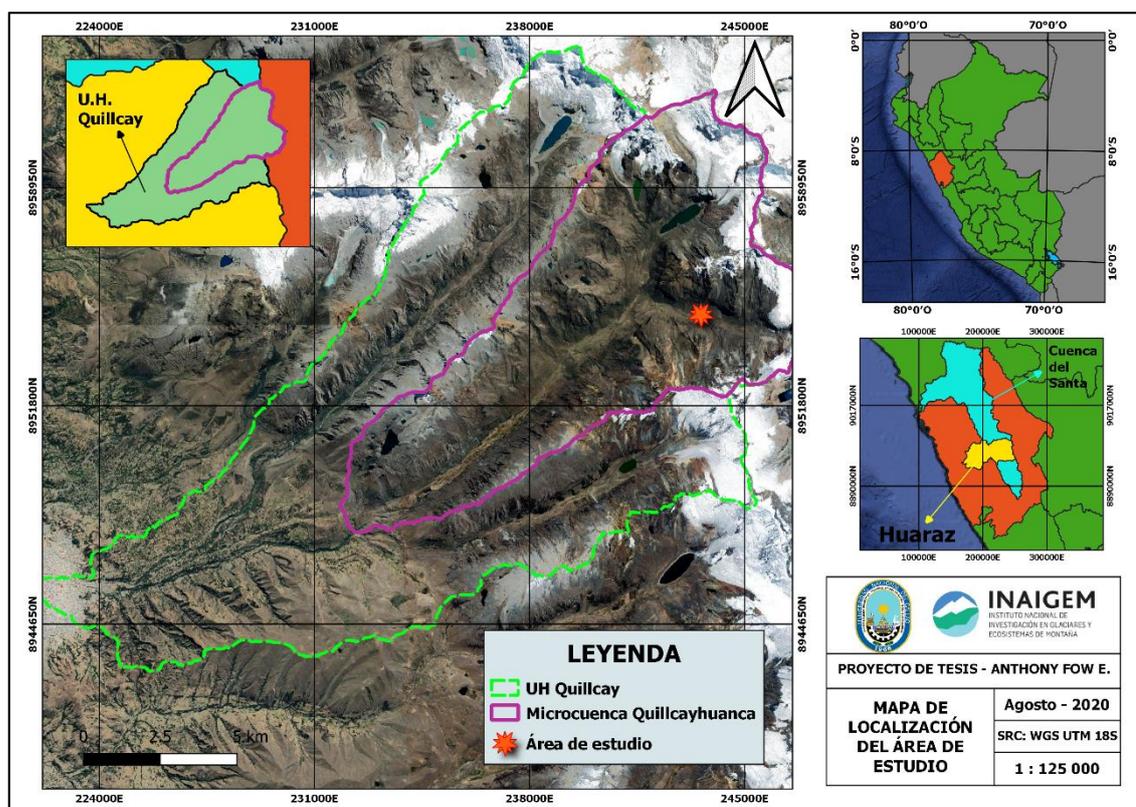


Figura 12. Mapa de ubicación del lugar de estudio.

Fuente: Elaboración propia.

4.5. Metodología

La metodología de la investigación se describirá a continuación para realizar el cumplimiento de cada objetivo específico.

Para cumplir con el **objetivo específico 1** “*Analizar las concentraciones de Al, Cu, Fe, Mn y Zn en el suelo y agua de una zona expuesta al drenaje ácido de roca y una zona adyacente sin contacto con el drenaje ácido de roca*” se realizaron las siguientes actividades:

4.5.1. Caracterización del agua y suelo en la zona de estudio

Para llevar a cabo la colecta de muestras de agua y suelo se realizó una primera salida hacia el área de estudio. Durante el primer día se realizó el reconocimiento del lugar y durante el segundo día se colectaron las muestras que a continuación se detallarán:

4.5.1.1. Muestreo en campo

- **Muestreo de agua**

La determinación del lugar donde se tomaron las muestras de agua se basó en características atípicas como la coloración anormal del agua (rojizo, color predominante en drenaje ácidos) y/o demás factores que modifiquen las características naturales del cuerpo de agua, estas condiciones descritas y otros procedimientos realizados para el muestreo del agua contaminada por el drenaje ácido de roca se basaron en el “PROTOCOLO NACIONAL PARA EL MONITOREO DE LA CALIDAD DE LOS RECURSOS HÍDRICOS SUPERFICIALES” realizado por la ANA (2016) y en criterios propios adecuados a la zona de estudio; se colectaron dos muestras puntuales y simples ya que los puntos de colecta escogidos representan las condiciones y características de la composición original del cuerpo de agua, tiempo y circunstancias particulares.

- **Muestreo de suelo**

La determinación del lugar donde se colectaron las muestras de suelo se basó en evaluaciones visuales, como la coloración y/o áreas por donde claramente se evidenciaba el paso del drenaje ácido de roca y además áreas del entorno de la zona de estudio donde se podía visualizar un menor impacto por el drenaje ácido de roca; para esta colecta se extrajeron tres muestras de suelo puntuales, siguiendo lo establecido en la “GUÍA DE MUESTREOS DE SUELOS” propuesta por MINAM (2014), dicha guía recomienda tomar muestras superficiales compuestas para la evaluar riesgos a la salud humana o para la flora y fauna.

4.5.1.2. Preparación y análisis de las muestras

- **Análisis de parámetros de campo en muestras de agua:**

Esta toma de datos se realizó basándose en el “PROTOCOLO NACIONAL PARA EL MONITOREO DE LA CALIDAD DE LOS RECURSOS HÍDRICOS SUPERFICIALES” realizado por la ANA (2016):

- Debido a que el curso de agua fue de bajo caudal y/o accesible se tomaron los datos de campo directamente en el cuerpo de agua, para esto se ingresó el equipo multiparámetro (HANNA HI 9829) con sondas previamente calibradas para medir pH, temperatura, oxígeno disuelto y conductividad eléctrica.
- Las mediciones se registraron en una ficha de registro de datos de campo.
- Finalmente, las sondas del equipo multiparámetro fueron lavadas con agua destilada inmediatamente después de su uso.

- **Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV - Visible en agua y suelo:**

Las muestras de agua fueron digeridas utilizando una mezcla de 20 ml de H₂SO₄ conc. y HNO₃ conc. (1:1), luego fueron colocadas sobre una placa caliente a 120 °C hasta notar presencia de humos blancos y densos (SO₃), finalmente se dejaron enfriar las muestras a temperatura ambiente y se añadieron 100 ml de agua desionizada.

Las muestras de suelo fueron digeridas con 21 ml de HCl y 7 ml de HNO₃, las muestras se dejaron reposar durante 16 horas y fueron sometidas a 116°C en condiciones de reflujo durante dos horas, luego se añadieron 50 ml de agua desionizada al recipiente de reacción y la solución generada fue filtrada a través de un papel filtro no. 42 en un matraz aforado de 100 ml, finalmente se enrazó la muestra a 100 ml con agua destilada.

Las muestras digeridas de agua y suelo colectadas fueron analizadas mediante espectrofotometría UV – Visible (Espectrofotómetro UV – Visible, Marca: HACH, Modelo: DR 6000), donde se hizo lectura de las concentraciones de los siguientes metales: Al, Cu, Fe, Mn y Zn.

Para cumplir con el **objetivo específico número 2** *“Identificar tres especies vegetales altoandinas en la zona de estudio y determinar su potencial fitorremediador”* se realizaron las siguientes actividades:

4.5.2. Identificación y análisis de las especies vegetales altoandinas con potencial fitorremediador

4.5.2.1. Identificación de las especies vegetales altoandinas

La identificación y colecta de las plantas altoandinas tuvo como principal referencia una lista de plantas altoandinas estudiadas por otros investigadores

(Tabla 6), esta lista tuvo como principales filtros la aparición de la especie vegetal en la zona de estudio u otras con condiciones similares (naturales y de contaminación) y el análisis de los metales en muestras de agua que continuamente sobrepasan el ECA-Agua en las categorías 3 y 4 según estudios realizados por la Dirección de Investigación en Ecosistemas de Montaña **(DIEM)** del Instituto Nacional de Investigación en Glaciares y Ecosistemas de Montaña **(INAIGEM)** en la Microcuenca Quillcayhuanca, además se agregaron especies con poca investigación sobre su capacidad fitoremediadora.

Durante el **día 1** del primer campamento realizado en el área de estudio se hizo un reconocimiento del lugar, ahí se visualizaron las condiciones del mismo, como las rutas de acceso, zonas con mayor degradación debido al drenaje ácido de roca y zonas con mayor propagación de distintas especies de plantas altoandinas; además se contrastó la información de la **Tabla 6**; el **día 2** del campamento se colectaron los individuos de las plantas altoandinas y muestras de suelo correspondiente a cada planta colectada.

Se colectaron cuatro individuos de cada especie encontrada en la zona de estudio **(un individuo para una correcta identificación y tres individuos para el análisis de metales)**, la colecta de las especies no sólo se limitó a las que estaban en la **Tabla 6**, sino que se colectaron aquellas que se encontraron en contacto con el drenaje ácido de roca y/o estaban desarrollándose en los entornos del mismo.

4.5.2.2. Muestreo en campo

- Muestreo de especies vegetales altoandinas

Se realizó la colecta de las muestras de planta considerando los siguientes pasos:

- Se identificaron las áreas donde las plantas se están desarrollando sin dificultad alguna o no presente síntomas de toxicidad (*coloración normal, hojas en buen estado y que se encuentren erguidas, según sea su especie*) y se registró cada punto de colecta con la ayuda de un GPS portátil.
- Con una pala pequeña se retiró el suelo de la planta a fin de poder jalarla con facilidad y cuidado.
- Una vez extraído el individuo, se utilizó una tijera para separar las raíces de la parte aérea de una misma planta.
- Se tomaron muestras de cinco especies y de cada especie se colectaron cuatro individuos; fueron en total veinte muestras de plantas altoandinas.
- En el área donde se visualizó un menor impacto por el drenaje ácido de roca se extrajeron cuatro individuos de una de las especies colectadas (*uno para la identificación y tres para el análisis metales*) a

fin de analizar la concentración de metales y además estudiar su comportamiento en cuanto a la fitorremediación.

- Las muestras se guardaron en bolsas ziplock y se rotularon adecuadamente.
 - El rotulado consideró la codificación de la muestra y fecha correspondiente.
- **Muestreo de suelo**

Las muestras de suelo colectadas fueron puntuales y corresponden al espacio donde estuvo desarrollándose cada especie vegetal colectada, a fin de generar las relaciones necesarias para determinar su capacidad fitorremediadora (Medina Marcos y Montano Chávez 2014). Además, se utilizó la “GUÍA DE MUESTREO DE SUELOS” propuesta por (MINAM 2014), dicha guía recomienda tomar muestras superficiales compuestas para evaluar riesgos a la salud humana o para la flora y fauna.

4.5.2.3. Preparación y análisis de las muestras

- **Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV-Visible en plantas y suelo:**

Las muestras digestadas de plantas y suelo colectadas fueron analizadas mediante Espectrofotometría UV – Visible (Espectrofotómetro UV – Visible, Marca: HACH, Modelo: DR 6000), donde se hizo lectura de las concentraciones de los siguientes metales: Al, Cu, Fe, Mn y Zn.

4.5.3. Selección de especies vegetales altoandinas con potencial fitorremediador

De todas las especies colectadas durante la primera salida a campo se escogieron tres especies, estas especies fueron seleccionadas debido a que mostraron un mayor potencial fitorremediador; según (Corpus Quiroz 2018; León Menacho 2017; Medina Marcos y Montano Chávez 2014) el potencial fitorremediador de una planta se mide a través de factores biológicos como son el factor de traslocación y el factor de bioconcentración (**[raíz: suelo]; [parte aérea: suelo]**); luego mediante los valores de los factores biológicos se va a determinar la estrategia que tiene la planta para crecer sobre suelos contaminados pudiendo ser “exclusora, indicadora, acumuladora o hiperacumuladora” (Riffo Estay 2016), según (Dueñas Salas 2015; Riffo Estay 2016) se considera **exclusora** a una planta cuando esta restringe la entrada o la traslocación de metales hacia las hojas permitiéndoles vivir en ambientes con elevadas concentraciones de metales; **indicadora** a aquellas plantas que sus concentraciones de absorción y traslocación reflejan la concentración del metal en el suelo mostrando síntomas de toxicidad, **acumuladora** a aquellas plantas que sus concentraciones de absorción y traslocación reflejan la concentración

del metal en el suelo sin mostrar síntomas de toxicidad e **hiperacumuladoras** a aquellas que acumulan activamente los metales en sus tejidos; finalmente si la planta acumula, extrae, inmoviliza, transforma o estabiliza los metales se le determinará el tipo de fitorremediación que realiza.

Una vez que las especies vegetales altoandinas fueron identificadas y escogidas según su capacidad fitoremediadora, se procedió a realizar las actividades para el cumplimiento del **objetivo específico 3** “*Determinar la dosificación adecuada de biochar para asistir a la fitorremediación de tres especies vegetales altoandinas plantadas en macetas con suelos contaminados por drenaje ácido de roca*”, las cuales fueron:

- *Producción de biochar.*
- *Bioensayos de germinación y evaluación del desarrollo de la plántula *Lactuca sativa* L.*
- *Selección de dosificaciones para aplicar en la etapa de invernadero*
- *Análisis del biochar.*
- *Colecta de plantas nativas y suelo contaminado (2° visita al área de estudio).*
- *Dosificación de biochar a las plantas altoandinas en el invernadero.*
- *Evaluación de la asistencia del biochar en la capacidad fitoremediadora de las especies de plantas altoandinas.*

4.5.4. Producción del biochar

4.5.4.1. Fuente potencial de biochar

La materia prima utilizada en el proceso de producción del biochar fue:

- **Residuos forestales:** Abarca las ramas, hojas, restos del tronco y frutos de los árboles del género *Pinus*.

4.5.4.2. Colecta y acondicionamiento de materia prima

La producción de biochar se realizó a partir de residuos generados por la poda del pino de la Universidad Nacional Agraria La Molina (*ramas, troncos, hojas y frutos*), estos residuos se mantuvieron a la intemperie durante 3 meses.

4.5.4.3. Pirólisis de la biomasa

La pirólisis de la biomasa se realizó mediante la metodología “**KON – TIKI**”, durante una hora y llegando a una temperatura máxima de 650°C, dicha metodología es propuesta por **Ithaka Institute**, una red internacional de código abierto para la agricultura climática y las estrategias de carbono. En los últimos 10 años, Ithaka se ha convertido en un instituto de investigación líder para el

secuestro y el bio-reciclaje de carbono por métodos agrícolas. El instituto es reconocido por su experiencia en la producción, caracterización y aplicación de biochar y ha desarrollado numerosos productos basados en biochar. En varios países en desarrollo, el instituto participa en proyectos de seguridad alimentaria y forestación a través de sistemas de huertos forestales (Ithaka Institute 2014); se conoce que el procedimiento de producción de biochar en la estructura denominada "KON-TIKI" no restringe la presencia del oxígeno al 100%, por lo que, la metodología de producción respeta un orden de ingreso de la biomasa, con el fin de que la capa superior final sea la única capa de biomasa que se mantenga encendida mediante un proceso común de carbonización generando el calor suficiente para producir biochar a partir de la biomasa que se encuentra en el interior del "KON-TIKI". Por lo tanto, la producción del biochar no se realiza mediante el contacto con el oxígeno sino más bien por el calor producido en la capa superior de la biomasa, denominándose a este procedimiento "pirolisis de oxígeno controlado". Finalmente, para la producción se necesita una estructura de las siguientes características:



Figura 13. Estructura del "KON-TIKI" para producción de biochar.
Fuente: Extraído de (Castañeda 2019)

4.5.5. Bioensayos de germinación y evaluación del desarrollo de la plántula *Lactuca sativa* L.

Los bioensayos de germinación y desarrollo de la plántula son un método rápido para evaluar la toxicidad del biochar (biotoxicidad), previniendo que éste afecte al suelo y/o el desarrollo de alguna planta; esta prueba integra índices de diferentes metodologías de determinación de la toxicidad y que además genera datos suficientes para determinar un rango óptimo de aplicación de biochar a mayores dimensiones y/o escalas.

4.5.5.1. Materiales

Los materiales que se utilizaron para el bioensayo de germinación y la evaluación del desarrollo de la plántula fueron contenedores cilíndricos plásticos de 8 oz.,

semillas de *Lactuca sativa* L., agua destilada, un atomizador de agua, piceta de 250 ml, arena fina, tamiz ($\varnothing = 3$ mm), pinzas metálicas, calibre de vernier digital con precisión (0,01 mm) y balanza analítica con precisión (0,001 g).

4.5.5.2. Bioensayos

El bioensayo de germinación y desarrollo de la plántula *Lactuca sativa* L. es una prueba estática de toxicidad aguda (Fain Binda, Butti y Torti 2017), la prueba fue diseñada para poder utilizar las dosificaciones con mejores resultados en la aplicación del biochar para la asistencia en la capacidad fitoremediadora de tres plantas altoandinas en suelos contaminados por drenaje ácidos de roca, los pasos a seguir fueron:

- Se tamizó la arena y biochar a 3 mm.
- Se realizó la mezcla de arena y biochar en cada contenedor según lo determinado en el diseño de este experimento.
- Se añadieron 25 ml. de agua destilada a cada mezcla y con ayuda de unas pinzas se colocaron 8 semillas de *Lactuca sativa* L.
- Una vez colocadas las semillas se cubrieron con la misma mezcla de cada recipiente.
- Los tratamientos se mantuvieron en oscuridad durante 10 días.
- Una vez que se dio por concluido el bioensayo, se procedió a retirar con cuidado y en orden cada plántula para realizar las mediciones respectivas.
- Con ayuda de un calibre de vernier se midió la radícula e hipocórito de cada plántula, a estos datos ordenados se les extrajo la siguiente información:
 - *Promedio y desviación estándar de la elongación de la radícula y del hipocórito de las plántulas de cada repetición.*
 - *Porcentaje promedio de semillas germinadas para cada tratamiento o porcentaje de aplicación.*

4.5.5.3. Procesamiento de datos

Como primer análisis a los datos se aplicó la ruta descrita en el diagrama de la **Figura 14** donde interviene como principal prueba el valor índice de germinación de Zucconi de cada tratamiento, el diagrama se basa en diferentes investigaciones, siendo una de ellas la de Varnero, Rojas y Orellana (2007) quienes en su artículo citaron la teoría del Índice de germinación (IG) de Zucconi et al. (1981), éste establece el siguiente criterio de interpretación al IG: “*valores de IG $\geq 80\%$ indicarían que no hay sustancias fitotóxicas o están en muy baja concentración; si el IG $\leq 50\%$ indicaría que hay una fuerte presencia de sustancias fitotóxicas y si se obtiene un valor entre 50% y 80% se interpretaría como la presencia moderada de estas sustancias*”.

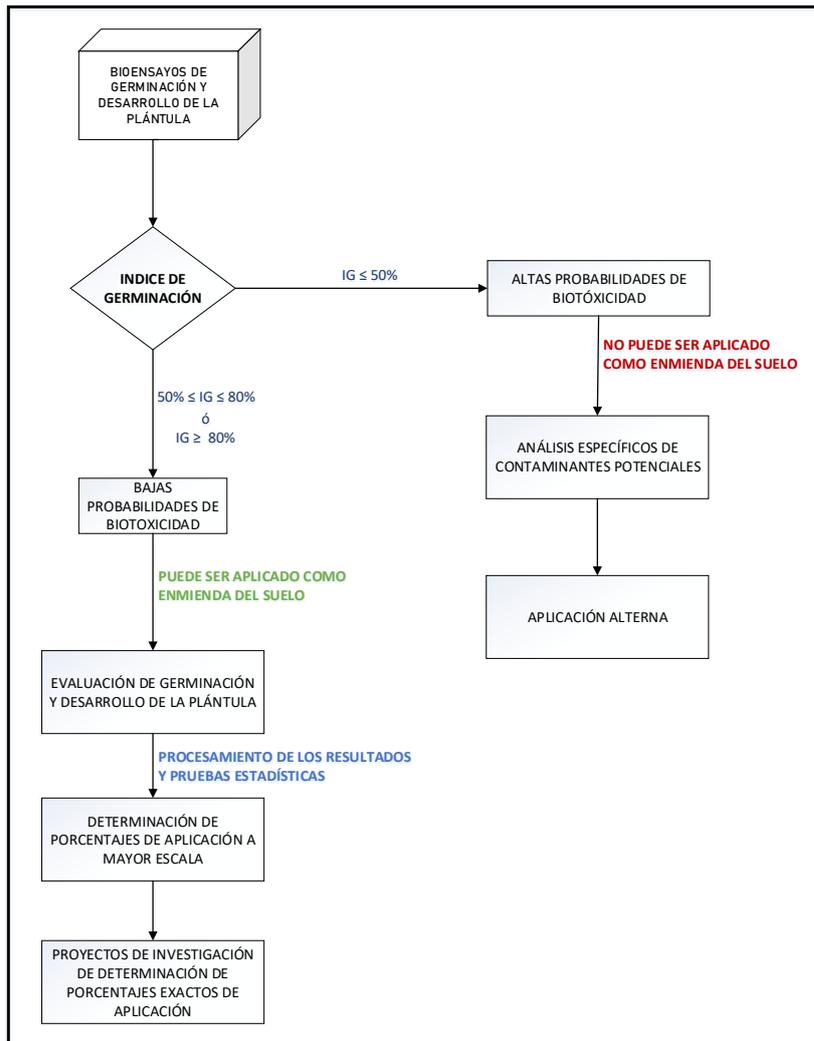


Figura 14. Desarrollo de las pruebas de germinación y evaluación del desarrollo de la plántula *Lactuca sativa* L.

Fuente: Elaboración propia

A la teoría descrita en el párrafo anterior se analiza la situación en que algún porcentaje de aplicación del biochar genere un $IG \leq 50\%$, entonces se considerará automáticamente que el biochar tiene altas probabilidades de ser tóxico y debe ser completamente descartado para su aplicación como **enmienda del suelo**, pero no para otras aplicaciones tal y como ejemplifica Zheng et al. (2018) refiriendo a biocharres que con presencia de contaminantes como radicales libres persistentes (**PFR**, por sus siglas en inglés), parece que tienen efectos negativos en los microorganismos de las plantas o del suelo, pero efectos positivos en la degradación de los contaminantes orgánicos, dando así la probabilidad que el biochar potencialmente tóxico para su aplicación como enmienda del suelo tenga probabilidades de ser aplicado con otros fines beneficiosos al medio ambiente como degradar contaminantes; en base a las teorías antes descritas se generó el diagrama mostrado en la **Figura 14**.

El diagrama muestra una fusión de ambas proposiciones detalladas anteriormente y además permitirá continuar con la evaluación de la germinación y desarrollo de la radícula de cada plántula. El índice de germinación según Zucconi et al. (1981) se genera en base a la germinación relativa de las semillas (GRS), el crecimiento relativo de la radícula (CRR), las cuales son calculadas mediante las siguientes expresiones:

$$GRS (\%) = \frac{\text{Número de semillas germinadas según porcentaje de aplicación}}{\text{Número de semillas germinadas en la muestra control}} \times 100$$

$$CRR (\%) = \frac{\text{Longitud promedio de las radículas según porcentaje de aplicación}}{\text{Longitud promedio de las radículas en la muestra control}} \times 100$$

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

El IG representa el producto de la germinación relativa de las semillas por el crecimiento relativo de la radícula, este constituye un indicador de la interacción de los factores que promueven o inhiben la germinación, así como de los respectivos factores que favorecen o impiden el crecimiento de la radícula, en resumen, este índice expresa tanto el porcentaje de semillas germinadas como el porcentaje de crecimiento que alcanza la radícula durante el bioensayo (Rodríguez Romero et al. 2014). Adicionalmente se utilizaron 2 índices de toxicidad propuestos por Bagur-González et al. (2011), a fin de complementar los resultados; en la presente investigación estos índices servirán como prueba final para determinar los rangos óptimos ya que utilizando el IG se determinó si la dosificación de biochar podría ser aplicado como enmienda del suelo; estos índices a utilizar son el de germinación residual normalizado (IGN) y de elongación radical residual normalizado (IER):

IGN, en términos estadísticos representa el porcentaje residual normalizado de semillas germinadas después del experimento, utilizando la siguiente expresión:

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

Donde, en función a lo propuesto por Bagur-González et al. (2011), $Germ_x$ es el porcentaje promedio de semillas germinadas en el suelo experimental y $Germ_{control}$ es el porcentaje de semillas germinadas en el control o blanco; para la presente investigación $Germ_x$ fue el porcentaje promedio de semillas germinadas en cada tratamiento donde se aplicó biochar y $Germ_{control}$ fue el porcentaje de semillas germinadas en el control, es decir, sin aplicación de biochar.

IER, en términos estadísticos, esto representa el alargamiento residual normalizado de la raíz de las semillas germinadas por tratamiento.

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

Donde, en función a lo propuesto por Bagur-González et al. (2011), $Elong_x$ es la longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en el suelo experimental, y $Elong_{control}$ es la longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en el control; para la presente investigación $Elong_x$ fue la longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en cada en cada tratamiento donde se aplicó biochar y $Elong_{control}$ fue longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en el control, es decir, sin aplicación de biochar.

Ambos índices IGN e IER establecen valores de toxicidad desde -1 a > 0 bajo las siguientes categorías: índice de 0 a -0.25 baja toxicidad, de -0.25 a -0.5 toxicidad moderada, de -0.5 a -0.75 muy tóxico y de -0.75 a -1.0 , toxicidad muy alta; valores del índice > 0 indican crecimiento de la radícula u hormesis (Bagur-González et al. 2011).

Finalmente se realizó un análisis de regresión lineal para determinar el comportamiento de las variables estudiadas en el experimento.

4.5.6. Selección de dosificaciones para aplicar en la etapa de invernadero

Se realizaron dos bioensayos para determinar las dosificaciones de biochar a utilizar en la siguiente fase de la investigación (*asistencia del biochar en fitoremediación mediante experimentos controlados en invernadero*); la primera prueba se realizó con dosificaciones de 5, 10, 15 y 20% de biochar y la segunda prueba se realizó con dosificaciones de 1%, 3%, 5% y 7%, consecuentemente a los resultados, se escogieron las dosificaciones de 1% y 3%.

4.5.7. Análisis del biochar

4.5.7.1. Análisis de caracterización del biochar

Para el análisis de caracterización del biochar se siguieron las siguientes metodologías:

Tabla 10. Metodologías para análisis de biochar.

PARÁMETRO	UNIDAD DE MEDIDA	MÉTODO
Materia orgánica	%	Calcinación
Conductividad eléctrica (C.E.)	dS/cm	Potenciometría
pH	Unid. pH	Potenciometría
Capacidad de intercambio catiónico	meq/100gr	Método del Acetato de Amonio
N	%	Método de Kjeldahl
P ₂ O ₅	%	Método de Olsen modificado
K ₂ O	%	Extracción de Acetato de Amonio
CaO	%	Espectrofotometría por Absorción Atómica
MgO	%	Espectrofotometría por Absorción Atómica
Humedad	%	Gravimetría
Na	%	Espectrofotometría por Absorción Atómica
C, H, O, N, S	%	ASTM D5373/Mét A

Fuente: Elaboración propia.

4.5.7.2. Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV - Visible en biochar

La muestra digerida de biochar fue analizada mediante la metodología de Espectrofotometría UV – Visible (Espectrofotómetro UV – Visible, Marca: HACH, Modelo: DR 6000), donde se hizo lectura de las concentraciones de los siguientes metales: Al, Cu, Fe, Mn y Zn.

4.5.8. Colecta de especies vegetales altoandinas y suelo contaminado

Se realizó una segunda visita al área de estudio, donde se colectaron los individuos de las plantas altoandinas escogidas durante la fase de identificación y selección de las especies vegetales altoandinas.

Durante el segundo día de campamento se colectó el suelo contaminado por drenaje ácido de roca (DAR) de las áreas detalladas en el ítem 4.2.2.2 – “Muestreo de suelo”; también, se colectaron los individuos de las plantas altoandinas escogidas según el análisis realizado en el ítem 4.2.3 – “Selección de especies vegetales altoandinas con potencial fitorremediador”; las cantidades colectadas se estimaron en función al diseño experimental definido en la **Figura 15**.

CONTROL (0% BIOCHAR)	1º DOSIFICACIÓN (1% BIOCHAR)	2º DOSIFICACIÓN (3% BIOCHAR)
R1 (ESPECIE VEGETAL EN SUELO CONTAMINADO POR DAR)	R1 (ESPECIE VEGETAL EN SUELO CONTAMINADO POR DAR + BIOCHAR)	R1 (ESPECIE VEGETAL EN SUELO CONTAMINADO POR DAR + BIOCHAR)
R2 (ESPECIE VEGETAL EN SUELO CONTAMINADO POR DAR)	R2 (ESPECIE VEGETAL EN SUELO CONTAMINADO POR DAR + BIOCHAR)	R2 (ESPECIE VEGETAL EN SUELO CONTAMINADO POR DAR + BIOCHAR)
R3 (ESPECIE VEGETAL EN SUELO CONTAMINADO POR DAR)	R3 (ESPECIE VEGETAL EN SUELO CONTAMINADO POR DAR + BIOCHAR)	R3 (ESPECIE VEGETAL EN SUELO CONTAMINADO POR DAR + BIOCHAR)
R4 (ESPECIE VEGETAL EN SUELO CONTAMINADO POR DAR)	R4 (ESPECIE VEGETAL EN SUELO CONTAMINADO POR DAR + BIOCHAR)	R4 (ESPECIE VEGETAL EN SUELO CONTAMINADO POR DAR + BIOCHAR)

Figura 15. Diseño del experimento para la etapa de invernadero.

R (Repetición)

Fuente: Elaboración propia

4.5.8.1. Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV - Visible en muestras de plantas y suelo

Se realizó un análisis de metales en una muestra de cada especie vegetal colectada y el suelo donde se estaba desarrollando, a fin de tener un estimado de la concentración de metales y factores de bioacumulación en las especies vegetales que posteriormente fueron plantadas en el experimento de invernadero con las dosificaciones de biochar estipuladas anteriormente y en el suelo colectado. Cabe mencionar que la elección de las muestras analizadas fue completamente al azar.

Se procedió a digerir cada muestra, las cuales fueron analizadas mediante la metodología de Espectrofotometría UV – Visible (Espectrofotómetro UV – Visible, Marca: HACH, Modelo: DR 6000), donde se hizo lectura de las concentraciones de los siguientes metales: Al, Cu, Fe, Mn y Zn.

4.5.8.2. Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV - Visible en el suelo contaminado por DAR

Debido a que el suelo contaminado por DAR fue utilizado como sustrato en el experimento y que además se le aplicó el biochar, según el tratamiento planteado en el diseño de la Figura 16, se procedió a digerir una muestra compuesta del suelo colectado, la cual fue analizada mediante la metodología de Espectrofotometría UV – Visible (Espectrofotómetro UV – Visible, Marca: HACH, Modelo: DR 6000), donde se hizo lectura de las concentraciones de los siguientes metales: Al, Cu, Fe, Mn y Zn.

Este análisis se realizó a fin de tener conocimiento de las concentraciones iniciales de cada metal en el suelo al inicio del experimento, es decir, sin influencia de la especie vegetal altoandina y/o la dosificación del biochar aplicado.

4.5.8.3. Análisis de caracterización en el suelo colectado:

Se realizó un análisis de caracterización completa a una muestra compuesta del suelo colectado, a fin de conocer las características del suelo que ingresó al experimento con especies vegetales altoandinas y dosificaciones de biochar.

El análisis de caracterización de suelo se contempló los siguientes parámetros:

Tabla 11. Metodologías de análisis para las muestras de suelo.

PARÁMETRO	UNIDAD DE MEDIDA	MÉTODO
pH	Unid. pH	Potenciómetro
Conductividad eléctrica	dS/cm	Potenciómetro
CaCO ₃	%	Método Gasovolumétrico
Materia orgánica	%	Calcinación
Fósforo	ppm	Espectrofotometría por Absorción Atómica
Potasio	ppm	Espectrofotometría por Absorción Atómica
Textura	-	Método del Hidrómetro
Capacidad de intercambio catiónico	meq/100g	Método del Acetato de Amonio
Ca ⁺² , Mg ⁺² , K ⁺ , Na ⁺	meq/100g	Espectrofotometría por Absorción Atómica
Al ⁺³ + H ⁺	meq/100g	Método de Yuan

Fuente: Elaboración propia.

4.5.9. Dosificación de biochar a las especies vegetales altoandinas en el invernadero

Las dosificaciones de biochar en las especies vegetales altoandinas con suelo contaminado por drenaje ácido de roca se realizó en uno de los invernaderos del Centro de Investigación Científica y Tecnológica en Ecosistemas de Montaña (CICTEM) del INAI GEM, en el invernadero se monitoreó continuamente la temperatura y humedad del ambiente. Por otro lado, las dosificaciones del biochar se realizaron en macetas plásticas de 12 cm. de altura, las cuales se colocaron ordenadamente según el diseño experimental mostrado en la **Figura 15**.

El riego de las macetas fue inter-diario (250 ml.), durante tres meses y tres semanas; y dicho riego se determinó según las condiciones en las que se

encontraron las especies de especies vegetales altoandinas colectadas (suelo a capacidad de campo).

Por último, se realizaron las dosificaciones de biochar según el análisis de los resultados en el punto **4.2.6** respetando el diseño experimental definido en la **Figura 15**.

4.5.10. Evaluación de la asistencia del biochar en la capacidad fitoremediadora de las especies vegetales altoandinas

La fase experimental en el invernadero tuvo una duración de tres meses y tres semanas, donde se evaluó el desarrollo vegetativo de las plantas altoandinas, en esta evaluación se tomaron datos como, la altura de la planta y el largo, ancho y estado de las hojas durante su desarrollo, del mismo modo, se realizaron mediciones del pH en el suelo de cada maceta; al finalizar la prueba se determinó la longitud de la raíz de cada tratamiento.

Finalmente se realizó análisis de metales (**Al, Cu, Fe, Mn y Zn**) mediante Espectrofotometría UV - Visible a los suelos y plantas altoandinas sometidos al experimento en invernadero a fin de evaluar la capacidad fitorremediadora de las plantas en cada unidad experimental.

4.6. Técnicas e instrumentos para la recolección de la información

En la presente investigación se utilizó información extraída de trabajos académicos y/o de carácter científico, tales como: Tesis de pregrado y postgrado (Repositorios Nacionales e Internacionales), Artículos científicos (Science Direct, Microsoft Academic, Springer y LA Referencia) y otros estudios preliminares (Informes y/o reportes emitidos por instituciones oficiales).

Además, se utilizaron ciertos métodos, equipos e instrumentos para la colecta y análisis de muestras a lo largo de la investigación, los cuales se detallan en las **Tablas 12, 13 y 14**.

Tabla 12. Recipientes para toma de muestras, método de preservación, equipos e instrumentos y método de análisis por cada parámetro para las muestras y aplicación del biochar.

PARÁMETROS		UNIDADES	RECIPIENTE	PRESERVACIÓN	EQUIPO / INSTRUMENTO	MÉTODO
Parámetros físico-químicos y químicos del biochar	Materia orgánica	%	Bolsa hermética	-	Mufla	Calcinación
	Conductividad eléctrica	dS/cm		-	Potenciómetro	Potenciometría
	pH	0-14		-	Potenciómetro	Potenciometría
	Capacidad de intercambio catiónico	meq/100g			Instrumentos de laboratorio	Método del Acetato de Amonio
	N, P ₂ O ₅ , K ₂ O	%		-	Instrumentos de laboratorio	Método de Kjeldahl, Método de Olsen modificado, Extracción de Acetato de Amonio
	CaO, MgO	%		-	Espectrofotómetro de Absorción Atómica	Espectrofotometría por Absorción Atómica
	Humedad	%		-	Estufa	Gravimetría
	Na	%		-	Espectrofotómetro de Absorción Atómica	Espectrofotometría por Absorción Atómica
	Al, Cu, Fe, Mn, Zn	mg/kg		-	Espectrómetro UV-VIS	Espectrofotometría UV-Visible
	C, H, O, N	%		-	Equipo para análisis elemental	ASTM D5373/Mét. A
Capacidad de germinación de la enmienda	Índice de germinación	%	-	-	Ficha de recolección de datos	Poder germinativo
	Índice de germinación residual normalizado	-				Nro. de semillas germinadas en función de la prueba control
	Índice de elongación radical residual normalizado	-				Elongación de la raíz de la plántulas en función de la prueba control

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 13. Recipientes para toma de muestras, método de preservación, equipos e instrumentos y método de análisis por cada parámetro para las muestras drenaje ácido de roca (agua y suelo)

PARÁMETROS	UNIDADES	RECIPIENTE	PRESERVACIÓN	EQUIPO / INSTRUMENTO	MÉTODO	
Parámetros físico-químicos del suelo contaminado por drenaje ácido de roca	pH	-	Bolsa hermética	-	Potenciómetro	Potenciometría
	Conductividad eléctrica	dS/cm			Potenciómetro	Potenciometría
	Acidez cambiante (Al ³⁺ + H ⁺)	meq/100g			Instrumentos de laboratorio	Método de Yuan
	Bases Cambiables (Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , K ⁺ , Na ⁺)	meq/100g			Espectrofotómetro de Absorción Atómica	Espectrofotometría por Absorción Atómica
	Materia orgánica	%			Mufla	Calcinación
	Textura	%			Batería de tamices	Método del Hidrómetro
	Capacidad de intercambio catiónico	meq/100g			Instrumentos de laboratorio	Método del Acetato de Amonio
	Al, Cu, Fe, Mn, Zn	mg/kg			Espectrómetro UV-VIS	Espectrofotometría UV-Visible
Parámetros físico-químicos y químicos del drenaje ácido de roca	pH	-	Botella de plástico	Toma de datos en campo	Equipo multiparámetro	Análisis en campo mediante multiparámetro
	CE	dS/cm				
	OD	mg/L				
	Temperatura	°C				
	Al, Cu, Fe, Mn, Zn	mg/L				

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 14. Recipientes para toma de muestras, método de preservación, equipos e instrumentos y método de análisis por cada parámetro para las especies vegetales.

PARÁMETROS	UNIDADES	RECIPIENTE	PRESERVACIÓN	EQUIPO / INSTRUMENTO	MÉTODO	
Capacidad fitoremediadora de las especies vegetales altoandinas	Concentración de metales en el sistema radicular	mg/kg	Bolsa hermética	-	Espectrómetro UV-VIS	Espectrofotometría UV-Visible
	Concentración de metales en la biomasa aérea	mg/kg			Espectrómetro UV-VIS	Espectrofotometría UV-Visible
	Factor de bioconcentración raíz	-			Concentración de metales en la raíz con respecto al suelo	
	Factor de bioconcentración parte aérea	-				Concentración de metales en la parte aérea con respecto al suelo
	Factor de traslocación	-				

						la parte aérea con respecto a la raíz de la planta
	Concentración de metales en el suelo	mg/kg			Espectrómetro UV-VIS	Espectrofotometría UV-Visible
Desarrollo vegetativo de las especies vegetales	Altura de la planta	cm			Ficha de recolección de datos	-
	Longitud de la raíz	cm	-	-		-

Fuente: Elaboración propia.

4.7. Análisis y procesamiento de datos

A los resultados de la fase experimental en invernadero cómo la concentración de metales en la planta, en el suelo, valores del desarrollo de cada especie vegetal altoandina y otros datos tomados durante el experimento en invernadero, se le aplicaron procesamientos estadísticos adecuados a los resultados que se deseaban obtener; dichos procedimientos responden a lo diagramado en la **Figura 16**.

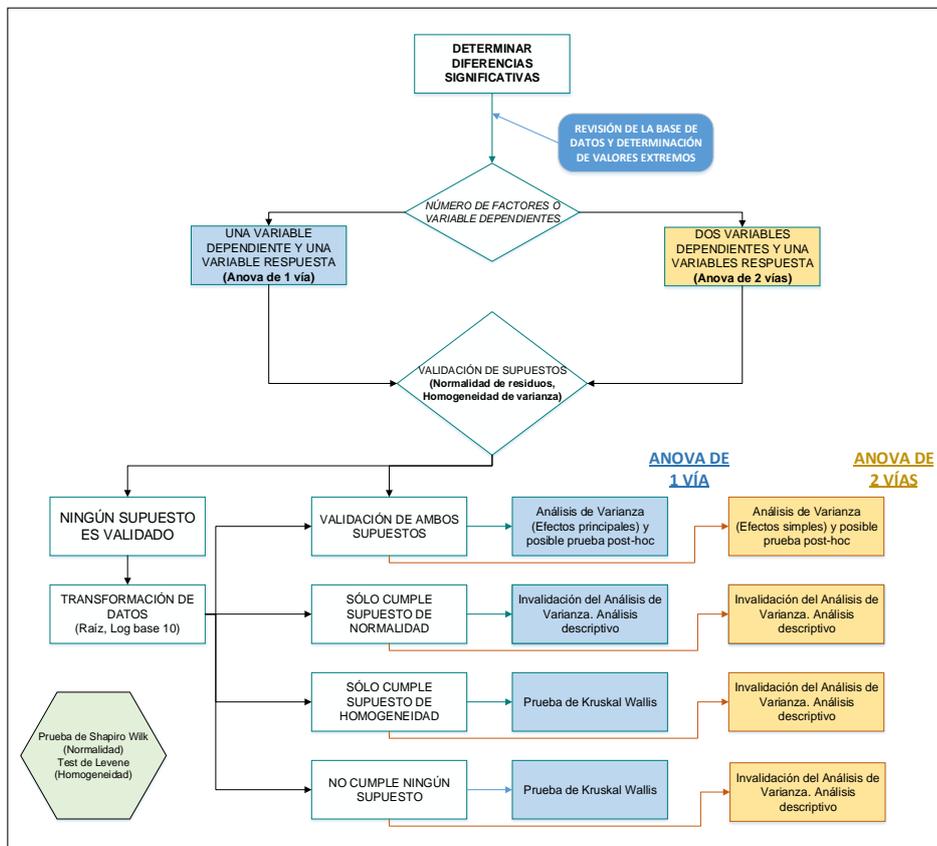


Figura 16. *Procesamiento estadístico de los datos obtenidos.*

Fuente: Adaptado de Benitez, Pece y Galindez (2010); Gotelli y Ellison (2013)

V. RESULTADOS

En función al cumplimiento del **objetivo específico 1** “Analizar las concentraciones de Al, Cu, Fe, Mn y Zn en el suelo y agua de una zona expuesta al drenaje ácido de roca y una zona adyacente sin contacto con el drenaje ácido de roca” se obtuvieron los siguientes resultados:

5.1. Caracterización del agua y suelo en la zona de estudio

5.1.1. Muestreo en campo

5.1.1.1. Muestreo de agua

Se colectaron dos muestras de agua puntuales y simples, una muestra fue colectada en la parte alta del área afectada por el DAR (**AG1-QUI-M**) y la segunda muestra en la parte baja de la misma área (**AG2-QUI-M**) (**Figura 17**).

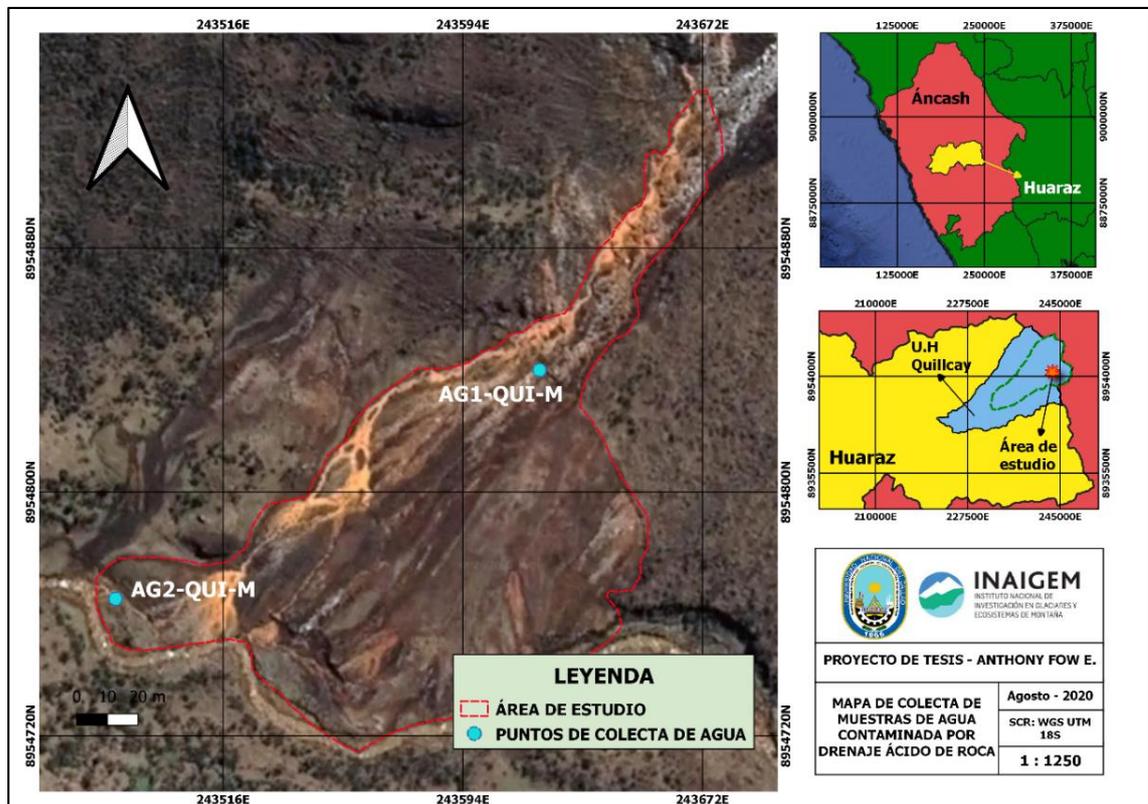


Figura 17. Puntos de muestreo de agua en el área impactada por DAR.

Fuente: Elaboración propia



Figura 18. Colecta de muestras de agua en el área impactada por DAR (a. Vista panorámica del DAR, b. Colecta en el punto AG1-QUI-M, c. Colecta en el punto AG2-QUI-M).

Fuente: Elaboración propia.

5.1.1.2. Muestreo de suelo

Se colectaron 6 muestras de suelo que puedan representar las áreas a estudiar, tres muestras fueron colectadas del área evidentemente afectada por el DAR (**SC1-QUI-M**, **SC2-QUI-M**, **SC3-QUI-M**) y las otras tres muestras fueron colectadas de un área visualmente menos impactada por el DAR (**SNC1**, **SNC2**, **SNC3**) (Figura 19).

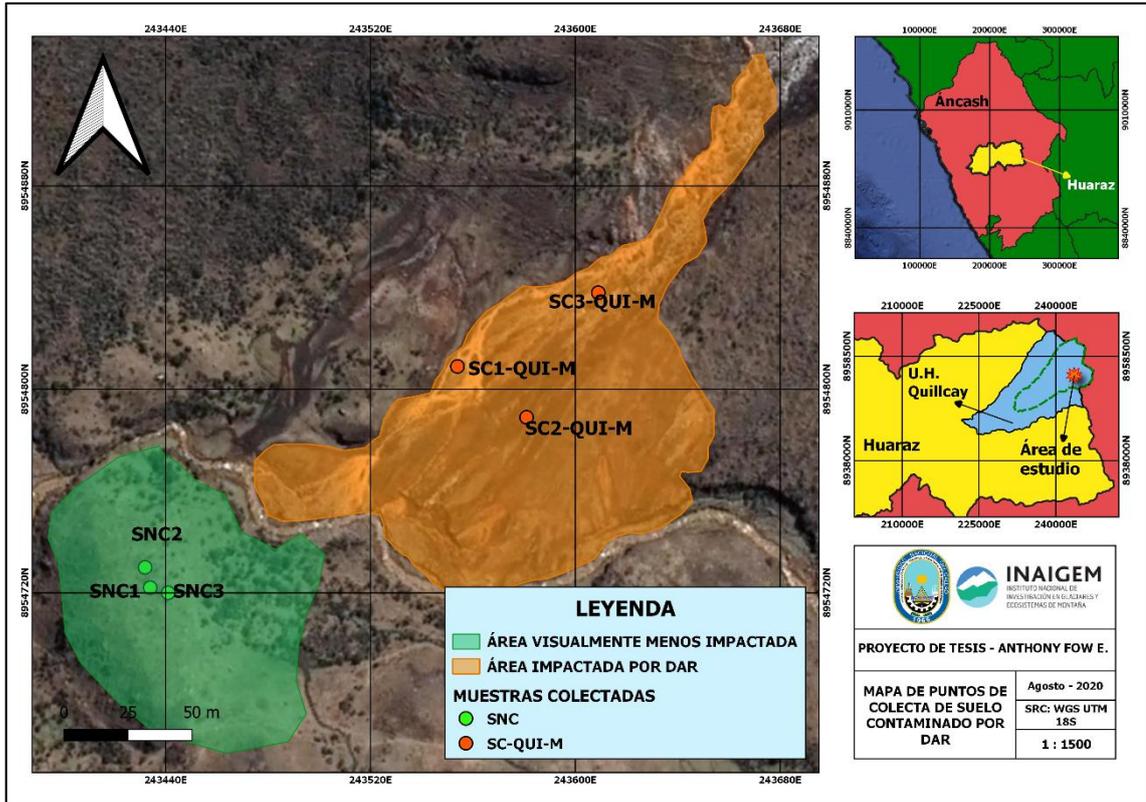


Figura 19. Puntos de muestreo de suelo en el área impactada por DAR y el área visualmente menos impactada

Fuente: Elaboración propia



Figura 20. Colecta de muestras de suelo en el área impactada por DAR (a. Rotulado de la muestra, b. Extracción de la muestra, c. Registro del punto de colecta en GPS)

Fuente: Elaboración propia

5.1.2. Análisis de las muestras

5.1.2.1. Análisis de parámetros de campo en muestras de agua

El análisis de parámetros de campo o ambientales se realizó en los puntos dónde se colectaron las muestras de agua AG1-QUI-M y AG2-QUI-M obteniendo los resultados mostrados en la **Tabla 15**.

Tabla 15. *Parámetros ambientales en los puntos AG1-QUI-M y AG2-QUI-M.*

CÓDIGO	COORDENADAS UTM		ALTURA (m.s.n.m.)	FECHA	HORA	pH	CE (uS.cm ⁻¹)	OD (mg.L ⁻¹)	T (°C)
	NORTE	ESTE							
AG1-QUI-M	8954840	243619	4237	27/11/2019	11:40	2.68	2568	6.40	22.1
AG2-QUI-M	8954770	243481	4209	27/11/2019	13:20	2.81	3087	9.78	16.28

Fuente: Elaboración propia

Tabla 16. *Estándar de Calidad Ambiental Agua – Categoría 3 y 4*

ECA-Agua		pH	CE (uS.cm ⁻¹)	OD (mg.L ⁻¹)
Categoría	Sub- Categoría			
Categoría 3	D1	6.5-8.5	2500	≥4
Categoría 4	E2	6.5-9.0	1000	**

**Parámetro no aplicable a esta sub-categoría.

Fuente: DS N° 004-2017-MINAM

Se puede observar que el punto AG1-QUI-M tiene un pH ácido y una conductividad eléctrica elevada, ambos valores se encuentran fuera de lo establecido en las Categorías 3 y 4 del ECA-Agua (**Tabla 16**), para el caso del oxígeno disuelto, el valor de este se encuentra por encima de lo establecido en la categoría 3 del ECA-Agua; para este punto de muestreo se establece que incumple en los parámetros pH y CE, mientras que para OD se encuentra dentro de lo normal según la normativa citada.

Para el punto AG2-QUI-M se observa el mismo comportamiento que el punto AG1-QUI-M, el pH muy ácido y conductividad eléctrica elevada, mientras que para el caso del oxígeno disuelto se encuentra por encima del valor establecido en la categoría 3 del ECA-Agua, por lo que se establece que este punto incumple en los parámetros pH y CE, mientras que para OD se encuentra dentro de lo normal según la normativa citada.

5.1.2.2. Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV – Visible en agua

Las muestras de agua digeridas fueron analizadas mediante espectrofotometría UV – Visible (**Tabla 17**) priorizando los metales que superan el ECA-Agua en las categorías 3 y 4 con mayor recurrencia (**Al, Cu, Fe, Mn y Zn**) según los análisis periódicos realizados en la Quebrada Cayesh por la **DIEM** del **INAIGEM**, desde el 2015 al 2018.

Tabla 17. *Análisis de metales en muestras de agua contaminada por DAR.*

MUESTRA	METALES				
	Cu (mg/L)	Fe (mg/L)	Mn (mg/L)	Zn (mg/L)	Al (mg/L)
AG1-QUI-M	0.9 ^a	20.9 ^a	0.051	1.22	0.848
AG2-QUI-M	1.01 ^a	12.2 ^a	0.295 ^a	1.81	0.966
ECA-Agua (Categoría 3 - D1)	0.2	5.0	0.2	2.0	5

a. Valor que supera el ECA-Agua en Categoría 3 (D1: Riego de Vegetales)

Fuente: Elaboración propia.

En la **Tabla 17** se puede observar que ambas muestras están por encima de lo establecido en al menos una de las normativas citadas para cada metal analizado. Además, se pudo observar que las concentraciones de hierro de ambas muestras superaron 4.18 y 2.44 veces lo establecido en la normativa citada.

5.1.2.3. Análisis de metales en suelo mediante Espectrofotometría UV – Visible

Las seis muestras de suelo digestadas fueron analizadas mediante espectrofotometría UV – Visible (**Tabla 18**), los metales analizados fueron los mismos que se analizaron en calidad de agua ya que son los de mayor impacto en relación al DAR, sin embargo, los resultados que se presentarán son en función de cuatro muestras (*dos del área evidentemente impactada por el DAR y dos del área donde visualmente el impacto era menor*), esto debido las otras dos muestras presentaron valores extremos, el cuadro de lectura de metales de las seis muestras está en el **Anexo 2**, cabe mencionar que al realizar la comparación de concentración de metales considerando todas las muestras, el resultado general fue el mismo, sin embargo, se optó por retirar los valores extremos anteriormente mencionados.

Tabla 18. *Concentración de metales en las muestras de suelo colectadas en el área impactada por DAR y el área visualmente menos impactada.*

CÓDIGO	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Al (mg/kg)
SC1-QUI-M	105	2700	65.9	138	74.1
SC2-QUI-M	103	1230	65.4	231	48.3
SNC1	96	1070	19.6	157	68.1
SNC2	107	1940	13.3	140	67.6

Fuente: Elaboración propia.

En la **Tabla 18** se puede observar que las muestras de suelo contaminado (**SC1-QUI-M y SC2-QUI-M**) presentan mayor concentración de metales con respecto a las muestras donde visualmente había menor impacto por DAR (**SNC1 y SNC2**); en la **Figura 21** se visualiza la comparación de la concentración promedio de metales en todas las muestras colectadas; las columnas de codificación “SC-QUI-M” representan el promedio de las concentraciones de

metales en las muestras de suelo colectadas en el área evidentemente impactada por el DAR, mientras que las columnas de codificación “SNC” representan las concentraciones de metales en las muestras de suelo colectadas en el área donde se visualizó un menor impacto por DAR; se observa además que en todos los metales analizados, a excepción del Al, el promedio de las concentraciones de metales en el área evidentemente impactada por DAR son mayores, sin embargo, al realizar una prueba t – student ($\alpha=5\%$) para dos muestras independientes en cada metal, se puede observar que solo existe diferencia significativa entre las concentraciones de manganeso, lo que nos muestra que el área impactada por DAR tiene concentraciones de Al, Cu, Fe y Zn significativamente similares al área donde visualmente hay menos impacto por DAR.

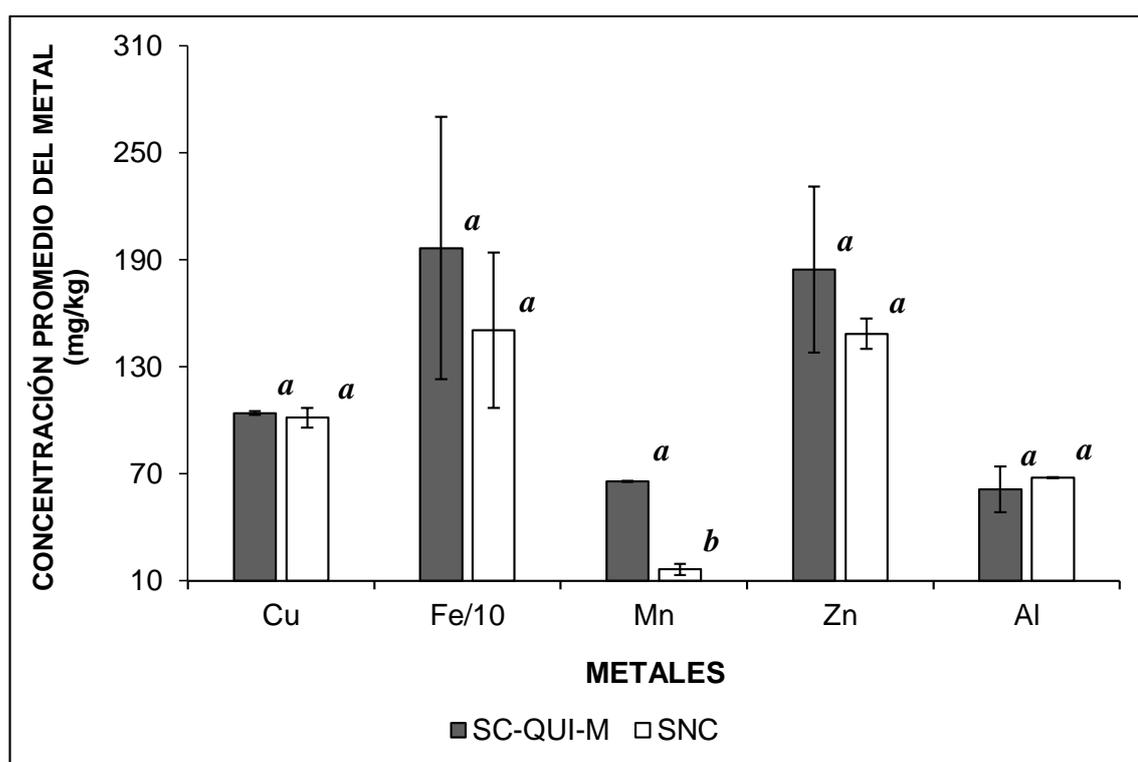


Figura 21. Comparación de la concentración promedio de metales entre las muestras colectadas en SC-QUI y SNC.

Medias con una letra en común no son significativamente distintas ($p > 0.05$).

Fuente: Elaboración propia.

Se pudo observar que los metales analizados en las muestras de agua y suelo son relevantes para la presente investigación por lo que el análisis de estos cinco metales se continuó realizando en la parte experimental del estudio.

En función al cumplimiento del **objetivo específico 2** “Identificar tres especies de plantas altoandinas en la zona de estudio y determinar su potencial fitorremediador” se obtuvieron los siguientes resultados:

5.2. Identificación y análisis de las especies vegetales altoandinas con potencial fitorremediador

5.2.1. Identificación de las especies vegetales altoandinas

Con el apoyo de la **Tabla 6** y a criterio del investigador se realizó la identificación de las especies de plantas altoandinas que predominaban en el área de estudio, durante el recorrido desde el campamento establecido hacia el área impactada por DAR, durante dicho trayecto, se observó que plantas de la especie *Werneria nubigena*, *Baccharis buxifolia*, *Lupinus* spp. y *Paranephelium ovatus* se desarrollaban sin ningún problema por lo que fueron las especies potenciales a coleccionar, esta proposición fue corroborada una vez se llegó al área impactada por DAR, ya que al igual que a lo largo del recorrido, estas cuatro especies de plantas altoandinas y otras crecían en los contornos del área impactada (**Figura 22**).

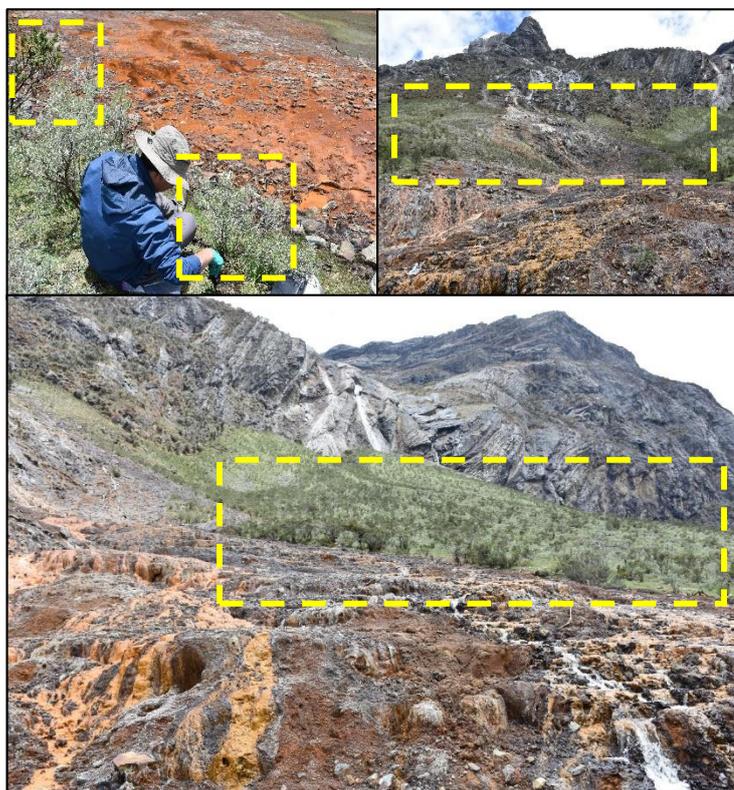


Figura 22. Plantas altoandinas desarrollándose en los contornos del área impactada por DAR

Fuente: Elaboración propia

5.2.2. Muestreo en campo

5.2.2.1. Muestreo de especies vegetales altoandinas

En el área de estudio se observó que en los bordes del área impactada por DAR predominaban cinco especies de plantas que se desarrollaban sin dificultad

alguna, por lo que se procedió a coleccionar cinco individuos de cada especie de planta.

Las cinco especies de plantas altoandinas coleccionadas fueron *Werneria nubigena* (EV1), *Baccharis buxifolia* (EV2), *Lupinus* spp. (EV3), *Calamagrostis* spp. (EV4) y *Paranephelius ovatus* (EV5) (Figura 24), se coleccionaron cuatro individuos de cada especie y las plantas coleccionadas fueron identificadas con el apoyo de la especialista en Biología Vegetal de la DIEM, Sandra Arroyo Alfaro.

5.2.2.2. Muestreo de suelo

Se coleccionaron quince muestras de suelo puntuales, es decir, muestras del suelo donde se estaba desarrollando cada planta coleccionada, específicamente se coleccionó todo el suelo que tenía contacto directo con la parte radicular de la planta y sus contornos más próximos hasta completar un kilogramo de muestra (Figura 23).



Figura 23. Colecta de suelo en los individuos de plantas coleccionadas.

(a. Conjunto de plantas *Werneria nubigena* retiradas con bloque de suelo, b. Extracción de individuo y suelo en contacto con la parte radicular, c. Extracción completa de un individuo de *Baccharis buxifolia* con su bloque de suelo correspondiente, d. Separación de la parte radicular y aérea de *Baccharis buxifolia* tras ser extraída)

Fuente: Elaboración propia



Figura 24. Especies de plantas altoandinas colectadas (a. Colecta y desarrollo de *Werneria nibugena*; b. Colecta y desarrollo de *Baccharis buxifolia*, c. Colecta y desarrollo de *Lupinus spp.*, d. Colecta y desarrollo de *Calamagrostis spp.*, e. Colecta y desarrollo de *Paranephelius ovatus*).

Fuente: Elaboración propia

5.2.3. Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV – Visible en plantas y suelo

En total se obtuvieron 15 muestras de partes aéreas, 15 muestras de partes radicales y 15 muestras de suelo debido a que de las 5 especies vegetales consideradas se colectaron 3 plantas con su muestra de suelo correspondiente.

En la **Tabla 19** se pueden ver las concentraciones de metales en las partes aéreas de las plantas colectadas con su respectiva codificación, en la **Tabla 20** se pueden ver las concentraciones de metales en las partes radicales de las plantas colectadas con su respectiva codificación y en la **Tabla 21** muestran las concentraciones metales en las muestras de suelo correspondiente a cada planta colectada.

Tabla 19. Concentración de metales en la parte aérea de las muestras de plantas altoandinas colectadas.

N°	MUESTRA	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Al (mg/kg)
1	EV1-QUI-PA1	271.795	3846.154	11.538	320.513	58.718
2	EV1-QUI-PA2	279.487	4846.154	11.282	348.718	112.051
3	EV1-QUI-PA3	246.154	4128.205	10.769	389.744	91.795
4	EV2-QUI-PA1	246.154	4461.538	22.051	323.077	103.077
5	EV2-QUI-PA2	210.256	3384.615	13.077	284.615	83.590
6	EV2-QUI-PA3	228.205	4051.282	12.308	374.359	91.538
7	EV3-QUI-PA1	210.256	4461.538	10.000	307.692	98.205
8	EV3-QUI-PA2	217.949	2615.385	31.795	71.795	94.103
9	EV3-QUI-PA3	933.333	1441.026	17.692	41.026	80.256
10	EV4-QUI-PA1	248.718	3846.154	17.436	317.949	74.872
11	EV4-QUI-PA2	251.282	4051.282	16.667	307.692	88.462
12	EV4-QUI-PA3	266.667	4205.128	15.641	312.821	60.000
13	EV5-QUI-PA1	284.615	4512.821	16.923	361.538	78.462
14	EV5-QUI-PA2	294.872	2051.282	37.692	325.641	92.821
15	EV5-QUI-PA3	279.487	4333.333	14.872	366.667	54.359

Dónde: **EV** → Especie Vegetal / **QUI** → Quillcayhuanca / **PA** → Parte aérea
El número final de cada codificación hace referencia al número de muestra colectada

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 20. Concentración de metales en la parte radicular de las muestras de plantas altoandinas colectadas

N°	MUESTRA	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Al (mg/kg)
1	EV1-QUI-RA1	310.256	3948.718	15.897	323.077	74.359
2	EV1-QUI-RA2	210.256	2897.436	81.538	343.590	82.564
3	EV1-QUI-RA3	217.949	2564.103	36.923	374.359	78.205
4	EV2-QUI-RA1	276.923	3846.154	20.256	341.026	110.769
5	EV2-QUI-RA2	253.846	3794.872	14.103	387.179	84.103
6	EV2-QUI-RA3	235.897	4948.718	26.154	338.462	102.564
7	EV3-QUI-RA1	294.872	4641.026	14.872	423.077	85.897
8	EV3-QUI-RA2	241.026	1358.974	174.359	56.410	173.846
9	EV3-QUI-RA3	769.231	1374.359	15.128	46.154	67.692
10	EV4-QUI-RA1	197.436	1897.436	569.231	82.051	75.897
11	EV4-QUI-RA2	307.692	4205.128	23.846	338.462	112.821
12	EV4-QUI-RA3	225.641	4410.256	21.795	328.205	68.205
13	EV5-QUI-RA1	323.077	4692.308	34.615	302.564	104.359
14	EV5-QUI-RA2	417.949	4923.077	28.205	358.974	92.821
15	EV5-QUI-RA3	276.923	3153.846	17.436	333.333	74.103

Dónde: **EV** → Especie Vegetal / **QUI** → Quillcayhuanca / **RA** → Parte radicular
 El número final de cada codificación hace referencia al número de muestra colectada.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 21. Concentración de metales en las muestras de suelo correspondiente a cada individuo de planta colectada

N°	MUESTRA	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Al (mg/kg)
1	SEV1-QUI-M1	175.00	1730.00	30.20	140.00	72.10
2	SEV1-QUI-M2	154.00	2150.00	25.90	125.00	48.50
3	SEV1-QUI-M3	109.00	1510.00	38.40	197.00	70.90
4	SEV2-QUI-M1	161.00	1820.00	59.60	187.00	139.00
5	SEV2-QUI-M2	152.00	2130.00	13.00	161.00	71.80
6	SEV2-QUI-M3	620.00	670.00	399.00	850.00	709.00
7	SEV3-QUI-M1	148.00	1750.00	45.10	144.00	132.00
8	SEV3-QUI-M2	2480.00	1360.00	495.00	251.00	605.00
9	SEV3-QUI-M3	344.00	7000.00	560.00	189.00	42.90
10	SEV4-QUI-M1	121.00	1630.00	66.30	140.00	58.00
11	SEV4-QUI-M2	108.00	1605.00	116.15	141.00	52.45
12	SEV4-QUI-M3	95.00	1580.00	166.00	142.00	46.90
13	SEV5-QUI-M1	105.00	1660.00	17.50	116.00	60.50
14	SEV5-QUI-M2	110.00	1950.00	15.70	133.00	56.50
15	SEV5-QUI-M3	190.00	28.00	295.00	81.00	520.00

Dónde: **SEV** → Suelo de cada especie vegetal / **QUI** → Quillcayhuanca
 El número final de cada codificación hace referencia al número de muestra colectada

Fuente: Elaboración propia.

5.3. Selección de especies vegetales altoandinas con potencial fitorremediador

Para determinar el potencial fitorremediador de las especies de plantas altoandinas se utilizaron los valores de concentración de metal en el suelo, parte aérea y parte radicular de cada planta colectada a fin de generar el factor de traslocación (**FT**), factor de bioacumulación aérea (**FBA**) y factor de bioacumulación radicular (**FBR**), se pudo observar que durante la lectura de metales en las muestras de suelo existían valores anómalos, por lo que, se procedió a generar diagramas de cajas y bigotes para cada metal en todas las muestras de suelo, (**Figura 25, parte A**) pudiendo notarse claramente la presencia de valores extremos en los diagramas de cajas y bigotes.

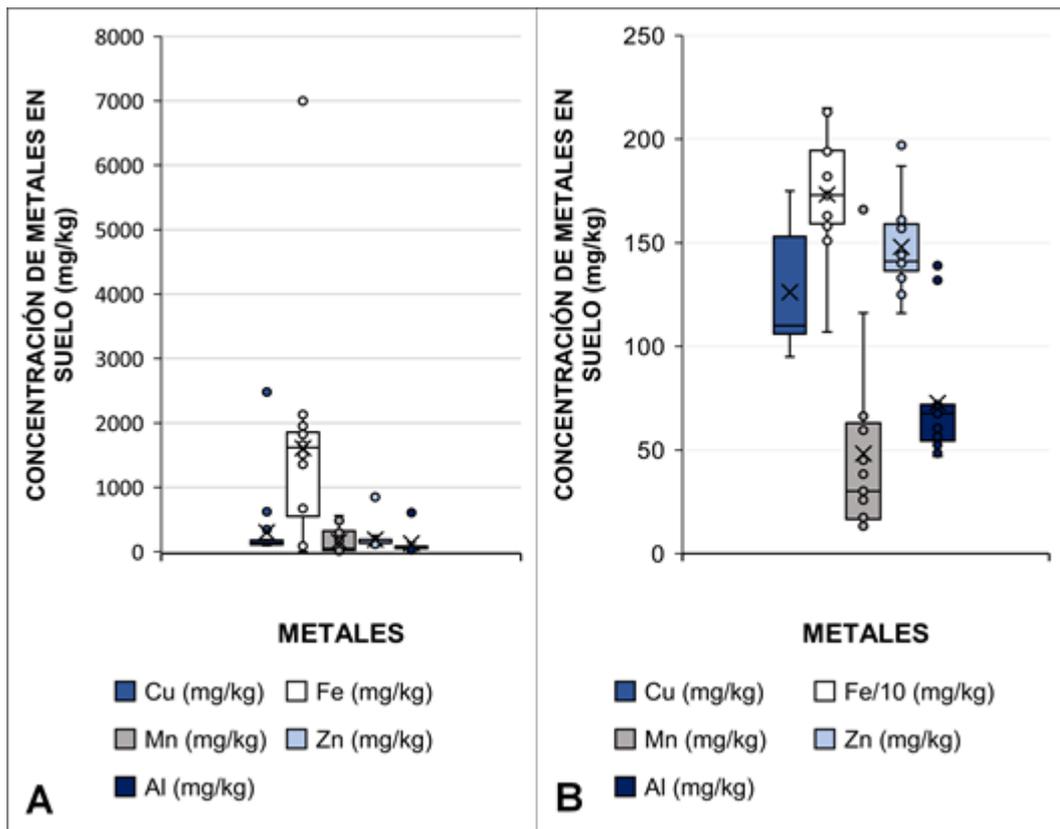


Figura 25. Distribución de las concentraciones de metales en muestras de suelo de cada especie vegetal colectada

(A. Diagramas de cajas y bigotes de cada metal con el total de muestras, B. Diagramas de cajas y bigotes de cada metal retirando los valores extremos)

Fuente: Elaboración propia.

Una vez que se determinaron los valores atípicos se procedieron a retirar y generar otros diagramas de cajas y bigotes para cada metal (**Figura 25, parte B**) donde se pudo observar una mejor distribución de las concentraciones de metales, con diagramas de cajas más uniformes, donde se pueden visualizar con mayor claridad la mediana y los cuartiles correspondientes.

Los valores retirados fueron de las muestras SEV2-QUI-M2, SEV3-QUI-M2, SEV3-QUI-M3 y SEV5-QUI-M3; con los valores restantes se realizó el análisis por metal, generando los **FT**, **FBA** y **FBR** a fin de determinar las plantas altoandinas con mayor capacidad fitoremediadora; es necesario mencionar que se realizaron los mismos análisis de **FT**, **FBA** y **FBR** por metal utilizando todos los valores de las **Tablas 19, 20 y 21**, sin embargo, en ambas situaciones (*usando todos los datos y retirando los valores extremos*) EV1, EV4 y EV5 fueron las especies con mayor potencial fitorremediador.

5.3.1. Análisis de metales en *Werneria nubigena*

En la **Tabla 22** se muestra el factor de traslocación obtenido para los metales analizados en *Werneria nubigena*; para el Al, Cu, Fe y Zn, se obtuvieron valores mayores a 1, lo que significa que *Werneria nubigena* moviliza eficazmente esos metales desde sus raíces hacia la parte aérea de la planta; por otro lado, se obtuvo un valor menor a 1 para Mn (0.39), indicando que *Werneria nubigena*, no moviliza eficazmente este metal desde sus raíces hacia la parte aérea.

Tabla 22. Factores de traslocación en *Werneria nubigena*

METAL	Al	Cu	Fe	Mn	Zn
FACTOR DE TRASLOCACIÓN	1.11±0.29	1.11±0.23	1.42±0.39	0.39±0.30	1.02±0.02

Valores mayores o igual a uno indican que la planta tiene capacidad de traslocación.

Fuente: Elaboración propia.

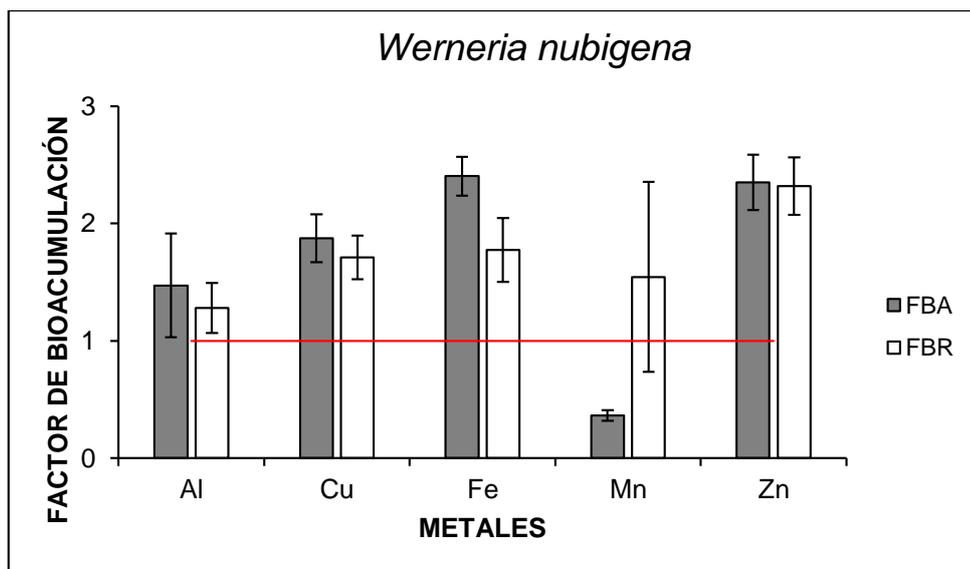


Figura 26. Factores de bioacumulación aérea y bioacumulación radicular en *Werneria nubigena*. Valores mayores o igual a uno indican que la planta tiene capacidad de acumulación.

Fuente: Elaboración propia.

En la **Figura 26** se muestran los factores de bioacumulación aérea (FBA) y bioacumulación radicular (FBR) para cada metal analizado en *Werneria nubigena*. En cuanto a los FBA, se observan valores mayores a 1 para el Al

(1.47), Cu (1.88), Fe (2.40) y Zn (2.35), lo que indica que esta planta tiene la capacidad de acumular dichos metales en la parte aérea, mientras que, para Mn el valor de FBA fue 0.37, indicando que la planta no acumula de manera eficaz dicho metal en su parte aérea. Para el FBR se observa que para todos los metales se obtuvieron valores mayores a 1, lo que indica que esta planta tiene la capacidad de acumular todos los metales analizados en su parte radicular; siendo Zn el valor más alto con 2.32 y Al el valor más bajo con 1.28.

5.3.2. Análisis de metales en *Baccharis buxifolia*

En la **Tabla 23** se muestra el factor de traslocación obtenido para los metales analizados en *Baccharis buxifolia*; para Fe y Mn, se obtuvieron valores mayores a 1, lo que significa que *Baccharis buxifolia* moviliza eficazmente esos metales desde sus raíces hacia la parte aérea de la planta; por otro lado, se obtuvieron valores menores a 1 para Al, Cu y Zn, indicando que *Baccharis buxifolia*, no moviliza eficazmente este metal desde sus raíces hacia la parte aérea.

Tabla 23. Factores de traslocación en *Baccharis buxifolia*

METAL	Al	Cu	Fe	Mn	Zn
FACTOR DE TRASLOCACIÓN	0.96±0.04	0.86±0.04	1.03±0.19	1.01±0.11	0.84±0.15

Valores mayores o igual a uno indican que la planta tiene capacidad de traslocación.

Fuente: Elaboración propia.

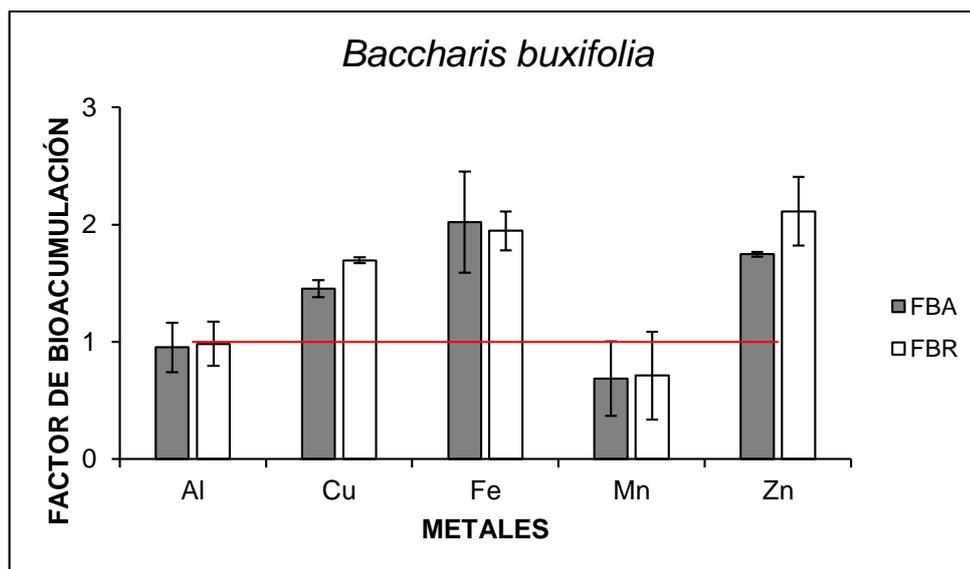


Figura 27. Factores de bioacumulación aérea y bioacumulación radicular en *Baccharis buxifolia*. Valores mayores o igual a uno indican que la planta tiene capacidad de acumulación.

Fuente: Elaboración propia.

En la **Figura 27** se muestran los factores de bioacumulación aérea (FBA) y bioacumulación radicular (FBR) para cada metal analizado en *Baccharis buxifolia*. En cuanto a los FBA, se observan valores mayores a 1 para el Cu (1.46), Fe (2.02) y Zn (1.75), lo que indica que esta planta tiene la capacidad de acumular dichos metales en la parte aérea, mientras que, para aluminio y

manganeso Al y Mn el valor de FBA fue de 0.95 y 0.69, respectivamente, indicando que la planta no acumula de manera eficaz dicho metal en su parte aérea. Para el FBR se observan valores mayores a 1 para Cu (1.70), Fe (1.95) y Zn (2.11), lo que indica que esta planta tiene la capacidad de acumular dichos metales en la parte radicular, mientras que, para Al y Mn el valor de FBA fue de 0.98 y 0.71, respectivamente, indicando que la planta no acumula de manera eficaz dicho metal en su parte radicular.

5.3.3. Análisis de metales en *Lupinus spp.*

En la **Tabla 24** se muestra el factor de traslocación obtenido para los metales analizados en *Lupinus spp.*; se observa que sólo para Al se obtuvo un valor mayor a 1, lo que significa que *Lupinus spp.* moviliza eficazmente este metal desde sus raíces hacia la parte aérea de la planta; por otro lado, se obtuvo un valor menor a 1 para Cu, Fe, Mn y Zn, indicando que *Lupinus spp.*, no moviliza eficazmente este metal desde sus raíces hacia la parte aérea.

Tabla 24. Factores de traslocación en *Lupinus spp.*

METAL	Al	Cu	Fe	Mn	Zn
FACTOR DE TRASLOCACIÓN	1.14	0.71	0.96	0.67	0.73

Valores mayores o igual a uno indican que la planta tiene capacidad de traslocación.

Fuente: Elaboración propia.

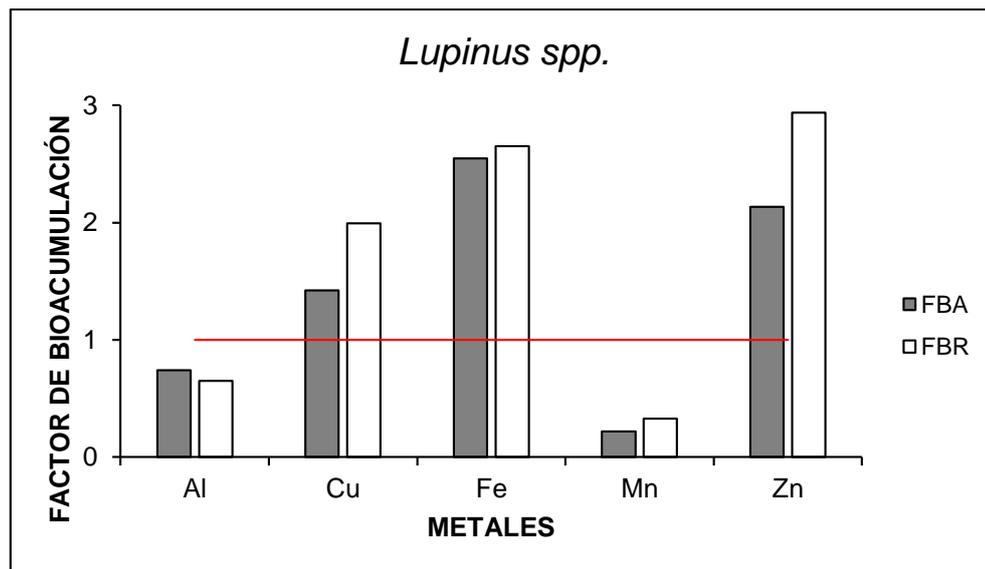


Figura 28. Factores de bioacumulación aérea y bioacumulación radicular en *Lupinus spp.*
Valores mayores o igual a uno indican que la planta tiene capacidad de acumulación.

Fuente: Elaboración propia.

En la **Figura 28** se muestran los factores de bioacumulación aérea (FBA) y bioacumulación radicular (FBR) para cada metal analizado en *Lupinus spp.* En cuanto a los FBA, se observan valores mayores a 1 para el Cu (1.42), Fe (2.55) y Zn (2.14), lo que indica que esta planta tiene la capacidad de acumular dichos

metales en la parte aérea, mientras que, para Al y Mn, el valor de FBA fue de 0.74 y 0.22, respectivamente, indicando que la planta no acumula de manera eficaz dicho metal en su parte aérea. Para el FBR se observan valores mayores a 1 para Cu (1.99), Fe (2.65) y Zn (2.94), lo que indica que esta planta tiene la capacidad de acumular dichos metales en la parte radicular, mientras que, para Al y Mn, el valor de FBA fue de 0.65 y 0.33, respectivamente, indicando que la planta no acumula de manera eficaz dicho metal en su parte radicular.

5.3.4. Análisis de metales en *Calamagrostis* spp.

En la **Tabla 25** se muestra el factor de traslocación obtenido para los metales analizados en *Calamagrostis* spp.; para Cu, Fe y Zn, se obtuvieron valores mayores a 1, lo que significa que *Calamagrostis* spp. moviliza eficazmente esos metales desde sus raíces hacia la parte aérea de la planta; por otro lado, se obtuvo un valor menor a 1 para Al y Mn, indicando que *Calamagrostis* spp., no moviliza eficazmente este metal desde sus raíces hacia la parte aérea.

Tabla 25. Factores de traslocación en *Calamagrostis* spp.

METAL	Al	Cu	Fe	Mn	Zn
FACTOR DE TRASLOCACIÓN	0.88±0.10	1.09±0.24	1.31±0.62	0.48±0.39	1.91±1.70

Valores mayores o igual a uno indican que la planta tiene capacidad de traslocación.

Fuente: Elaboración propia.

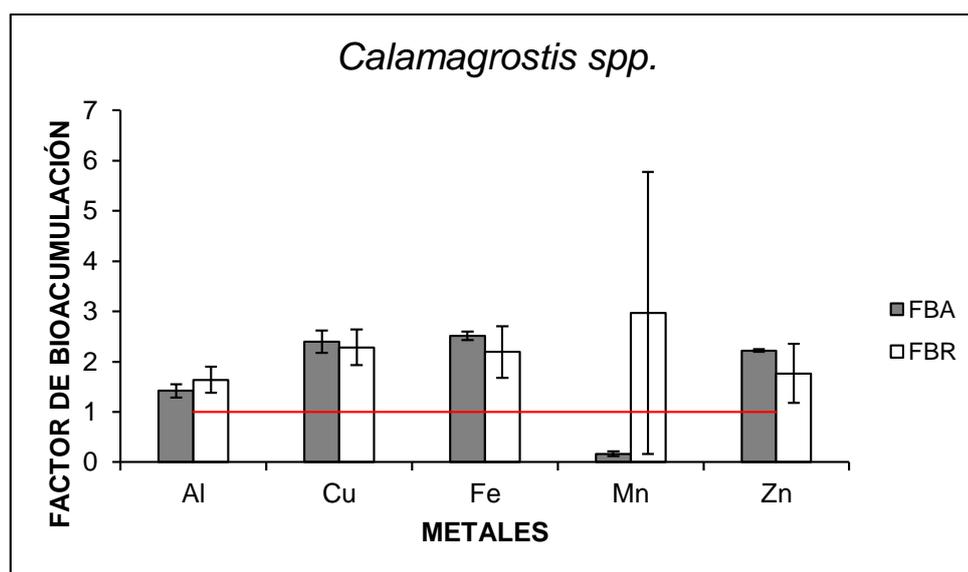


Figura 29. Factores de bioacumulación aérea y bioacumulación radicular en *Calamagrostis* spp. Valores mayores o igual a uno indican que la planta tiene capacidad de acumulación.

Fuente: Elaboración propia.

En la **Figura 29** se muestran los factores de bioacumulación aérea (FBA) y bioacumulación radicular (FBR) para cada metal analizado en *Calamagrostis* spp. En cuanto a los FBA, se observan valores mayores a 1 para el Al (1.42), Cu (2.40), Fe (2.52) y Zn (2.22), lo que indica que esta planta tiene la capacidad de acumular dichos metales en la parte aérea, mientras que, para Mn el valor de

FBA fue de 0.17, indicando que la planta no acumula de manera eficaz dicho metal en su parte aérea. Para el FBR se observa que en todos los metales se obtuvieron valores mayores a 1, lo que indica que esta planta tiene la capacidad de acumular todos los metales analizados en su parte radicular; siendo Mn el valor más alto con 2.97 y aluminio el menor con 1.64.

5.3.5. Análisis de metales en *Paranephelius ovatus*

En la **Tabla 26** se muestra el factor de traslocación obtenido para los metales analizados en *Paranephelius ovatus*; se observa que sólo para Zn se obtuvo un valor mayor a 1, lo que significa que *Paranephelius ovatus* moviliza eficazmente este metal desde sus raíces hacia la parte aérea de la planta; por otro lado, se obtuvieron valores menores a 1 para Al, Cu, Fe y Mn, indicando que *Paranephelius ovatus*, no moviliza eficazmente este metal desde sus raíces hacia la parte aérea.

Tabla 26. Factores de traslocación en *Paranephelius ovatus*

METAL	Al	Cu	Fe	Mn	Zn
FACTOR DE TRASLOCACIÓN	0.88±0.18	0.79±0.12	0.69±0.39	0.91±0.60	1.05±0.20

Valores mayores o igual a uno indican que la planta tiene capacidad de traslocación.
Fuente: Elaboración propia.

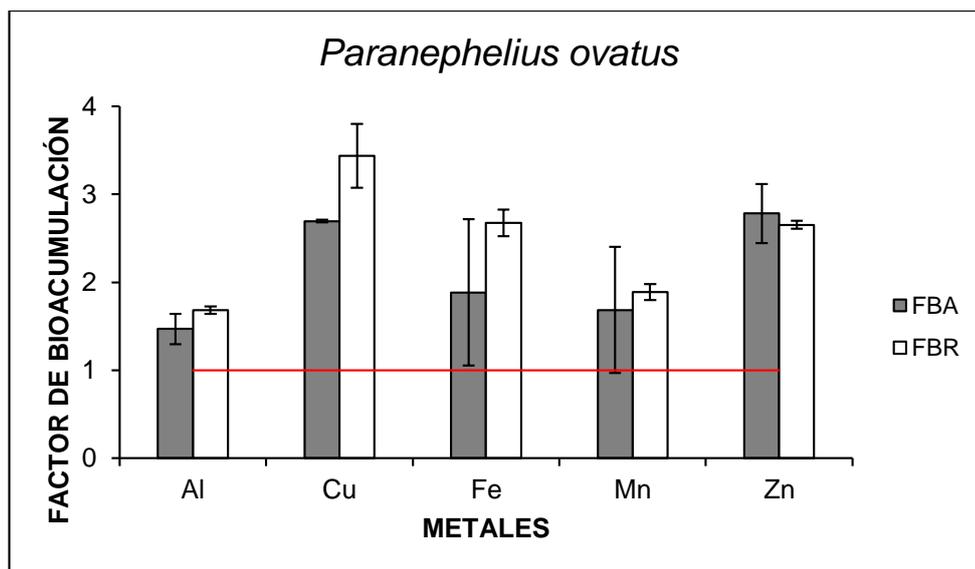


Figura 30. Factores de bioacumulación aérea y bioacumulación radicular en *Paranephelius ovatus*

Valores mayores o igual a uno indican que la planta tiene capacidad de acumulación.
Fuente: Elaboración propia.

En la **Figura 30** se muestran los factores de bioacumulación aérea (FBA) y bioacumulación radicular (FBR) para cada metal analizado en *Paranephelius ovatus*. En cuanto a los FBA, se observan valores mayores a 1 para todos los metales, siendo Zn el valor más alto con 2.78 y el menor Al con 1.47, lo que

indica que la planta acumula de manera eficaz todos estos metales en su parte aérea. Para el FBR se observa que para todos los metales se obtuvieron valores mayores a 1, lo que indica que esta planta tiene la capacidad de acumular todos los metales analizados en su parte radicular; siendo cobre el valor más alto con 3.44 y Al el menor con 1.68.

Finalmente se escogieron *Werneria nubigena*, *Calamagrostis spp.* y *Paranephelium ovatus*, debido a que en la mayoría de metales presentaron capacidad de acumulación tanto para el FBA y el FBR (Tabla 27), mientras que *Baccharis buxifolia* y *Lupinus spp.* fueron categorizadas como “excluseras” de Al y Mn, lo que las descartó para su uso en la siguiente fase del proyecto de investigación.

Tabla 27. Potencial fitorremediador de cada especie vegetal en función de los metales analizados

ESPECIES VEGETALES / METALES	FT	POTENCIAL	FBA	FBR	CLASIFICACIÓN	
					PARTE AÉREA	PARTE RADICULAR
<i>Werneria nubigena</i>						
Aluminio	1.11	Fitoextractora	1.47	1.28	Acumuladora	Acumuladora
Cobre	1.11	Fitoextractora	1.88	1.71	Acumuladora	Acumuladora
Hierro	1.42	Fitoextractora	2.40	1.78	Acumuladora	Acumuladora
Manganeso	0.39	Fitoestabilizadora	0.37	1.55	Exclusera	Acumuladora
Zinc	1.02	Fitoextractora	2.35	2.32	Acumuladora	Acumuladora
<i>Baccharis buxifolia</i>						
Aluminio	0.96	Fitoestabilizadora	0.95	0.98	Exclusera	Exclusera
Cobre	0.86	Fitoestabilizadora	1.46	1.70	Acumuladora	Acumuladora
Hierro	1.03	Fitoextractora	2.02	1.95	Acumuladora	Acumuladora
Manganeso	1.01	Fitoextractora	0.69	0.71	Exclusera	Exclusera
Zinc	0.84	Fitoestabilizadora	1.75	2.11	Acumuladora	Acumuladora
<i>Lupinus spp.</i>						
Aluminio	1.14	Fitoextractora	0.74	0.65	Exclusera	Exclusera
Cobre	0.71	Fitoestabilizadora	1.42	1.99	Acumuladora	Acumuladora
Hierro	0.96	Fitoestabilizadora	2.55	2.65	Acumuladora	Acumuladora
Manganeso	0.67	Fitoestabilizadora	0.22	0.33	Exclusera	Exclusera
Zinc	0.73	Fitoestabilizadora	2.14	2.94	Acumuladora	Acumuladora
<i>Calamagrostis spp.</i>						
Aluminio	0.88	Fitoestabilizadora	1.42	1.64	Acumuladora	Acumuladora
Cobre	1.09	Fitoextractora	2.40	2.29	Acumuladora	Acumuladora
Hierro	1.31	Fitoextractora	2.52	2.19	Acumuladora	Acumuladora
Manganeso	0.48	Fitoestabilizadora	0.17	2.97	Exclusera	Acumuladora
Zinc	1.91	Fitoextractora	2.22	1.77	Acumuladora	Acumuladora
<i>Paranephelium ovatus</i>						
Aluminio	0.88	Fitoestabilizadora	1.47	1.68	Acumuladora	Acumuladora
Cobre	0.79	Fitoestabilizadora	2.70	3.44	Acumuladora	Acumuladora
Hierro	0.69	Fitoestabilizadora	1.89	2.68	Acumuladora	Acumuladora

Manganeso	0.91	Fitoestabilizadora	1.68	1.89	Acumuladora	Acumuladora
Zinc	1.05	Fitoextractora	2.78	2.65	Acumuladora	Acumuladora

Fuente: Elaboración propia.

En función al cumplimiento del **objetivo específico 3** “*Determinar la dosificación adecuada de biochar para asistir a la fitorremediación de tres especies vegetales altoandinas plantadas en macetas con suelos contaminados por drenaje ácido de roca*”, se obtuvieron los siguientes resultados:

5.4. Producción del biochar

Se realizó la producción de biochar a partir de los residuos de poda de pino de la Universidad Nacional Agraria La Molina, cabe mencionar que estos residuos se encontraban en la parte trasera de la ciudad universitaria, la cual es un área destinada a la producción de biochar mediante la metodología KON-TIKI, y en esa misma área se encuentran estos residuos vegetales. En la **parte “a”** de la **Figura 31** se puede observar el montículo de residuos de poda de pino, estos residuos fueron seleccionados, únicamente se escogieron las ramas relativamente gruesas que puedan mantener el calor durante la producción, y se evitó agregar la vegetación seca, en la **parte “b”** se puede observar la materia prima separada y en la **parte “c”** se aprecia la producción del biochar, esta producción duró alrededor de 1 hora, teniendo una temperatura máxima de 650°C, en la **parte “d” y “e”** se puede visualizar el biochar terminado y en la **parte “f” y “g”** se observan restos que mantuvieron su forma durante el proceso de pirolización, cabe mencionar que la primera capa de biochar producido en el cono fue separado ya que no hay completa certeza de que esa sección haya podido pirolizarse, finalmente en la **parte “f”** se visualiza el biochar retirado del cono de producción el cuál fue utilizado en la actividades posteriores.



Figura 31. Producción de biochar a partir de residuos de pino mediante la metodología KON-TIKI.

Fuente: Elaboración propia.

5.5. Bioensayos de germinación y evaluación del desarrollo de la plántula *Lactuca sativa* L.

5.5.1. Bioensayos

Se realizaron dos pruebas, ambas tuvieron una duración de 10 días, la primera prueba se realizó desde el 19 de octubre hasta 29 de octubre del 2019 y la segunda prueba se realizó desde el 30 de octubre hasta el 09 de noviembre del 2019, durante el desarrollo de ambas pruebas se realizó el monitoreo continuo de parámetros meteorológicos utilizando un medidor meteorológico **Kestrel 5500**, el equipo fue configurado para realizar mediciones de temperatura media (°C), temperatura máxima (°C), temperatura mínima (°C) y humedad relativa (%) cada diez minutos, en la **Tabla 28** se puede observar el promedio de todos los datos obtenidos a partir de la medición de parámetros meteorológicos durante el desarrollo de ambas pruebas, en general, se mantuvo una temperatura promedio de 21.56 ± 0.64 °C y una humedad relativa de $45.80 \pm 4.33\%$; en la **Figura 32** se observa el comportamiento de las variables en mención durante el desarrollo de ambas pruebas, se puede observar que el comportamiento de las temperaturas tuvo variaciones de máximas de 2 °C a 3 °C a lo largo del experimento, mientras que el comportamiento de la humedad relativa presentó el valor mínimo el día 27/10/2019 con 34.78% y el día 04/11/2019 se presentó el valor máximo de humedad relativa con 52.99%.

Tabla 28. Promedio de los valores de los parámetros meteorológicos monitoreados durante los bioensayos.

BIOENSAYOS	Temp. Media (°C)	Temp. Máxima (°C)	Temp. Mínima (°C)	Humedad Relativa (%)
PRIMERA PRUEBA	21.23 ± 0.75	22.45 ± 0.71	12.88 ± 0.63	44.28 ± 4.70
SEGUNDA PRUEBA	21.88 ± 0.25	23.02 ± 0.46	13.95 ± 0.52	47.32 ± 3.49

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 30. Biochar y arena para el desarrollo del segundo bioensayo.

REPETI- CIÓN	0% (CONTROL)		1%		3%		5%		7%	
	BC (g)	ARENA (g)	BC (g)	ARENA (g)	BC (g)	ARENA (g)	BC (g)	ARENA (g)	BC (g)	ARENA (g)
1-4	0	145	1.45	143.55	4.35	140.65	7.25	137.75	10.15	134.85

Fuente: Elaboración propia.



Figura 33. Bioensayos de germinación y desarrollo de la plántula *Lactuca sativa* L. (a. Peso de la dosificación de biochar, b. Peso de la cantidad correspondiente de arena, c. Combinación de ambas dosificaciones, d. Siembra de semillas e inicio de la prueba, e. Desarrollo de las plántulas, f. Fin de la prueba y extracción de las plántulas desarrolladas, g. Medición correspondiente a cada plántula.)

Fuente: Elaboración propia.

5.5.2. Procesamiento de datos

Todos los valores obtenidos producto de las mediciones de cada plántula que se usaron para el cálculo de la Germinación Relativa de la Semilla (GRS), Crecimiento Relativo de la Radícula (CRR), Índice de Germinación Normalizada (IGN) y el Índice de Elongación Radicular (IER) se encuentran en el **Anexo 2**.

5.5.2.1. Primer bioensayo

Luego de realizar las mediciones correspondientes a las plántulas desarrolladas en cada repetición de cada dosificación se realizó el cálculo de los índices detallados en la metodología siguiendo la ruta establecida en la **Figura 14**.

En función a la GRS y el CRR se obtuvo el Índice de Zucconi para cada dosificación, en la **Tabla 31** se pueden observar estos valores, se visualiza que únicamente la dosificación del 5% de biochar superó el valor de 80% en este índice, por lo que, sólo la dosificación del 5% del biochar producido a partir de residuos de pino puede ser aplicado como enmienda del suelo, las otras dosificaciones en estudio inhibieron la germinación y/o desarrollo de la plántula *Lactuca sativa* L. por lo que tienen una alta probabilidad de toxicidad.

Tabla 31. Índices de germinación de Zucconi del primer bioensayo.

REPETICIÓN	5%	10%	15%	20%
R1	122.24	16.71	sg	sg
R2	101.61	18.80	sg	sg
R3	100.20	7.94	sg	sg
R4	152.09	0.00	sg	sg
PROMEDIO	119.04 ± 24.23	10.86 ± 8.64	sg	sg

sg: tratamiento sin germinación de semilla

Fuente: Elaboración propia.

Posteriormente se analizó el IGN y el IER a fin de continuar evaluando la dosificación del 5% de biochar en la prueba. En la **Figura 34** se puede apreciar un comportamiento similar para ambos índices en todas las dosificaciones de biochar, se puede observar que sólo la dosificación del 5% de biochar se encuentra por encima del valor 0, lo que significa que esta dosificación no presenta toxicidad en su composición y además no genera toxicidad en el sustrato aplicado por lo que las semillas germinaron y las plántulas se desarrollaron sin ningún problema, además, se puede observar para ambos índices que la dosificación del 10% de biochar se encuentra en el rango “Muy tóxico”, mientras que las dosificaciones del 15 y 20% de biochar para ambos índices se encuentra en el rango de “Muy alta toxicidad”.

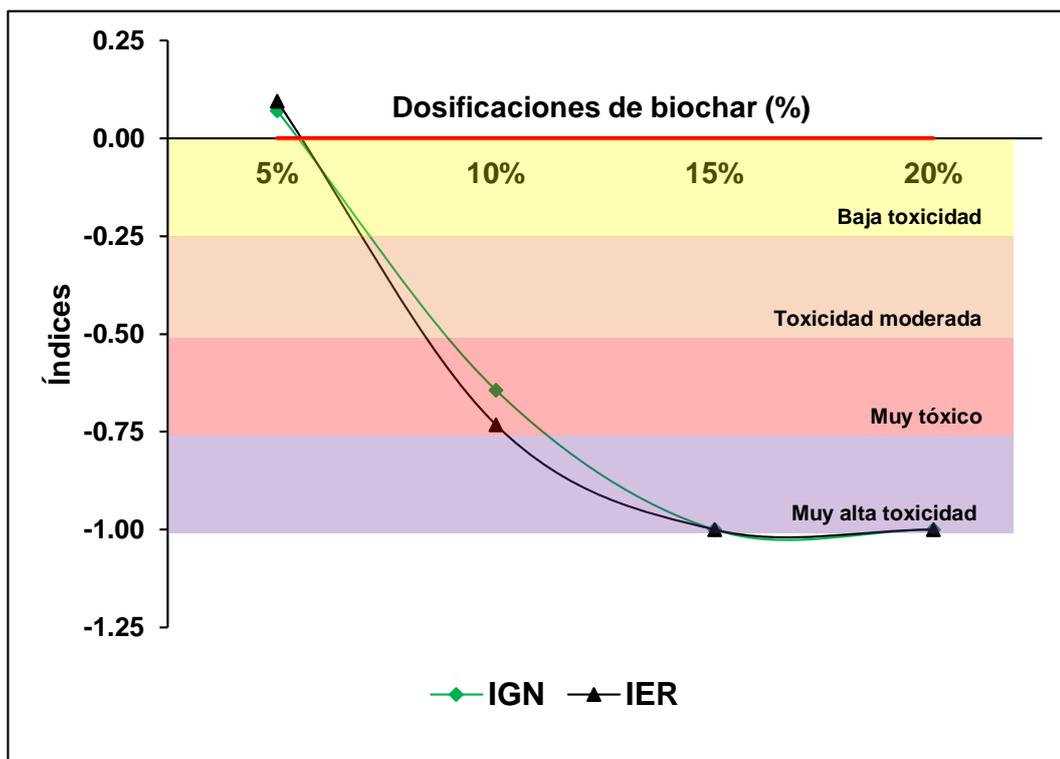


Figura 34. Comportamiento del IGN y el IER en el primer bioensayo.

Fuente: Elaboración propia.

5.5.2.2. Segundo bioensayo

Para esta segunda prueba se utilizaron dosificaciones del 1%, 3%, 5% y 7% a fin de determinar que dosificaciones se aplicarán en la siguiente fase de la presente investigación, por lo que una vez terminado el segundo bioensayo se procedió a realizar las mediciones y cálculos correspondientes a lo establecido en la **Figura 14**.

En función a la GRS y el CRR se obtuvo el Índice de Zucconi para cada dosificación; en la **Tabla 32** se puede apreciar que todas las dosificaciones de biochar aplicadas superaron el 80%, lo que significa que todas las dosificaciones pueden ser utilizadas como enmienda del suelo.

Tabla 32. Índices de germinación de Zucconi del segundo bioensayo.

REPETICIÓN	1%	3%	5%	7%
R1	220.24	175.04	172.61	162.96
R2	95.40	170.02	85.86	60.94
R3	190.23	157.94	148.35	106.21
R4	191.07	160.34	135.54	117.09
PROMEDIO	174.23 ± 54.37	165.84 ± 8.05	135.59 ± 36.54	111.80 ± 41.88

Fuente: Elaboración propia.

Posteriormente se analizó el IGN y el IER a fin de continuar evaluando las dosificaciones de biochar aplicadas. En la **Figura 35** se puede apreciar un que IGN se mantiene con valores mayores a 0 lo que indica que ninguna de las dosificaciones biochar aplicadas inhibe la germinación de las semillas utilizadas en el experimento, además se observa un valor máximo de germinación en la dosificación del 5% de biochar, en cuanto al IER se puede observar que a mayor dosificación de biochar este índice tiene a disminuir, sin embargo, las dosificaciones del 1%, 3% y 5% mantienen un índice superior a 1, mientras que la dosificación del 7% se encuentra en el rango de baja toxicidad.

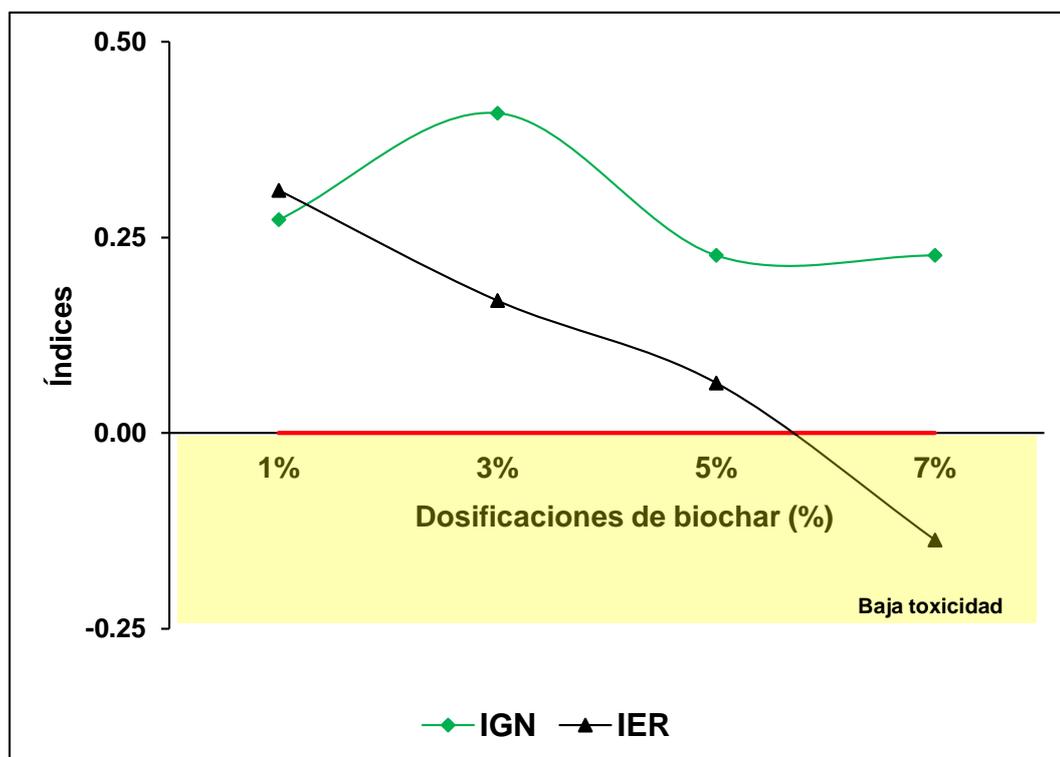


Figura 35. Comportamiento del IGN y el IER en el segundo bioensayo.

Fuente: Elaboración propia.

Cómo se puede observar en el resultado anterior, los valores del Índice de germinación de Zucconi e IER tienden a disminuir con respecto al aumento de la dosificación de biochar, se visualiza además que dosificaciones entre el 1% y 5% son las más recomendadas a utilizar en la siguiente fase de la presente investigación, sin embargo, se necesita decidir únicamente entre dos dosificaciones de biochar, por lo que se realizó un análisis de regresión lineal utilizando el Índice de germinación Zucconi y las dosificaciones de biochar, se utilizó este índice debido a que su cálculo incluye datos como el crecimiento relativo de la radícula y la germinación relativa de la semilla, considerando también que la siguiente fase de la investigación busca determinar la influencia del biochar en la capacidad fitoremediadora de tres plantas altoandinas y que esta capacidad fitoremediadora está influenciada por el desarrollo de las raíces de cada planta, este índice es el que podría reflejar con mayor claridad el

comportamiento de las dosificaciones del biochar en cuanto al impacto que este podría tener en la capacidad fitoremediadora de las plantas altoandinas.

- **Análisis de regresión lineal**

Para el análisis de regresión lineal se utilizaron los promedios del Índice de Zucconi (IG) para cada dosificación, dichos valores se muestran en la **Tabla 32**; además se utilizó el software estadístico **InfoStat** para el procesamiento de los datos.

Previo a este análisis de regresión lineal se procedió a realizar un diagrama de dispersión (**Figura 36**) donde el eje “y” corresponde al IG y el eje “x” corresponde a las dosificaciones de biochar, en la **Figura 36** se puede observar que la relación entre las variables está bien identificada y que además existe una relación negativa entre ellas.

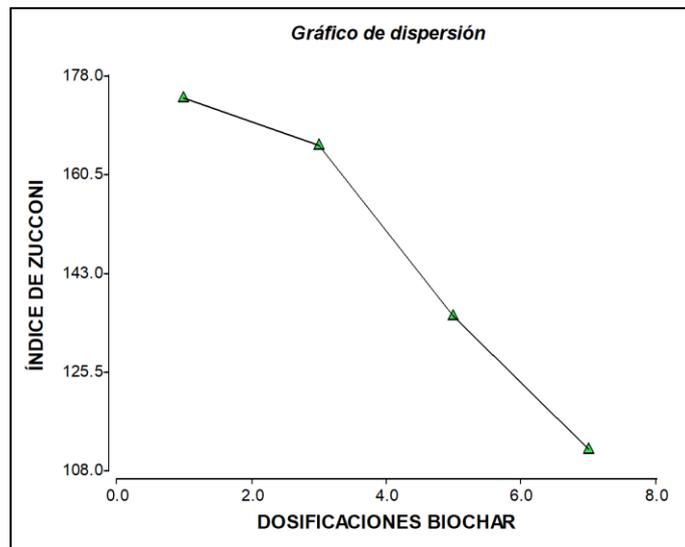


Figura 36. Gráfico de dispersión entre el IG y las dosificaciones de biochar.

Fuente: Elaboración propia

Primero se procede a realizar la validación de los supuestos; el primer supuesto por analizar viene a ser la normalidad, en la **parte A** de la **Figura 37** se observa en el gráfico denominado *Q-Q plot*, elaborado a partir de los residuos del modelo de regresión, que el coeficiente de regresión de la gráfica es muy cercano a 1, por lo que se acepta que los datos presentan una distribución normal, en seguida se analiza el gráfico de *Residuos estudentizados vs. Predichos*, este gráfico se encuentra en la **parte B** y se va a analizar el supuesto de homocedasticidad, la gráfica nos muestra que la dispersión de puntos no corresponde a una tendencia marcada o forma algún patrón que indique falta de cumplimiento a la homogeneidad de varianzas, luego se procede a evaluar los gráficos de *distancias de DCook* (**parte C**) y gráfico de *Leverage* (**parte D**), ambos muestran la existencia de valores atípicos de la ecuación que podrían estar afectando a los resultados, para gráfico de *distancias de DCook* lo ideal es que no existan puntos por encima de la línea roja, sin embargo, de haber puntos estos no deben

ser mayores al 5% de los datos utilizados para el análisis de regresión lineal, se puede observar que sólo un punto está por fuera de la línea roja el cual representa exactamente el 25% de los datos utilizados (*ya que sólo se usaron los promedios para el análisis*), sin embargo, en el gráfico de *Leverage* no llega a aparecer la línea roja que determina los límites, por lo que según este gráfico no hay valores atípicos que afecten los resultados del modelo generado.

En general se observa que los datos cumplen con el supuesto de normalidad y homocedasticidad, en cuanto al análisis de los gráficos que muestran los valores atípicos o extremos una de las pruebas indica que existe un valor atípico afectando los resultados del modelo, por lo que se continúa con el análisis de regresión lineal.

El encabezamiento de la **Tabla 33** indica que la variable dependiente es el índice de Zucconi, que el número de pares de datos utilizados es 4, que el coeficiente de determinación (R^2) es 0.96 y que su versión ajustada (R^2 Aj) da un valor de 0.94, el cuál es muy cercano a 1.

En el apartado de coeficientes de regresión y estadísticos asociados se puede observar la pendiente estimada, esta aparece en la línea correspondiente a la variable regresora (Dosificación). Su valor es “-10.88” y para verificar que la pendiente es distinta de 0 se analiza el p-valor correspondiente a la variable regresora, se observa que el valor es de 0.02 por lo que se rechaza la hipótesis nula H_0 (*la cual indica que la pendiente real es igual a 0*), si la pendiente estimada fuera cero entonces diríamos que no importa cuál sea la dosificación de biochar por analizar ya que el valor del índice de Zucconi permanecerá constante, en general se puede acotar que la pendiente de “-10.88” es estadísticamente distinta de cero y por lo tanto a mayor dosificación de biochar el índice de Zucconi decae y ese decaimiento es de 10,88 unidades del índice por cada unidad de dosificación por aplicar, en este apartado también se analiza en valor constante de la ecuación generada, el cual corresponde a 190.38, al igual que con la pendiente se procede a analizar el p-valor, este es menor a 0.05 por lo que se rechaza la H_0 y se verifica que esta constante es diferente de 0, se observa también que los errores estándar son relativamente bajos. De este apartado se observa que el valor de Cp Mallows es de 40.75 para la variable regresora, lo cual evidencia la importancia de esta variable en el modelo generado y por último se visualiza que el factor de inflación de varianza (VIF) es uno lo que demuestra que el modelo presenta una alta multicolinealidad (*fuerte relación entre las variables explicativas del modelo*).

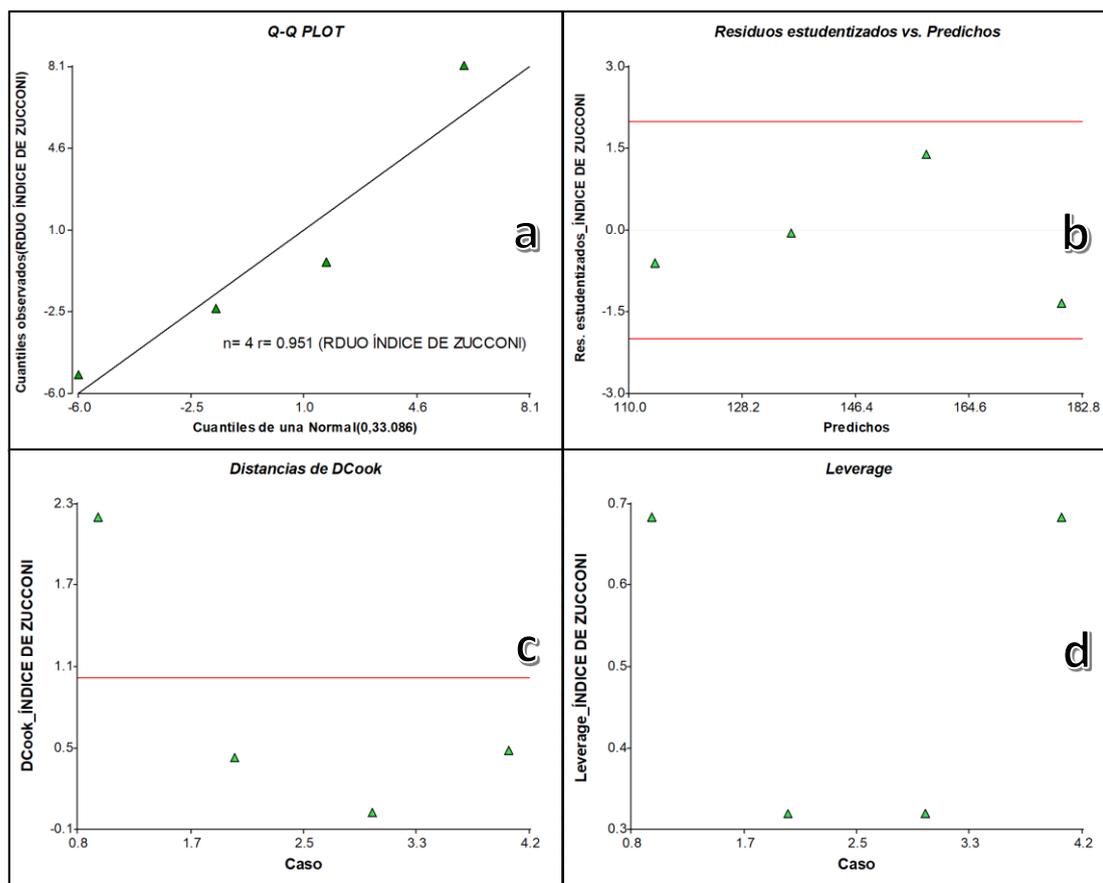


Figura 37. Supuestos evaluados en el análisis de regresión lineal (a. Q-Q plot; b. Residuos estudentizados vs. Predichos; c. Distancias de DCook; d. Leverage)
Fuente: Elaboración propia

Tabla 33. Cuadros de análisis de regresión lineal, coeficientes de regresión y estadísticos asociados y análisis de la varianza.

Análisis de regresión lineal								
Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC		
ÍNDICE DE ZUCCONI	4	0.96	0.94	253.71	30.2	28.36		
Coeficientes de regresión y estadísticos asociados								
Coeficientes	Est.	E.E.	LI (95%)	LS (95%)	T	p-valor	CpMallows	VIF
Const.	190.38	7.22	159.32	221.43	26.37	0.0014		
DOSIFICACIONES	-10.88	1.58	-17.66	-4.1	-6.91	0.0203	47.68	1

Fuente: Elaboración propia.

En función a los resultados, podemos decir que existe regresión lineal entre la dosificación de biochar de residuos de pino y el Índice de Zucconi, dicho comportamiento corresponde a la siguiente ecuación:

$$IG = 190.38 - 10.88(BC)$$

Dónde “IG” representa el índice de Zucconi según la dosificación de biochar (BC) del experimento.

En la **Figura 38** se observa la gráfica de la recta ajustada con sus respectivas bandas de confianza (**parte “a”**) y bandas de predicción (**parte “b”**).

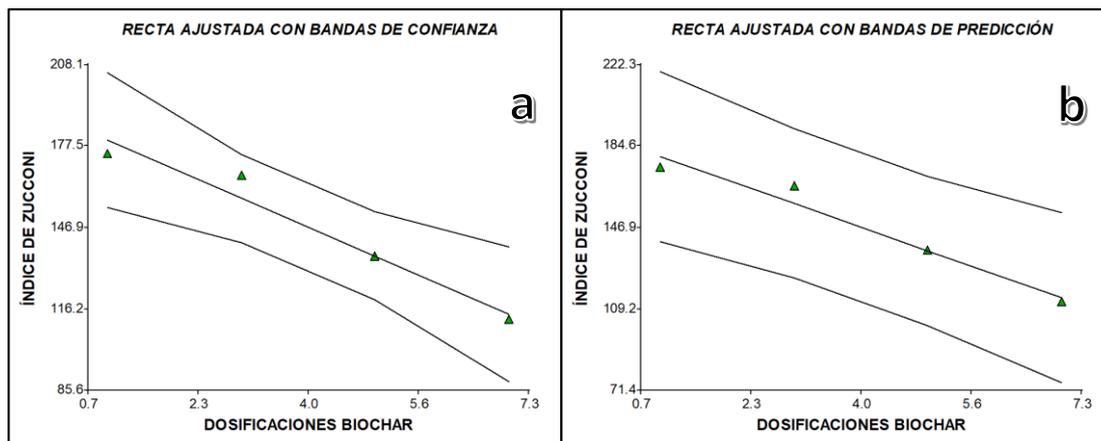


Figura 38. Rectas ajustadas (a. Recta ajustada con bandas de confianza al 95%; b. Recta ajustada con bandas de predicción al 95%).

Fuente: Elaboración propia.

5.6. Selección de dosificaciones para aplicar en la etapa de invernadero

Debido a los bioensayos realizados al biochar y al análisis de regresión del apartado anterior se puede afirmar que a mayor dosificación de biochar producido a partir de residuos de pino el Índice de Zucconi tiende a disminuir, es decir que afecta negativamente al crecimiento relativo de la radícula y la germinación relativa de la semilla, debido a que la siguiente fase de busca mejorar el desarrollo de las plantas altoandinas colectadas a fin de mejorar su capacidad fitoremediadora, se optó por utilizar las dosificaciones más bajas aplicadas en el segundo bioensayo de germinación y desarrollo de la plántula *Lactuca sativa* L., que vienen a ser 1% y 3% de biochar.

5.7. Análisis del biochar

A nivel de normativas para el biochar existen estándares voluntarios a cumplir, cómo los estándares establecidos por la Iniciativa Internacional del Biochar (**IBI**, por sus siglas en inglés) o la Certificación Europea de Biochar (**EBC**, por sus siglas en inglés) (IBI 2015; Gelardi, Li y Parikh 2019), sin embargo, hay países dentro de la Unión Europea, donde se utiliza con mayor frecuencia distintos tipos de biochar y que ante ellos, existen ciertas regulaciones más estrictas, las cuales son adaptadas y/o utilizadas también para fertilizantes; gran parte de estas normativas se encuentran descritas y ordenadas en la investigación realizada por Meyer et al. (2015), a partir de ellas es que se describen algunas características del biochar producido en la presente investigación.

5.7.1. Análisis de caracterización del biochar

Tabla 34. Análisis de caracterización del biochar de residuos de pino.

pH (1:1)	C.E. (dS/m)	M.O. (%)	N (%)	P ₂ O ₅ (%)	K ₂ O (%)	CaO (%)	MgO (%)	Humedad (%)	Na (%)	CIC (meq/100g)
8.81	12.70	12.07	0.9	1.59	1.58	12.81	1.22	6.86	0.68	4.00

Fuente: Elaboración propia

En la **Tabla 34** se presentan los valores obtenidos a partir del análisis de caracterización realizado a la muestra de biochar, en el Laboratorio de Análisis de Suelos (LASPAF) de la Universidad Nacional Agraria La Molina, los cuales se encuentran en el **Anexo 3**.

A nivel de normativas, el biochar producido a partir de residuos de pino cumple con lo establecido para el pH, ya que se encuentra dentro del rango de “4-12”, el cual es establecido por el “Decreto para Fertilizantes #45” (Normativa Italiana utilizada para biochar (Meyer et al. 2015)), mientras que, el nivel de conductividad eléctrica se encuentra por encima de 10 dS/m, nivel establecido por la misma normativa.

En cuanto a los demás parámetros (materia orgánica, N, P, K, Ca y Mg), los valores obtenidos para la muestra de biochar se encuentran dentro del promedio de la composición nutricional de diferentes enmiendas orgánicas (**Anexo 2**) utilizadas para mejorar la calidad del suelo (Hirzel y Salazar 2011).

5.7.2. Análisis de caracterización elemental del biochar

Tabla 35. Análisis de caracterización elemental del biochar.

MUESTRA	C (%)	H (%)	N (%)	S (%)	O (%)
BIOCHAR PINO	38.97	1.29	0.8	0.38	19.22

Fuente: Elaboración propia.

En la **Tabla 35** se presentan los valores obtenidos a partir del análisis de caracterización elemental a la muestra de biochar, en el Laboratorio de Energías Renovables (LER) de la Universidad Nacional Agraria La Molina, los cuales se encuentran en el Anexo 3.

Se puede determinar a partir de los resultados que la muestra de biochar tiene una relación H/C de 0.03 y una relación O/C de 0.49, dichos valores se encuentran dentro de lo establecido en los estándares voluntarios propuestos por la IBI y la EBC (Meyer et al. 2015) e indican el grado de estabilidad del biochar. Por otro lado, se determinó una relación C/N es de 48.71, la cual resulta ser muy alta en relación a otras enmiendas orgánicas (**Anexo 2**) utilizadas para mejorar la calidad del suelo (Hirzel y Salazar 2011)

5.7.3. Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV – Visible en biochar

El análisis de metales en biochar muestra concentraciones altas de hierro, aluminio y cobre, con respecto a las concentraciones de manganeso y zinc (Tabla 36); debido a que no existe normativa nacional o internacional de carácter obligatorio en cuanto a los niveles máximos de concentración de metales en biochar se utilizaron marcos referenciales de nivel internacional, tales como los propuestos por la IBI y la EBC (Gelardi, Li y Parikh 2019), cabe mencionar que dichos marcos referenciales incluyen metales como el arsénico, cadmio, cromo, cobalto, **cobre**, mercurio, molibdeno, níquel, plomo, selenio, **zinc** y otros contaminantes (dioxinas, furanos, etc.); por lo que, en la **Figura 39** se puede observar la comparación entre los metales analizados en la presente investigación y los establecidos por la IBI y EBC, pudiendo notar que el nivel de cobre del biochar producido a partir de restos de pino sobrepasa el umbral establecido por la EBC.

Tabla 36. Concentración de metales en el biochar de residuos de pino.

BIOCHAR PINO	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Al (mg/kg)
	356	1630	74	53	764

Fuente: Elaboración propia

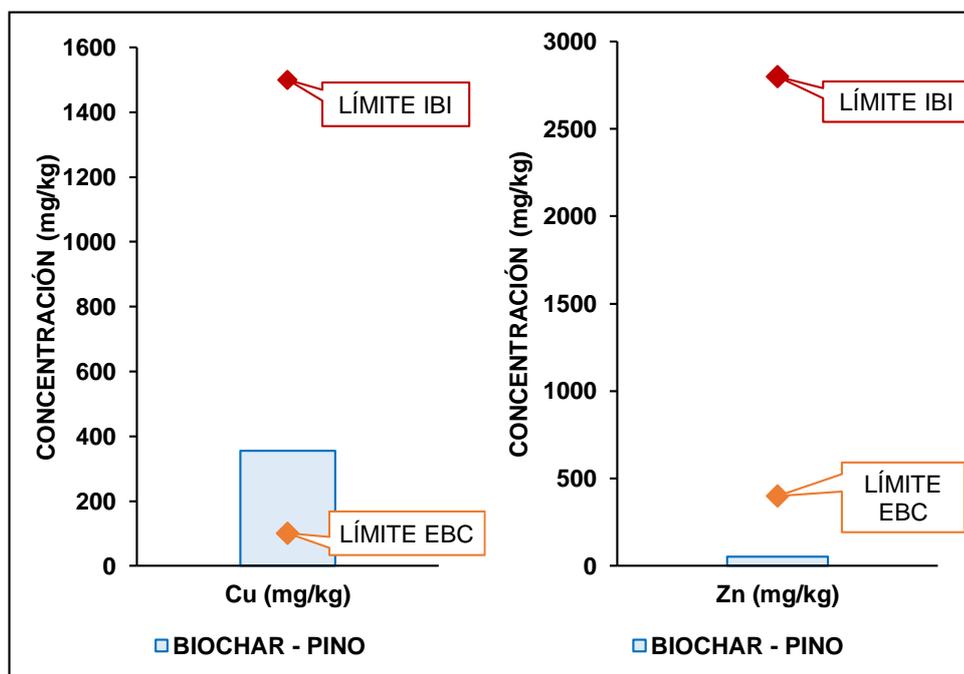


Figura 39. Niveles de cobre y zinc en el biochar con respecto a límites internacionales. (IBI: International Biochar Initiative; EBC: European Biochar Certificate)

Fuente: Elaboración propia

5.8. Colecta de especies vegetales altoandinas y suelo contaminado

Se colectó el número de especies vegetales necesario para cumplir con el diseño experimental establecido en la **Figura 15**. En cuanto al suelo contaminado por DAR se colectó del entorno del punto de muestreo SEV3-QUI-M3 (**Tabla 21**; **Figura 41**), debido a que fue uno de los puntos con mayor concentración de metales; de este punto se colectaron aproximadamente 120 kg. de suelo; y del total de suelo colectado se extrajo una muestra compuesta a fin de realizar un análisis de metales y caracterización, previo a ser utilizado en el experimento de fitorremediación.

Con respecto a la colecta de *Werneria nubigena* y *Paranephelius ovatus*, esta se realizó en zonas cercanas al campamento y relativamente alejadas del área impactada por DAR (**Figura 40**), a fin de colectar plantas con bajas concentraciones de metales y estas pudieran tener un buen desarrollo en el experimento de fitorremediación; para el caso específico de la colecta de *Calamagrostis* spp., esta se tuvo que realizar en una zona muy cercana al área impactada por el DAR, ya que, a lo largo del recorrido fue la única área donde se encontró esta planta. Cabe mencionar que las plantas colectadas se extrajeron con porciones de suelo y, además, del total de plantas se escogieron al azar un individuo de cada especie para analizar la concentración de metales y generar factores de concentración previo a iniciar el experimento de fitorremediación.

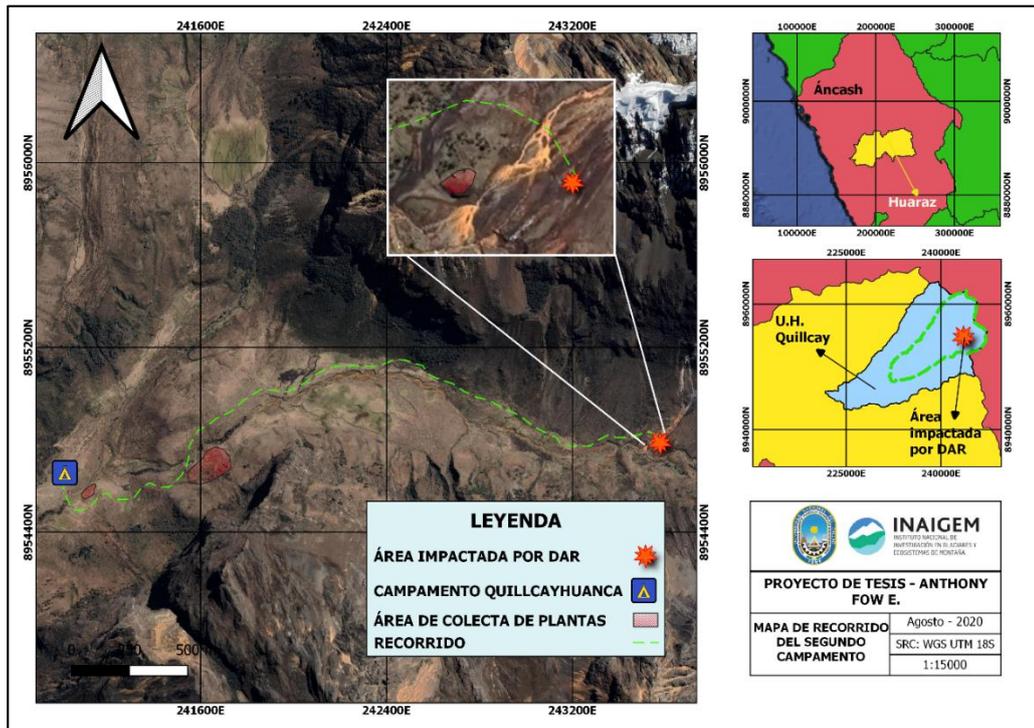


Figura 40. Recorrido desde el campamento establecido en la Quebrada Cayesh hacia el área impactada por DAR.

Fuente: Elaboración propia

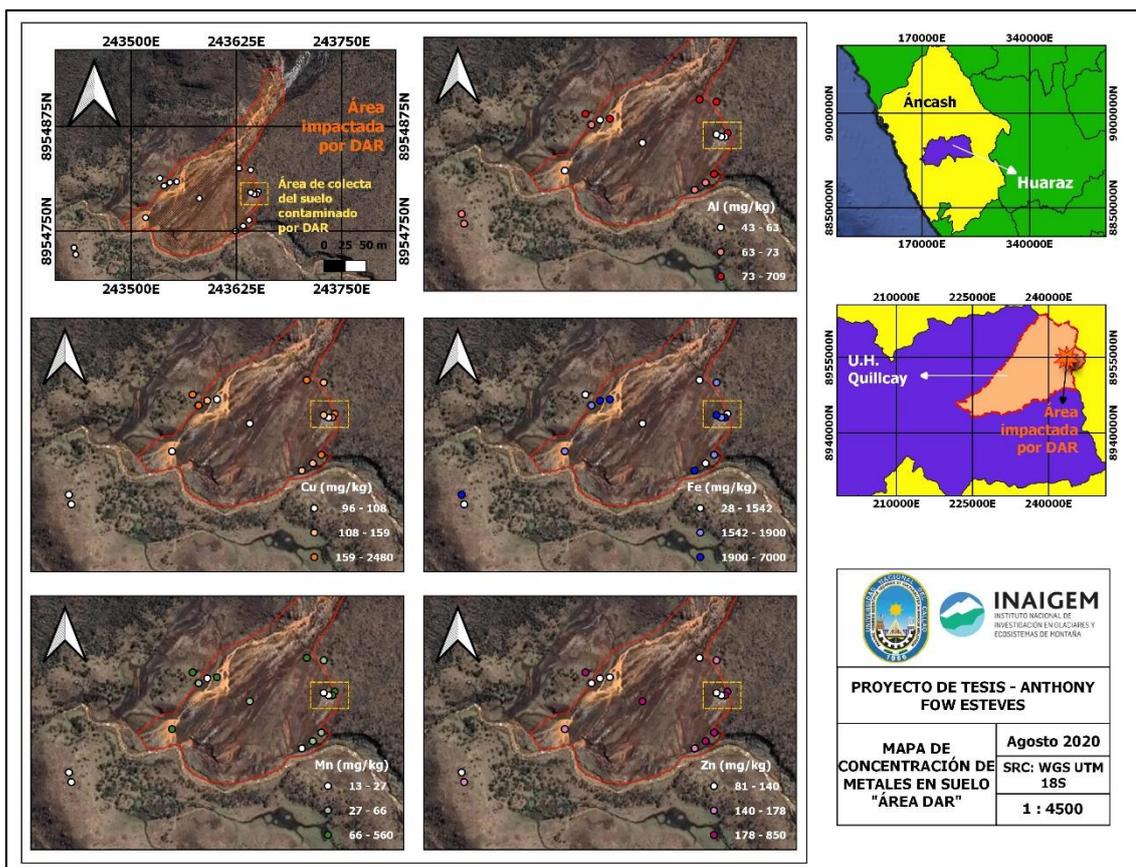


Figura 41. Mapa de concentración de metales en el suelo del área impactada por drenaje ácido de roca.

Fuente: Elaboración propia.

5.8.1. Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV-Visible en muestras de planta y suelo

Tabla 37. Concentración de metales, factores de bioacumulación y traslocación de una muestra de cada planta colectada.

ESPECIES VEGETALES	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Al (mg/kg)
<i>Calamagrostis spp.</i>					
PARTE AÉREA	2717.95	100.00	979.49	94.87	61.28
PARTE RADICULAR	3641.03	3179.49	1771.79	1435.90	946.15
SUELO	2250.00	274.00	373.00	95.00	32.90
FBA	1.21	0.36	2.63	1.00	1.86
FBR	1.62	11.60	4.75	15.11	28.76
FT	0.75	0.03	0.55	0.07	0.06
<i>Paranephelius ovatus</i>					
PARTE AÉREA	3205.13	2487.18	1666.67	1076.92	1053.85
PARTE RADICULAR	2358.97	25.64	928.21	174.36	82.31
SUELO	2830.00	63.00	413.00	44.00	31.20
FBA	1.13	39.48	4.04	24.48	33.78

<i>FBR</i>	0.83	0.41	2.25	3.96	2.64
<i>FT</i>	1.36	97.00	1.80	6.18	12.80
<i>Werneria nubigena</i>					
PARTE AÉREA	4205.13	12.82	887.18	230.77	79.74
PARTE RADICULAR	2820.51	48.72	905.13	320.51	71.28
SUELO	478.00	660.00	461.00	166.00	202.00
<i>FBA</i>	8.80	0.02	1.92	1.39	0.39
<i>FBR</i>	5.90	0.07	1.96	1.93	0.35
<i>FT</i>	1.49	0.26	0.98	0.72	1.12

FBA: Factor de bioacumulación aérea

FBR: Factor de bioacumulación radicular

FT: Factor de traslocación

Fuente: Elaboración propia.

La **Tabla 37** muestra la concentración de metales en una muestra de cada especie vegetal colectada durante la segunda visita al área de estudio. Estos resultados demuestran que las plantas, a pesar de estar en un lugar alejado del área impactada por el DAR (con excepción de *Calamagrostis* spp.) estuvieron desarrollándose en suelos con presencia de metales pesados, los cuales han sido acumulados eficazmente en la mayoría de las situaciones. Para la muestra de *Calamagrostis* spp. se observa que la planta no presentó factores de traslocación mayores a uno en ninguno de los metales analizados, indicando que la planta tiene el potencial de ser **estabilizadora**, lo que se puede corroborar al observar que esta planta presentó FBR mayores a uno en todos los metales; para la muestra de *Paranephelium ovatus* se observó factores de traslocación mayores a uno para todos los metales analizados, lo que indica que la planta tiene el potencial de ser considerada como **extractora**, lo que se corrobora tras observar que todos los FBA de la plantas fueron mayores a uno; finalmente, en la muestra de *Werneria nubigena* se observó factores de traslocación mayores a uno para cobre y aluminio, mientras que para los otros metales se observaron factores de traslocación menores a uno, tras analizar sus factores de bioacumulación se observa que la planta colectada es excluyente de hierro y aluminio, ya que dichos factores fueron menores a uno.

Este análisis permitió tener un panorama general del estado o la capacidad fitorremediadora de cada especie vegetal previo al inicio del experimento en invernadero y con dosificaciones de biochar.

5.8.2. Análisis de metales mediante Espectrofotometría UV – Visible en el suelo contaminado por DAR

Tabla 38. Análisis de metales en el suelo contaminado por DAR.

SUELO CONTAMINADO POR DAR	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Al (mg/kg)
	1580	840	648	195	200

Fuente: Elaboración propia

En la **Tabla 38** se presentan los valores obtenidos a partir del análisis de metales en la muestra de suelo contaminado por drenaje ácido de roca, en el Laboratorio de la Dirección de Investigación en Ecosistemas de Montaña del INAIGEM.

Se puede observar que con respecto a la normativa nacional ECA-Suelo no hay algún metal con el cual comparar, ya que la normativa nacional considera otros metales, sin embargo, en la **Tabla 8** se observa la norma canadiense para calidad de suelo, la cual presenta límites para cobre (*categoría de suelo agrícola: 63 mg/kg*) y zinc (*categoría de suelo agrícola: 200 mg/kg*). Observando entonces que los niveles de cobre en el suelo contaminado por DAR superan 25 veces lo establecido en la normativa canadiense, mientras que la concentración de zinc no supera el límite en mención, sin embargo, está muy cerca del valor establecido.

5.8.3. Análisis de caracterización en el suelo contaminado por DAR

Tabla 39. Análisis de caracterización completa del suelo contaminado por DAR.

pH (1:1)	C.E. (dS/m)	CaCO ₃ (%)	M.O. (%)	P (ppm)	K (ppm)	Análisis Mecánico			Clase textural
						Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	
3.84	0.57	0	15.72	5.6	70	77	16	7	Fr.A.
CIC	Cationes cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% de Sat. de Bases	
	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺³ + H ⁺				
(meq/100g)									
21.12	1.27	0.52	0.27	0.1	0.55	2.71	2.16	10	

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 40. Contenido de fósforo, potasio y materia orgánica para determinar fertilidad del suelo.

PARÁMETROS	BAJA FERTILIDAD	BUENA FERTILIDAD	ALTA FERTILIDAD
FÓSFORO (ppm)	<15	15-50	>50
POTASIO (ppm)	<94	94-156	>156
MATERIA ORGÁNICA (%)	<5	5-10	>10
SUMA DE BASES (Ca ⁺² ; Mg ⁺² ; K ⁺ y Na ⁺)	<5	5-12	>12

Fuente: (Molina 2002; Arévalo de Gauggel y Castellano 2009)

En la **Tabla 39** se presentan los valores obtenidos a partir del análisis de caracterización completa realizada a la muestra de suelo contaminado por drenaje ácido de roca, en el Laboratorio de Análisis de Suelos (LASPAF) de la Universidad Nacional Agraria La Molina, los cuales se encuentran en el Anexo 3.

En la **Tabla 8** se observa la norma canadiense para calidad de suelo en la cual se puede observar límites mostrados para pH (*categoría de suelo agrícola: 6-8*)

y conductividad eléctrica (*categoría de suelo agrícola: 2 dS/m*). Observando entonces que el nivel de pH en el suelo contaminado por drenaje ácido de roca, está fuera de lo establecido en la normativa canadiense, mientras que el nivel de conductividad eléctrica se encuentra por debajo del valor límite.

Por otro lado, el suelo es clasificado como un suelo franco arcilloso y ello refleja su alta capacidad de intercambio catiónico (21.12) (Molina 2002), además, los parámetros como fósforo, potasio y suma de bases se encuentran en la categoría “suelo de baja fertilidad”, mientras que para materia orgánica se encuentra en “alta fertilidad”, según lo establecido en la **Tabla 40**.

5.9. Dosificaciones de biochar a las especies vegetales altoandinas en el invernadero

Una vez colectado el suelo contaminado por DAR y las especies vegetales altoandinas a utilizar en el experimento de fitorremediación, éstas se trasladaron desde la Quebrada Cayesh en la microcuenca Quillcayhuanca (4100 m.s.n.m) hacia el invernadero del CICTEM en Cátac (3850 m.s.n.m), con el fin de que las plantas se adapten a las nuevas condiciones del invernadero, estas fueron colocadas en bandejas con agua, durante una semana, luego de esa semana se preparó el suelo colectado con las dosificaciones de biochar (1% y 3%) establecidas en el **ítem 4.5.9**. y se procedió a sembrarlas en cada maceta o unidad experimental (**Figura 42 y 43**).

La selección de las plantas a colocar en cada maceta fue completamente al azar.



Figura 42. Preparación de materiales y especies vegetales altoandinas para el experimento en invernadero.

(**a, b y c.** Mantenimiento de las especies vegetales altoandinas colectadas en la segunda visita al área de estudio en la Quebrada Cayesh; **d y e.** Pesado y combinación de suelo contaminado por DAR y biochar; **f y g.** Selección de raíces y mediciones previo al inicio del experimento en invernadero.)

Fuente: Elaboración propia.

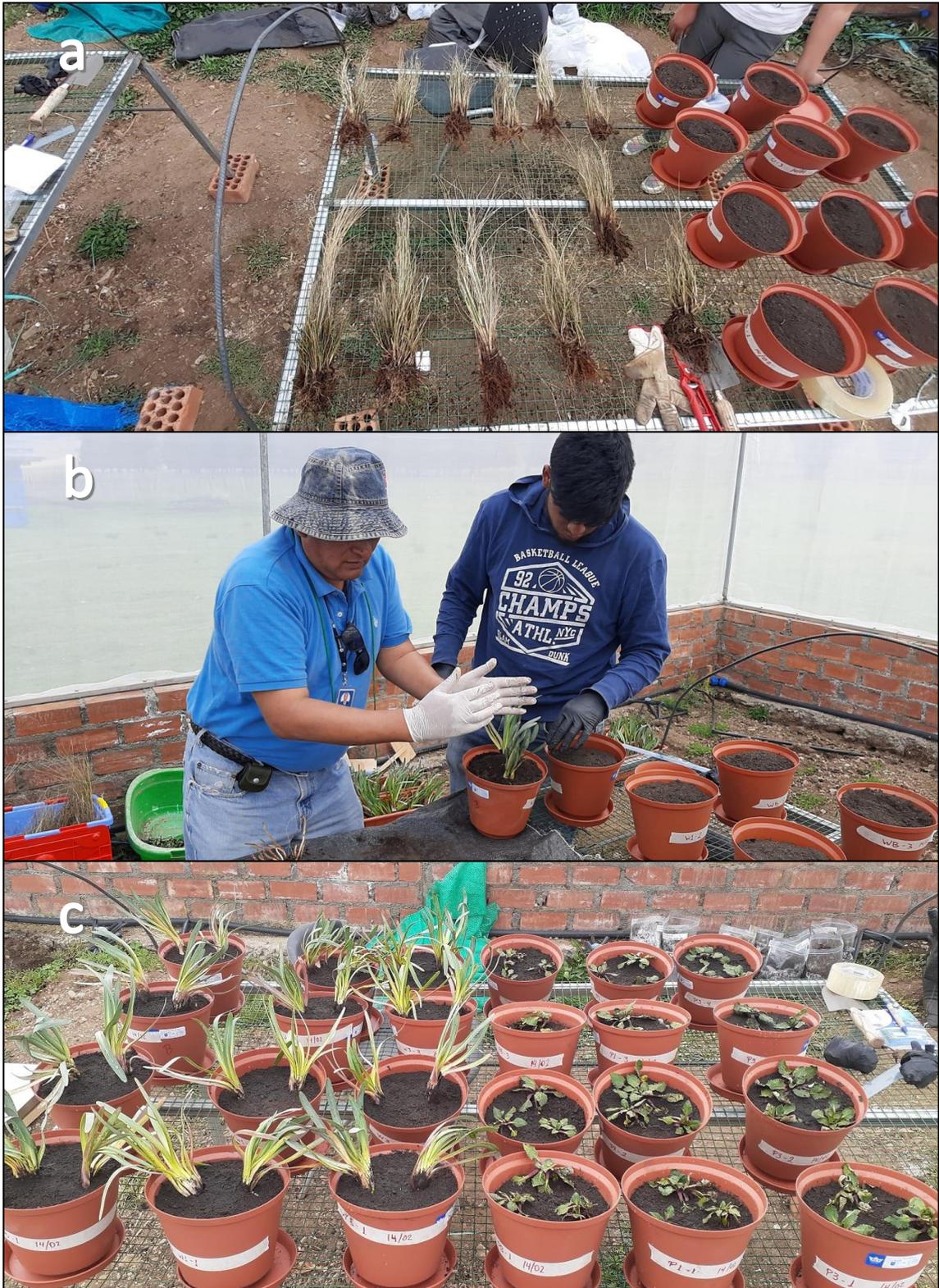


Figura 43. Siembra de especies vegetales altoandinas en suelo contaminado por DAR y dosificaciones de biochar.

(a. Separación al azar de esquejes de *Calamagrostis* spp. para sembrar en el suelo contaminado por DAR y dosificaciones de biochar. **b y c.** Siembra de *Paranephelius ovatus* y *Werneria nubigena* en el experimento en invernadero). Fuente: Elaboración propia.

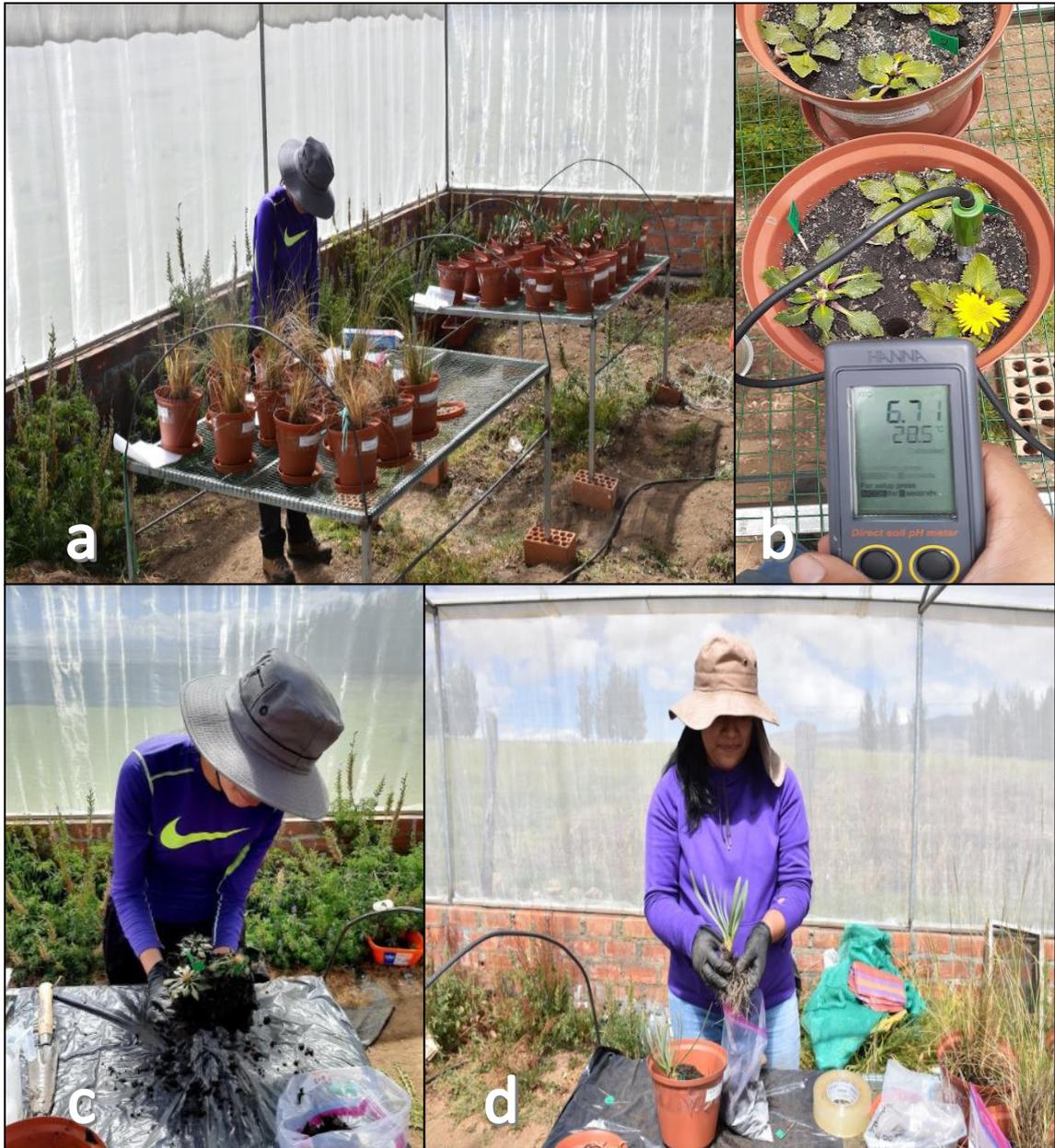


Figura 44. Fase de monitoreo y fin del experimento en invernadero.
 (a. Monitoreo del experimento en invernadero; b. Medición de pH en el sustrato de cada tratamiento; c y d. Fin del experimento en invernadero y separación de la planta y suelo.)
 Fuente: Elaboración propia.

5.10. Evaluación de la asistencia del biochar en la capacidad fitoremediadora de las especies vegetales altoandinas

El experimento de fitorremediación utilizando especies vegetales altoandinas y biochar tuvo una duración de 3 meses y 3 semanas, se realizó un monitoreo constante de la temperatura y la humedad relativa del invernadero, utilizando un sensor dentro del invernadero del CICTEM, el equipo fue configurado para realizar mediciones cada una hora y los resultados se muestran en la **Figura 45**

en general, dentro del invernadero se mantuvo una temperatura promedio de 14.19 ± 0.28 °C y una humedad relativa promedio de 62.68 ± 4.60 %.

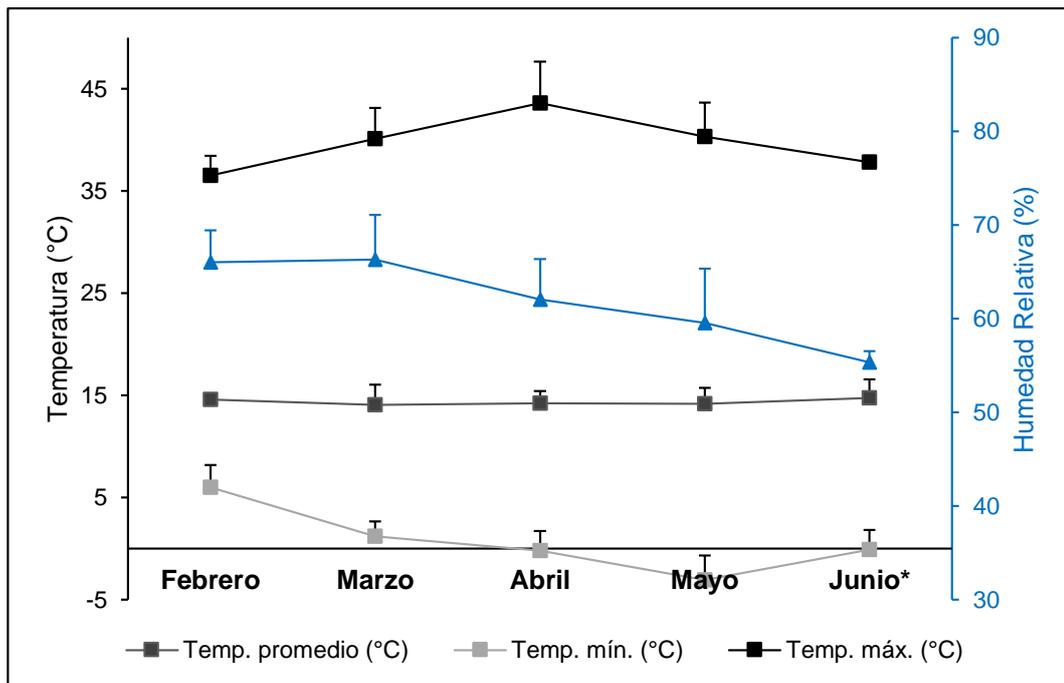


Figura 45. Comportamiento de la temperatura y humedad relativa durante el experimento de fitorremediación en el invernadero del CICTEM.

*Para junio sólo se consideró los dos primeros días del mes.

Fuente: Elaboración propia

Previo al inicio del experimento se tomaron medidas de las raíces de cada planta en cada unidad experimental (excepto *Calamagrostis* spp.) a fin de compararlas con mediciones al final del experimento; además, al iniciar el experimento se realizaron mediciones de longitud de las plantas y medición de pH en el sustrato de cada unidad experimental (**Figura 44**); estos monitoreos tuvieron un cronograma constante, sin embargo, debido a las restricciones de tránsito libre por la nueva enfermedad del COVID-19 estas tuvieron que interrumpirse durante cierto periodo. A pesar de ello, se pudieron obtener resultados que, si bien no forman parte del desarrollo del objetivo específico 3, son indicadores que nos ayudan a tener una visualización más clara de los resultados obtenidos.

5.10.1. Medición de las raíces de las plantas

Cabe mencionar que no se tomaron los valores o medidas iniciales del número de raíces ni la longitud de las mismas en los tratamientos con *Calamagrostis* spp., por lo que, sus mediciones finales no fueron consideradas en esta parte del análisis estadístico de los datos, ya que no permitiría obtener resultados consistentes.

5.10.1.1. Variación del número de raíces

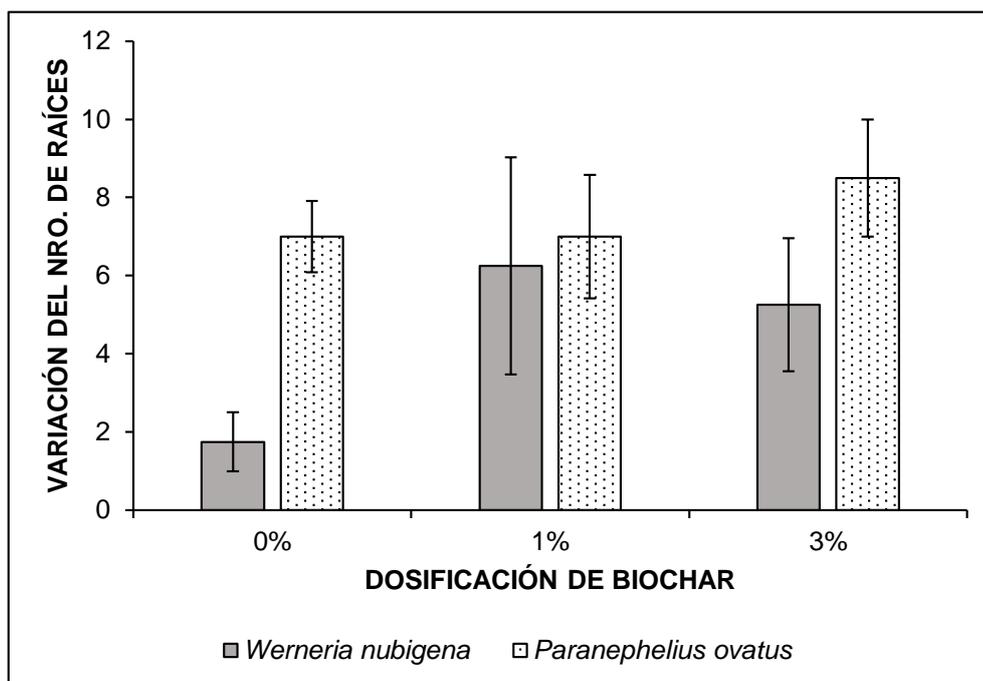


Figura 46. Variación del número de raíces en *Werneria nubigena* y *Paranephelius ovatus* durante el experimento en invernadero.
Fuente: Elaboración propia

En la **Figura 46** se puede observar los resultados de la variación del número de raíces en cada especie vegetal y cada dosificación de biochar, estos datos fueron obtenidos a partir de la diferencia del número de raíces contabilizadas al inicio del experimento (14/02/2020) y al final del mismo (02/06/2020). Con el fin de determinar diferencias significativas entre el número de raíces según las especies vegetales y las dosificaciones de biochar se utilizó un análisis de varianza de dos factores; el análisis de supuestos (prueba de normalidad y homogeneidad de las varianzas) se encuentran detallados en el **Anexo 3**.

Una vez validadas las pruebas de cumplimiento de los supuestos se procede a analizar los resultados del análisis de la varianza, donde primero se analiza la significancia de la interacción.

- Prueba de hipótesis para los efectos simples (interacción):

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3)$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0$.

Tabla 41. Cuadro de análisis de varianza para el efecto simple y efectos principales en la variación del número de raíces.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	107.71	5	21.54	1.93	0.1396
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	30.33	2	15.17	1.36	0.2827

ESPECIE VEGETAL	57.04	1	57.04	5.1	0.0365
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIE VEGETAL	20.33	2	10.17	0.91	0.4205
Error	201.25	18	11.18		
Total	308.96	23			

Fuente: Elaboración propia.

En la **Tabla 41** se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.4205), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual a cero, es decir, que la variación del número de raíces en el experimento no depende de la combinación dosificación de biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0$.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especie vegetal)

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\beta)_i \neq 0$.

En la **Tabla 41** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.2827), sin embargo, dicho obtenido a partir del análisis de varianza no tiene validez ya que el factor dosificación de biochar no cumplió con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

En la **Tabla 41** se puede observar que el factor especie vegetal presenta un p-valor menor a 0.05 (0.0365), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el efecto de la especie vegetal en la variación del número de raíces es distinto de cero, es decir, que la variación del número de raíces es significativamente distinta en al menos uno de los niveles del factor. Por lo que se procede analizar el test de LSD de Fisher para el factor especie vegetal.

- Test LSD de Fisher

Tabla 42. Test LSD de Fisher para las especies vegetales con respecto a la variación del número de raíces.

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=2.86791					
Error: 11.1806 gl: 18					
ESPECIE VEGETAL	Medias	n	E.E.		
<i>Werneria nubigena</i>	4.42	12	0.97	A	
<i>Paranephelius ovatus</i>	7.50	12	0.97		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

En la **Tabla 42** se puede observar que la variación del número de raíces, desde el inicio al final de experimento, en la especie vegetal *Paranephelius ovatus* es significativamente mayor que lo obtenido para *Werneria nubigena*, con medias de 7.50 y 4.42, respectivamente.

5.10.1.2. Longitud de raíces

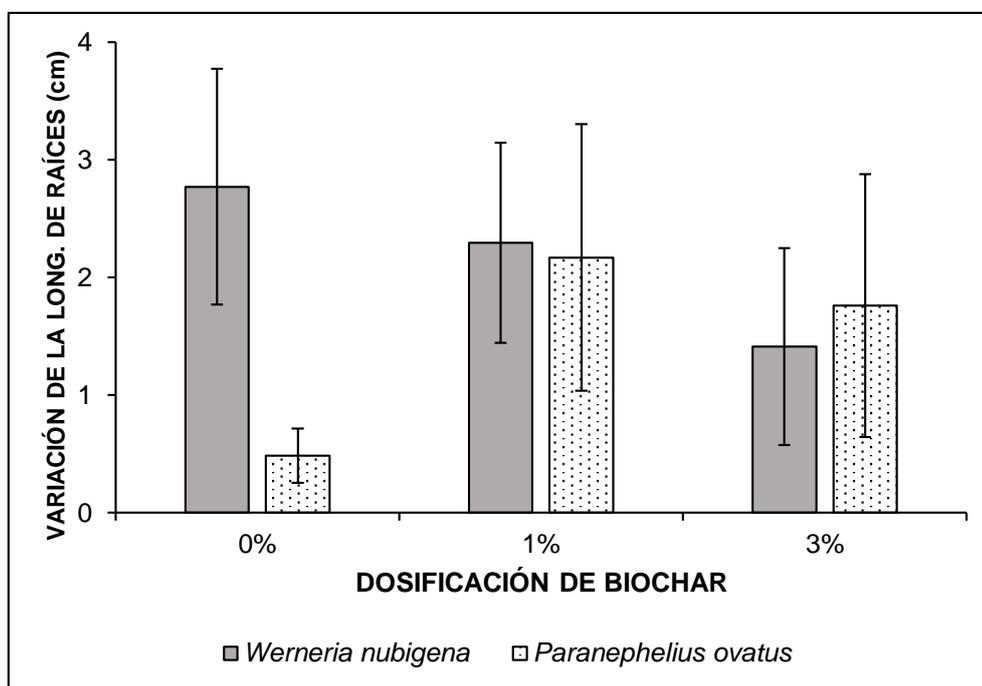


Figura 47. Variación de la longitud de raíces en *Werneria nubigena* y *Paranephelius ovatus* durante el experimento en invernadero.

Fuente: Elaboración propia.

En la **Figura 47** se puede observar los resultados de la variación de la longitud de las raíces en cada especie vegetal según cada dosificación de biochar. Estos datos fueron obtenidos a partir de la diferencia de la longitud de las raíces medidas al inicio del experimento (14/02/2020) y al final del mismo (02/06/2020). Con el fin de determinar diferencias significativas entre la variación de la longitud de las raíces según las especies vegetales y las dosificaciones de biochar se utilizó un análisis de varianza de dos factores; el análisis de supuestos (prueba

de normalidad y homogeneidad de las varianzas) se encuentran detallados en el **Anexo 3**.

Una vez validadas las pruebas de cumplimiento de los supuestos se procede a analizar los resultados del análisis de la varianza, donde primero se analiza la significancia de la interacción.

- Prueba de hipótesis para los efectos simples (interacción):

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3)$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0$.

Tabla 43. Cuadro de análisis de varianza para el efecto simple y efectos principales en la variación de la longitud de raíces.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12.88	5	2.58	0.77	0.5848
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	2.05	2	1.02	0.31	0.7407
ESPECIE VEGETAL	3.01	1	3.01	0.9	0.3560
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIE VEGETAL	7.83	2	3.91	1.17	0.3339
Error	60.38	18	3.35		
Total	73.27	23			

Fuente: Elaboración propia.

En la **Tabla 43** se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.3339), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual cero, es decir, que la variación de la longitud de las raíces en el experimento no depende de la combinación dosificación de biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0$.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especies vegetales)

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\beta)_j \neq 0$.

En la **Tabla 43** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.7407), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se

concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la variación de la longitud de las raíces es igual a cero, es decir, que la variación de la longitud de las raíces no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor. Asimismo se observa que el factor “especie vegetal” presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.3560), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la especie vegetal en la variación de la longitud de las raíces es igual a cero, es decir, que la variación de la longitud de las raíces no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

5.10.2. Medición de longitud de las plantas

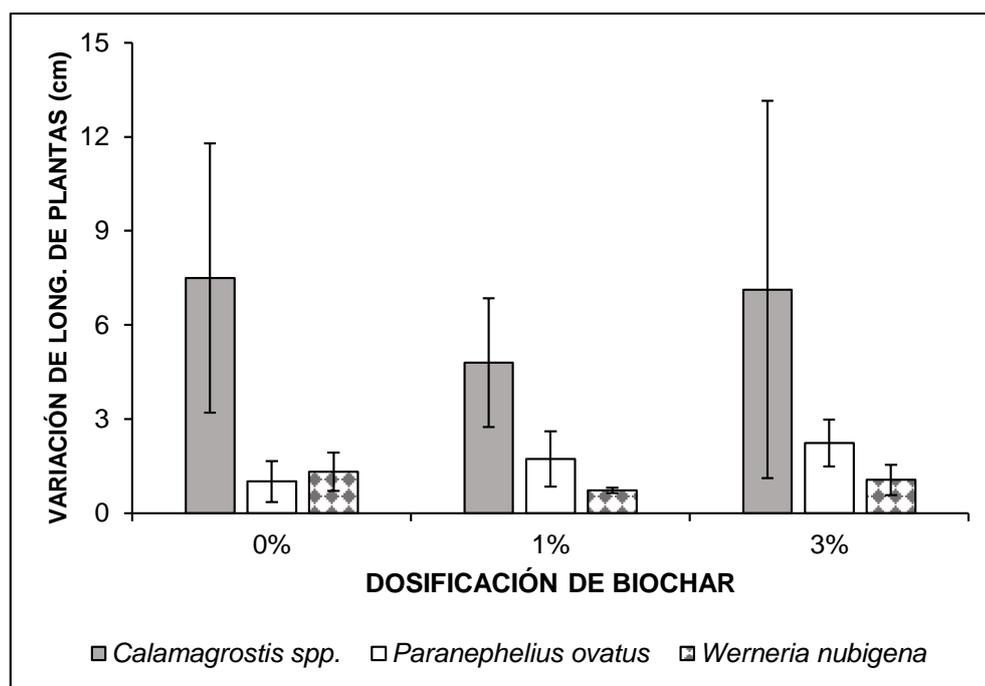


Figura 48. Variación de la longitud de las plantas durante el experimento en invernadero.
Fuente: Elaboración propia.

En la **Figura 48** se puede observar los resultados de la variación de la longitud de las plantas en cada especie vegetal según cada dosificación de biochar. Estos datos fueron obtenidos a partir de la diferencia de la longitud de las plantas medidas al inicio del experimento (14/02/2020) y al final del mismo (02/06/2020). Con el fin de determinar diferencias significativas entre la variación de la longitud de las plantas según las especies vegetales y las dosificaciones de biochar se utilizó un análisis de varianza de dos factores. Cabe resaltar que los resultados obtenidos fueron a partir de la transformación de los datos, ya que, en su forma normal, los residuos obtenidos no cumplían con el supuesto de normalidad; la transformación y el análisis de supuestos (prueba de normalidad y homogeneidad de las varianzas) se encuentran detallados en el **Anexo 3**.

- Prueba de hipótesis para los efectos simples (interacción):

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Tabla 44. Cuadro de análisis de varianza para el efecto simple y efectos principales en la variación de la longitud de las plantas.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8.02	8	1	0.73	0.6682
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	0.01	2	4.30E-03	3.10E-03	0.9969
ESPECIE VEGETAL	6.86	2	3.43	2.48	0.1026
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIE VEGETAL	1.15	4	0.29	0.21	0.9316
Error	37.34	27	1.38		
Total	45.36	35			

Fuente: Elaboración propia.

En la **Tabla 44** se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.9316), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual cero, es decir, que la variación de la longitud de las plantas en el experimento no depende de la combinación dosificación de biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

$H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$

$H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especies vegetales)

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3.$

$H_1: \text{al menos uno } (\beta)_i \neq 0.$

En la **Tabla 44** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.9969), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la variación de la longitud de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la longitud de las plantas no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor. Asimismo se observa que el factor especies vegetal presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.1026), sin embargo, dicho obtenido a partir del análisis de varianza no tiene validez ya que el factor dosificación de biochar no cumplió con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

5.10.3. Medición de pH en el sustrato en cada tratamiento del experimento

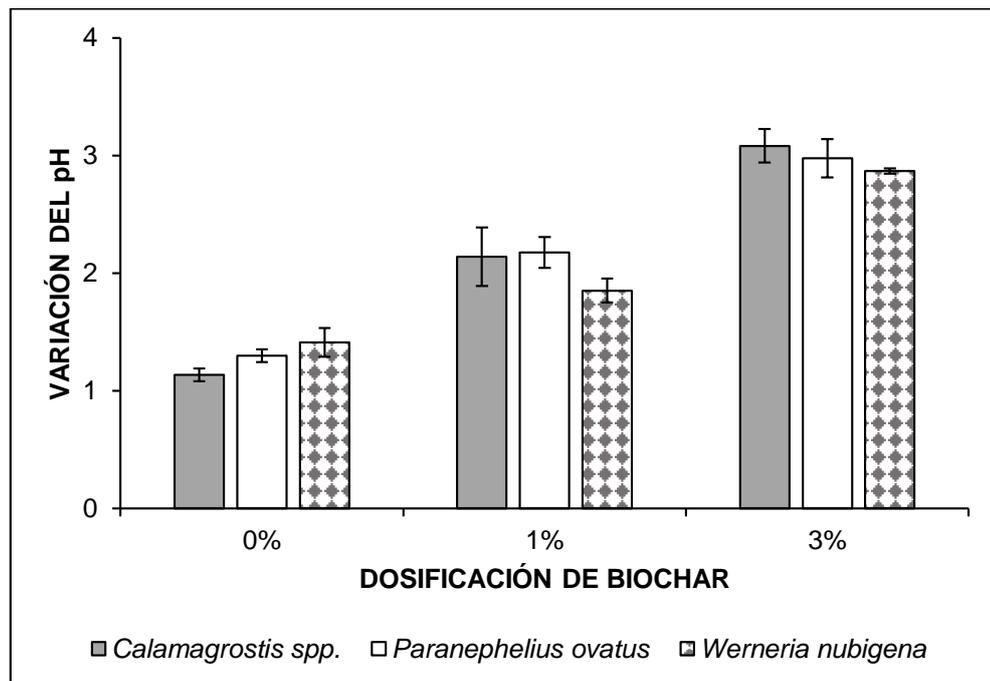


Figura 49. Variación de la lectura de pH en los tratamientos durante el experimento en invernadero.

Fuente: Elaboración propia.

En la **Figura 49** se puede observar los resultados de la variación del pH en el sustrato en cada especie vegetal y cada dosificación de biochar del experimento, estos datos fueron obtenidos a partir de la diferencia del valor de pH medido en el suelo contaminado por drenaje ácido de roca y el valor de pH medido al final del experimento (02/06/2020). Con el fin de determinar diferencias significativas entre la variación del pH en el sustrato según las especies vegetales y las dosificaciones de biochar se utilizó un análisis de varianza de dos factores; el análisis de supuestos (prueba de normalidad y homogeneidad de las varianzas) se encuentran detallados en el **Anexo 3**.

- Prueba de hipótesis para los efectos simples (interacción):

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

- Análisis de la varianza

Tabla 45. Cuadro de análisis de varianza para el efecto simple y efectos principales en la variación del pH en los tratamientos.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	17.79	8	2.22	31.48	<0.0001
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	17.29	2	8.64	122.4	<0.0001
ESPECIE VEGETAL	0.07	2	0.04	0.52	0.6031
DOSIF. BIOCHAR*ESPECIE VEGETAL	0.43	4	0.11	1.51	0.2271
Error	1.91	27	0.07		
Total	19.7	35			

Fuente: Elaboración propia.

En la **Tabla 45** se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.2271), sin embargo, dicho resultado obtenido a partir del análisis de varianza no tiene validez ya que el factor dosificación de biochar no cumplió con el supuesto de homogeneidad de varianzas. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especies vegetales)

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\beta)_i \neq 0.$

En la **Tabla 45** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor menor a 0.05 (<0.0001), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la variación del pH en el sustrato del experimento es distinto de cero, es decir, que la variación del pH en el sustrato del experimento es significativamente distinta en al menos dos de los niveles del factor. Por lo que se procede analizar el test de LSD de Fisher para el factor dosificación de biochar.

En la **Tabla 45** se puede observar que el factor especie vegetal presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.6031), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la especie vegetal en la variación del pH en el sustrato del experimento es igual a cero, es decir, que la variación del pH en el sustrato del experimento no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor especie vegetal.

- Test LSD de Fisher

Tabla 46. Test LSD de Fisher para las dosificaciones de biochar con respecto a la variación del pH en el sustrato de los tratamientos.

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.22261					
Error: 0.0706 gl: 27					
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	Medias	n	E.E.	pH inicial	pH final
0%	1.28 ^a	12	0.08	3.84	5.12
1%	2.06 ^b	12	0.08	3.84	5.90
3%	2.98 ^c	12	0.08	3.84	6.82

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

En la **Tabla 46** se puede observar que la variación de pH entre el suelo contaminado por DAR y sustrato al final de experimento en todas las dosificaciones de biochar, son significativamente distintas entre sí, además, en la dosificación del 3% de biochar se obtuvo una mayor variación de pH con una media de 2.98.

Tras el procesamiento de los datos medidos al inicio y al final del experimento se puede observar que la longitud de raíces, el número de raíces y la longitud de las plantas fueron respuestas en las que la dosificación del biochar no tuvo relevancia y/o influencia significativa, mientras que, a nivel del parámetro físico-químico (pH) medido al inicio y al final del experimento si hubo influencia significativa, por lo que se debería considerar que la fisiología de cada especie vegetal y/o las características del suelo están generando dichos comportamientos específicos de cada planta estudiada.

Una vez finalizado el experimento de fitorremediación se procedieron a retirar con cuidado las plantas y el sustrato de cada unidad experimental; luego se escogieron 3 repeticiones, al azar, de cada tratamiento aplicado. Una vez escogidas las muestras, estas se embolsaron y rotularon adecuadamente, para luego ser digestadas y realizar el análisis de metales mediante espectrofotometría UV-Visible en cada una de ellas.

5.10.4. Análisis de metales mediante UV-Visible tras el experimento en invernadero

Se realizó el análisis de metales en la parte aérea (**Tabla 58, Anexo 2**), parte radicular (**Tabla 59, Anexo 2**) y suelo (**Tabla 57, Anexo 2**) de cada unidad experimental escogida al azar. Previo a realizar el cálculo de los factores de bioacumulación se realizó la evaluación de los datos, es decir, identificación de valores extremos o anómalos y la concordancia de los mismos con el fin de mostrar resultados confiables. Tras evaluar los datos pudimos observar que lo obtenido para las muestras de suelo fueron en su mayoría valores anómalos que generaron resultados poco consistentes, por lo que, se decidió evaluar la

influencia del biochar en el experimento y la capacidad acumuladora de cada planta en función a sus acumulaciones aéreas y radiculares, obteniendo los resultados que a continuación de detallan.

5.10.4.1. Análisis de metales en la parte aérea de las especies vegetales

Con respecto al análisis de metales en la parte aérea de las especies vegetales se puede observar en la **Figura 50** la presencia de valores extremos o anómalos, los cuales se encuentran fuera de la distribución establecida por el diagrama de cajas y bigotes. Con la finalidad de tener resultados confiables, se procedieron a retirar dichos valores extremos y generar promedios en función a cada planta, dosificación de biochar aplicado y metal analizado (**Figura 51, 52 y 54**), a estos gráficos se le añadió el resultado del análisis de metales realizado a cada planta previo al inicio del experimento en invernadero (**Tabla 35**), con el propósito de tener un panorama general con respecto a si cada planta sometida al suelo contaminado por DAR y dosificaciones de biochar, había aumentado o disminuido su concentración de metales tras el experimento.

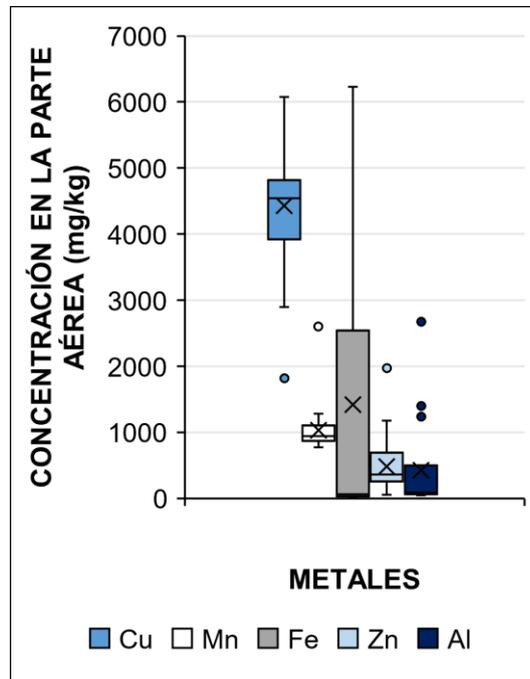


Figura 50. Distribución de las concentraciones de metales en la parte aérea de las especies vegetales del experimento en invernadero.

Fuente: Elaboración propia.

- Análisis de metales en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. y dosificaciones de biochar

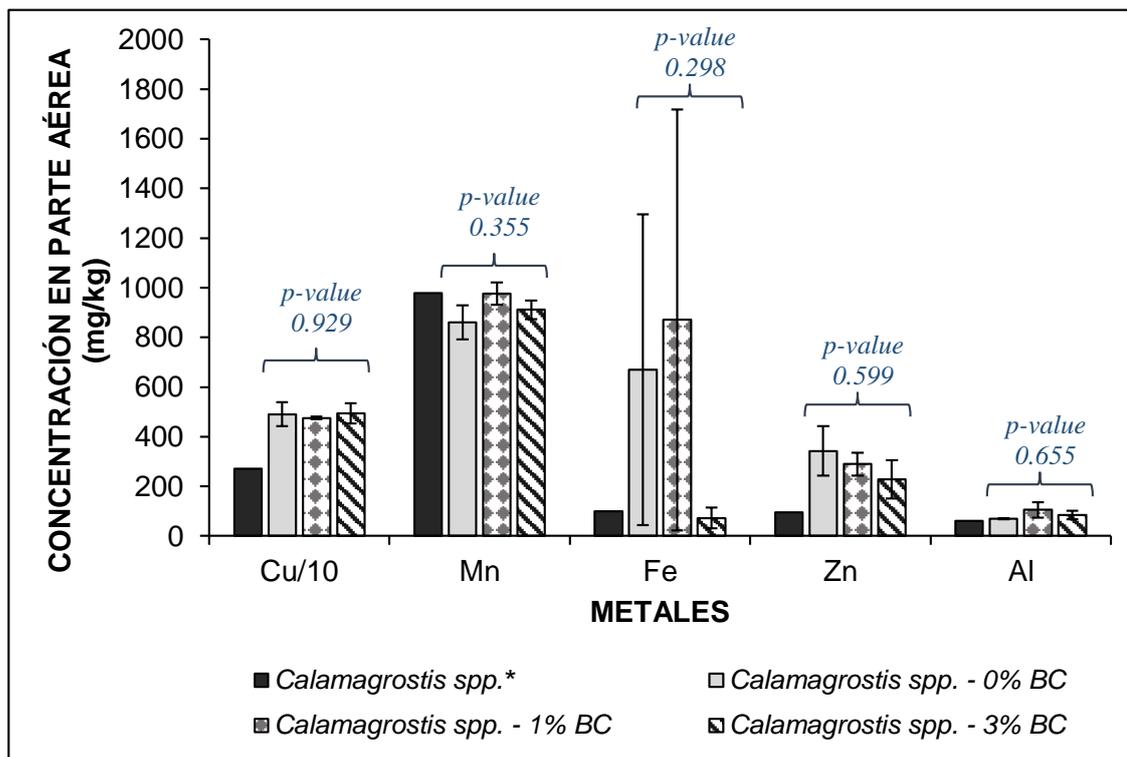


Figura 51. Concentración de metales en la parte aérea de las plantas de *Calamagrostis* spp. antes y después del experimento en invernadero.

*Muestra analizada antes del experimento en invernadero.

(p-value<0.05); indica diferencia significativa entre los tratamientos con biochar.

Fuente: Elaboración propia.

Con respecto al análisis de metales en la parte aérea de las plantas de *Calamagrostis* spp. con diferentes dosificaciones de biochar, se ha realizado la **Figura 51**, donde la columna de nombre "*Calamagrostis* spp." hace referencia a la planta analizada previo al experimento del invernadero (**Tabla 37**) y las demás columnas refieren a los promedios del análisis de metales en cada tratamiento (especie vegetal con dosificación de biochar; **Anexo 2**). Se puede observar en todos los metales, con excepción del manganeso, que las concentraciones acumuladas en la parte aérea de las plantas de *Calamagrostis* spp. después del experimento en invernadero fueron mayores, en al menos uno de los tratamientos, con respecto a la concentración en la planta analizada previo al experimento en invernadero.

Con respecto a los tratamientos de dosificación de biochar (0%, 1% y 3%), se visualiza que algunos metales han sido acumulados en mayores cantidades tras la aplicación de biochar en *Calamagrostis* spp., tal es el caso del Cu (**0% biochar: 4906 mg/kg; 3% biochar: 4940.20 mg/kg**), Fe (**0% biochar: 670.09 mg/kg; 1% biochar: 870.51 mg/kg**), Mn (**0% biochar: 860.68 mg/kg; 1% biochar: 976.92 mg/kg; 3% biochar: 911.11 mg/kg**) o Al (**0% biochar: 69.87**

mg/kg; **1% biochar:** 105.21 mg/kg; **3% biochar:** 83.72 mg/kg), mientras que un comportamiento contrario, es decir, hay mayor concentración de metal en la planta sin biochar que en los otros dos tratamientos es el caso del Zn (**0% biochar:** 342.74 mg/kg; **1% biochar:** 289.74 mg/kg; **3% biochar:** 227.35 mg/kg). Por lo que, con el fin de determinar diferencias significativas entre la concentración de metales en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. con respecto a la dosificación de biochar, se aplicó un diseño completamente aleatorizado para cada metal, donde la variable respuesta es la concentración de cada metal en la parte aérea de la planta y el factor o variable independiente es la dosificación de biochar; la validación de supuestos de cada análisis de varianza y el mismo análisis de varianza se encuentran en el **Anexo 3**.

En la **Figura 51** se puede observar que para todos los metales se obtuvo un p-valor mayor a 0.05, por lo que en todos los análisis de varianza se rechazó la hipótesis alterna, concluyendo que el efecto de la dosificación de biochar en las concentraciones de Cu, Fe, Mn, Zn y Al de la parte aérea de *Calamagrostis* spp. es igual a cero, es decir, que dichas concentraciones de metales no son significativamente distintas en ninguno de los niveles del factor.

- Análisis de metales en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* y dosificaciones de biochar

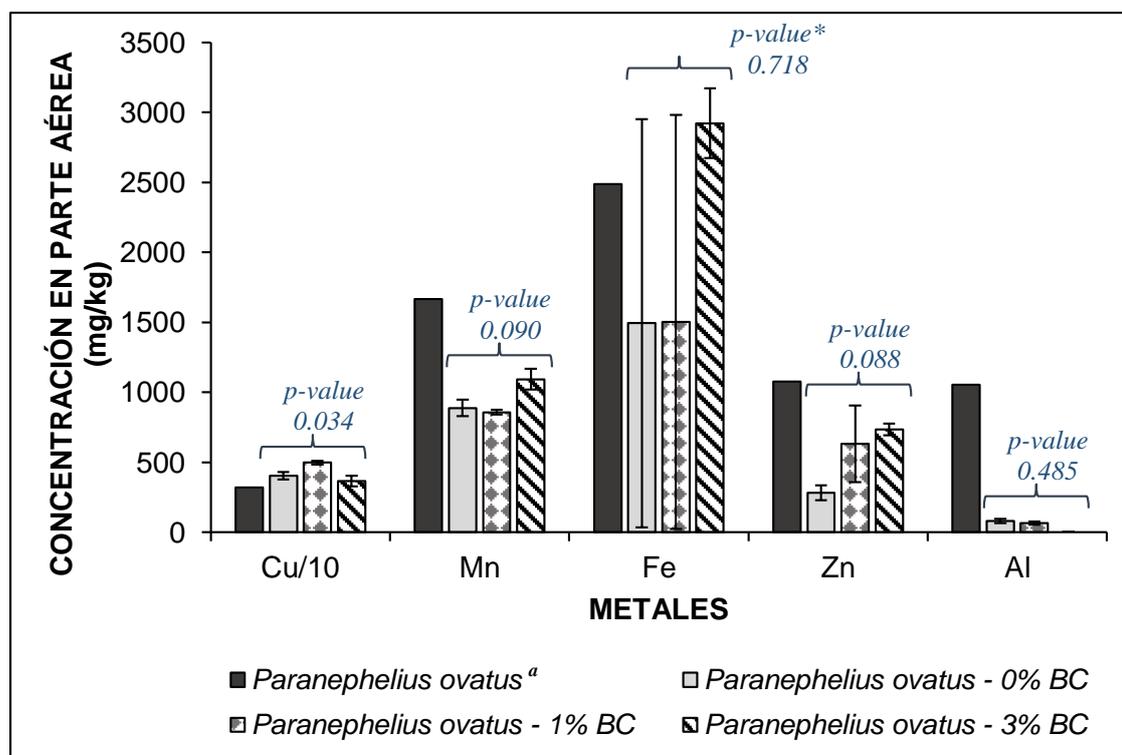


Figura 52. Concentración de metales en la parte aérea de las plantas de *Paranephelius ovatus* antes y después del experimento en invernadero.

* Se utilizó prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

^aMuestra analizada antes del experimento en invernadero.

(p-value<0.05); indica diferencia significativa entre los tratamientos con biochar.

Fuente: Elaboración propia.

Con respecto al análisis de metales en la parte aérea de las plantas de *Paranephelius ovatus* con diferentes dosificaciones de biochar, se ha realizado la **Figura 52**, donde la columna de nombre "*Paranephelius ovatus*" hace referencia a la planta analizada previo al experimento del invernadero (**Tabla 37**) y las demás columnas refieren a los promedios del análisis de metales en cada tratamiento (especie vegetal con dosificación de biochar; **Anexo 2**). Se puede observar que para el Mn, Zn y Al las concentraciones acumuladas de dichos metales en la parte aérea de las plantas de *Paranephelius ovatus* después del experimento en invernadero fueron menores, con respecto a la concentración de dichos metales en la planta analizada previo al experimento en invernadero, mientras que, para Cu y Fe las concentraciones acumuladas en la parte aérea de las plantas de *Paranephelius ovatus* después del experimento en invernadero fueron mayores, en al menos uno de los tratamientos, con respecto a la concentración en la planta analizada previo al experimento en invernadero.

Con respecto a los tratamientos de dosificación de biochar (0%, 1% y 3%), se visualiza que algunos metales han sido acumulados en mayores cantidades tras la aplicación de biochar en *Paranephelius ovatus*, tal es el caso del Cu (**0% biochar**: 4042.74 mg/kg; **1% biochar**: 4982.91 mg/kg), Mn (**0% biochar**: 888.89 mg/kg; **3% biochar**: 1093.16 mg/kg), Fe (**0% biochar**: 1494.87 mg/kg; **1% biochar**: 1504.27 mg/kg; **3% biochar**: 2923.08 mg/kg) y Zn (**0% biochar**: 282.05 mg/kg; **1% biochar**: 632.48 mg/kg; **3% biochar**: 735.04 mg/kg), mientras que, un comportamiento contrario, es decir, hay mayor concentración de metal en la parte aérea de la planta sin biochar que en los otros dos tratamientos, es para el Al (**0% biochar**: 81.45 mg/kg; **1% biochar**: 65.38 mg/kg). Por lo que, con el fin de determinar diferencias significativas entre la concentración de metales en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* con respecto a la dosificación de biochar, se aplicó un diseño completamente aleatorizado para cada metal, donde la variable respuesta es la concentración de cada metal en la parte aérea de la planta y el factor o variable independiente es la dosificación de biochar; la validación de supuestos de cada análisis de varianza y el mismo análisis de varianza se encuentran en el **Anexo 3**.

En la **Figura 52** se puede observar que para las concentraciones de Cu se obtuvo un p-valor menor a 0.05 (0.034), por lo que se rechazó la hipótesis nula, concluyendo que el efecto de la dosificación de biochar en la concentración de Cu en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* es distinto de cero, es decir, que la concentración de cobre es significativamente distinta en al menos uno de los niveles del factor. Por lo que se procedió a realizar una prueba de comparaciones múltiples mediante el Test LSD de Fisher (**Anexo 3**), y a partir de ella se generó la **Figura 53**, donde se puede observar que la acumulación de cobre en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* tras dosificar el 1% de biochar es significativamente mayor con respecto a la acumulación obtenida en la dosificación de biochar del 3%, así también, se puede observar que la planta sin

dosificación de biochar no es significativamente distinta a ninguna de las medias obtenidas.

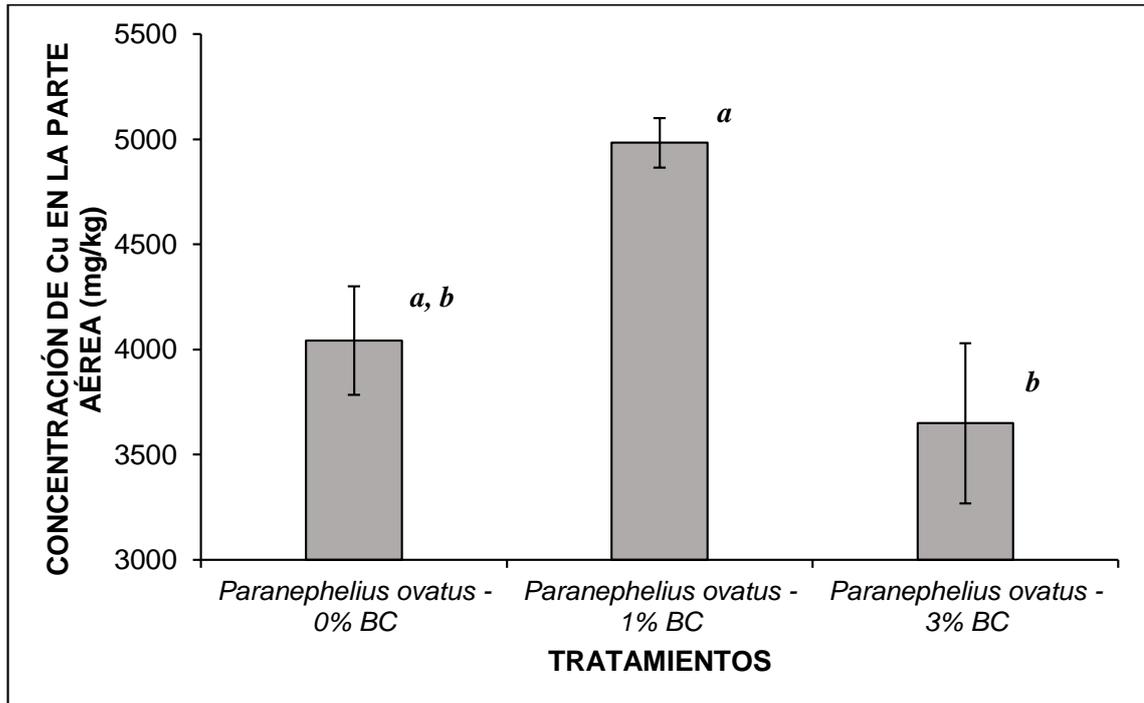


Figura 53. Concentración de cobre en la parte aérea de las plantas de *Paranephelius ovatus* tras el experimento en invernadero.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

Por otro lado, para los metales como el Mn, Zn y Al, se obtuvo un p-valor mayor a 0.05, por lo que en todos los análisis de varianza se rechazó la hipótesis alterna, concluyendo que el efecto de la dosificación de biochar en las concentraciones de Mn, Zn y Al de la parte aérea de *Paranephelius ovatus* es igual a cero, es decir, que dichas concentraciones de metales no son significativamente distintas en ninguno de los niveles del factor; específicamente para el caso del hierro, se realizó la prueba de Kruskal Wallis, en la cual se rechazó la hipótesis alterna, concluyendo también que el efecto de la dosificación de biochar en la concentración de hierro de la parte aérea de *Paranephelius ovatus* no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

- Análisis de metales en la parte aérea de *Werneria nubigena* y dosificaciones de biochar

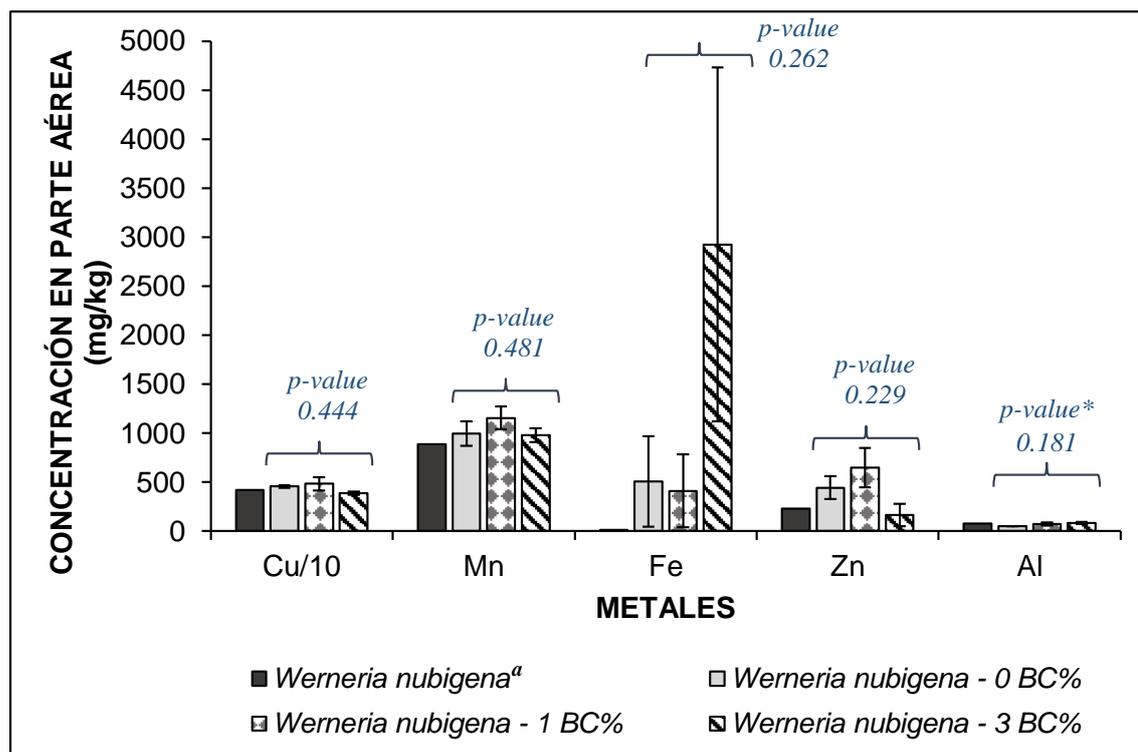


Figura 54. Concentración de metales en la parte aérea de las plantas de *Werneria nubigena* antes y después del experimento en invernadero.

* Se utilizó prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

^aMuestra analizada antes del experimento en invernadero.

(p-value<0.05); indica diferencia significativa entre los tratamientos con biochar

Fuente: Elaboración propia.

Con respecto al análisis de metales en la parte aérea de las plantas de *Werneria nubigena* con diferentes dosificaciones de biochar, se ha realizado la **Figura 54**, donde la columna de nombre "*Werneria nubigena*" hace referencia a la planta analizada previo al experimento del invernadero (**Tabla 37**) y las demás columnas refieren a los promedios del análisis de metales en cada tratamiento (especie vegetal con dosificación de biochar; **Anexo 2**). Se puede observar que, para todos los metales, las concentraciones acumuladas en la parte aérea de las plantas de *Werneria nubigena* después del experimento en invernadero fueron mayores, en al menos uno de los tratamientos, con respecto a la concentración en la planta analizada previo al experimento en invernadero.

Con respecto a los tratamientos de dosificación de biochar (0%, 1% y 3%), se visualiza que todos metales han sido acumulados en mayores cantidades tras la aplicación de biochar en *Werneria nubigena*, tal es el caso del Cu (**0% biochar: 4564.10 mg/kg; 1% biochar: 4846.20 mg/kg**), Mn (**0% biochar: 995.73 mg/kg; 3% biochar: 1155.56 mg/kg**), Fe (**0% biochar: 507.69 mg/kg; 3% biochar: 2926.50 mg/kg**), Zn (**0% biochar: 444.44 mg/kg; 1% biochar: 649.57 mg/kg**) y

Al (**0% biochar:** 51.67 mg/kg; **1% biochar:** 70.90 mg/kg; **3% biochar:** 84.02 mg/kg). Por lo que, con el fin de determinar diferencias significativas entre la concentración de metales en la parte aérea de *Werneria nubigena* con respecto a la dosificación de biochar, se aplicó un diseño completamente aleatorizado para cada metal, donde la variable respuesta es la concentración de cada metal en la parte aérea de la planta y el factor o variable independiente es la dosificación de biochar; la validación de supuestos de cada análisis de varianza y el mismo análisis de varianza se encuentran en el **Anexo 3**.

En la **Figura 54** se puede observar que para todos los metales se obtuvo un p-valor mayor a 0.05, por lo que en todos los análisis de varianza se rechazó la hipótesis alterna, concluyendo que el efecto de la dosificación de biochar en las concentraciones de Cu, Fe, Mn, Zn y Al de la parte aérea de *Werneria nubigena* es igual a cero, es decir, que dichas concentraciones de metales no son significativamente distintas en ninguno de los niveles del factor.

- Análisis comparativo de acumulación de metales en la parte aérea de las tres especies vegetales y dosificaciones de biochar

Con la finalidad de poder determinar si alguna de las especies vegetales, ya sea con o sin dosificación de biochar, acumularon metales en cantidades significativamente distintas a las demás, se aplicó un diseño factorial con dos factores, donde el primer factor viene a ser las dosificaciones de biochar (0%; 1% y 3%) y el segundo factor vienen a ser las especies vegetales (*Calamagrostis* spp., *Paranephelius ovatus* y *Werneria nubigena*), en ese sentido, las variables respuestas son las concentraciones de cada metal en la parte aérea de las especies vegetales. La validación de supuestos de cada análisis de varianza y el mismo análisis de varianza se encuentran en el **Anexo 3**.

La **Figura 55** fue generada a partir de los promedios de las concentraciones de metales en la parte aérea de cada planta en cada tratamiento (**Tabla 58, Anexo 2**) establecido en el experimento; cabe mencionar que con el fin de visualizar mejor la **Figura 55** se han utilizado codificaciones; donde “**C**” hace referencia a *Calamagrostis* spp., “**PO**” hace referencia a *Paranephelius ovatus* y “**WN**” hace referencia a *Werneria nubigena*; mientras que, “**0%BC; 1%BC y 3%BC**”, se refieren a la dosificación de biochar aplicado a las plantas, es por ello, que ambas codificaciones se encuentran vinculadas y/o cruzadas.

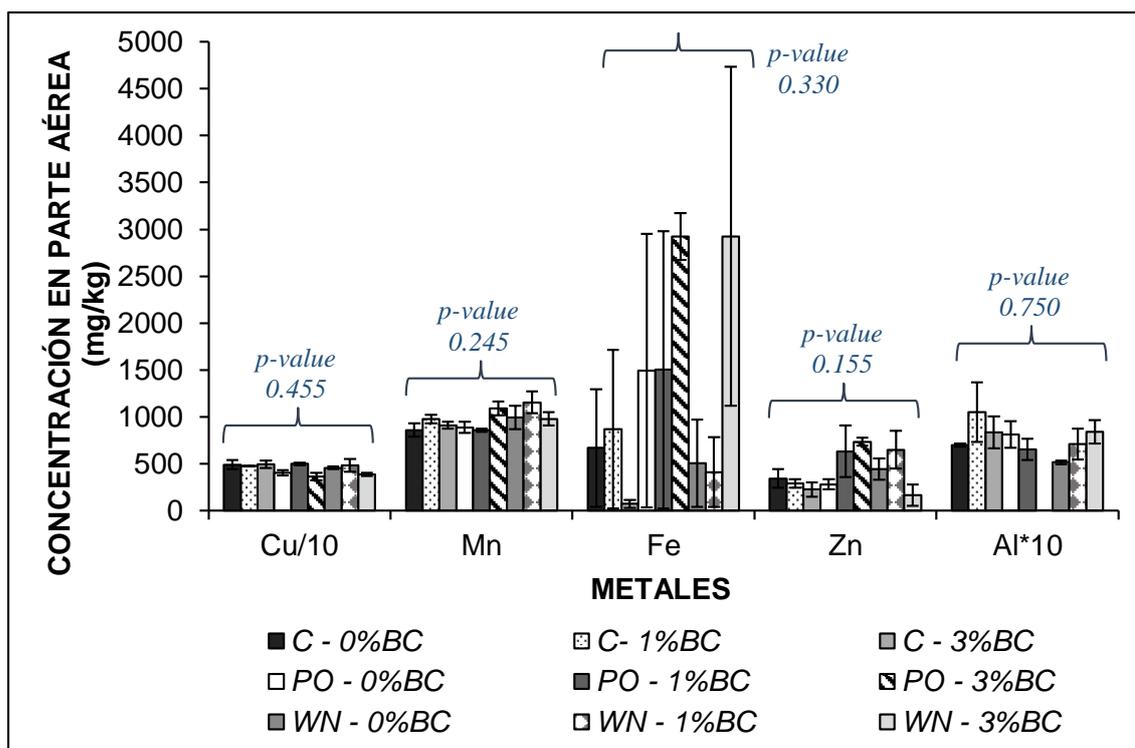


Figura 55. Concentración de metales acumulados en la parte aérea de las especies vegetales altoandinas tras el experimento en invernadero.

($p\text{-value} < 0.05$); indica diferencia significativa entre los tratamientos con biochar y especies vegetales.

Fuente: Elaboración propia.

En la **Figura 55**, se puede visualizar que las mayores concentraciones acumuladas por las especies vegetales estuvieron entre el Cu y Fe (4530.57 mg/kg y 1420.23 mg/kg, respectivamente) mientras que el metal con menor concentraciones acumuladas fue el Al (78.96 mg/kg); por otro lado, se observa que para cobre los mayores valores acumulados en parte aérea lo tuvieron *Calamagrostis* spp. con dosificación del 3% de biochar (4940.20 mg/kg) y *Paranephelius ovatus* con dosificación del 1% de biochar (4982.90 mg/kg); para el Mn, los mayores valores acumulados en parte aérea lo tuvieron *Paranephelius ovatus* con dosificación del 3% de biochar (1093.16 mg/kg) y *Werneria nubigena* con dosificación del 1% de biochar (1155.56 mg/kg); para el Fe, los mayores valores acumulados en parte aérea lo tuvieron *Paranephelius ovatus* con dosificación del 3% de biochar (2923.08 mg/kg) y *Werneria nubigena* con dosificación del 3% de biochar (2926.50 mg/kg); para el Zn, los mayores valores acumulados en parte aérea lo tuvieron *Paranephelius ovatus* con dosificación del 3% de biochar (735.04 mg/kg) y *Werneria nubigena* con dosificación del 1% de biochar (649.57 mg/kg); para el Al, los mayores valores acumulados en parte aérea lo tuvieron *Calamagrostis* spp. con dosificación del 1% de biochar (105.21 mg/kg) y *Werneria nubigena* con dosificación del 1% de biochar (84.02 mg/kg); sin embargo, tras realizar el análisis de varianza anteriormente descrito, se obtuvieron $p\text{-valores}$ mayores a 0.05 para todos los metales (**Figura 55**), por lo

que en todos los casos de análisis de varianza se rechazó la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual a cero, es decir, que la acumulación de los metales analizados en la parte aérea de las especies vegetales no depende de la combinación de la dosificación del biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente.

Por otro lado, con la finalidad de determinar si las especies vegetales han aumentado o disminuido su concentración de metales con respecto a la concentración inicial de cada uno de ellos; a las concentraciones de cada una de las especies con o sin biochar se le restó la concentración de metales obtenida en la parte aérea de cada planta antes del experimento (**Tabla 37**) y a partir de esas diferencias se generó la **Figura 56**.

En la **Figura 56** se puede observar que a nivel de concentración de metales en la parte aérea, algunas plantas han disminuido su concentración al punto de tener menores concentraciones que la inicial, mientras que otras, aumentaron dicho valor. Para el caso de *Calamagrostis* spp., esta obtuvo su mayor acumulación de metales para Cu en la dosificación con biochar al 3% (2222.2 mg/kg) y a nivel de disminución de concentración de metales obtuvo su menor valor para Mn en el tratamiento control (-118.80 mg/kg). *Paranephelium ovatus* obtuvo su mayor acumulación de metales para Cu en la dosificación con biochar al 1% (1777.78 mg/kg) y a nivel de disminución de concentración de metales obtuvo su menor valor para Fe en el tratamiento control (-992.31 mg/kg). *Werneria nubigena* obtuvo su mayor acumulación de metales para Fe en la dosificación con biochar al 3% (2913.68 mg/kg) y a nivel de disminución de concentración de metales obtuvo su menor valor para Cu en la dosificación con biochar al 3% (-333.33 mg/kg).

A los resultados plasmados en la **Figura 56** se le aplicó un diseño factorial de dos factores respetando las mismas condiciones consideradas en el análisis mostrado en la **Figura 55** pero teniéndose como variable respuesta a la variación en la concentración de metales. Una vez validados los supuestos del análisis de varianza, se aplicaron las pruebas de comparación múltiple donde corresponde, tal y como se muestra en la **Tabla 47**.

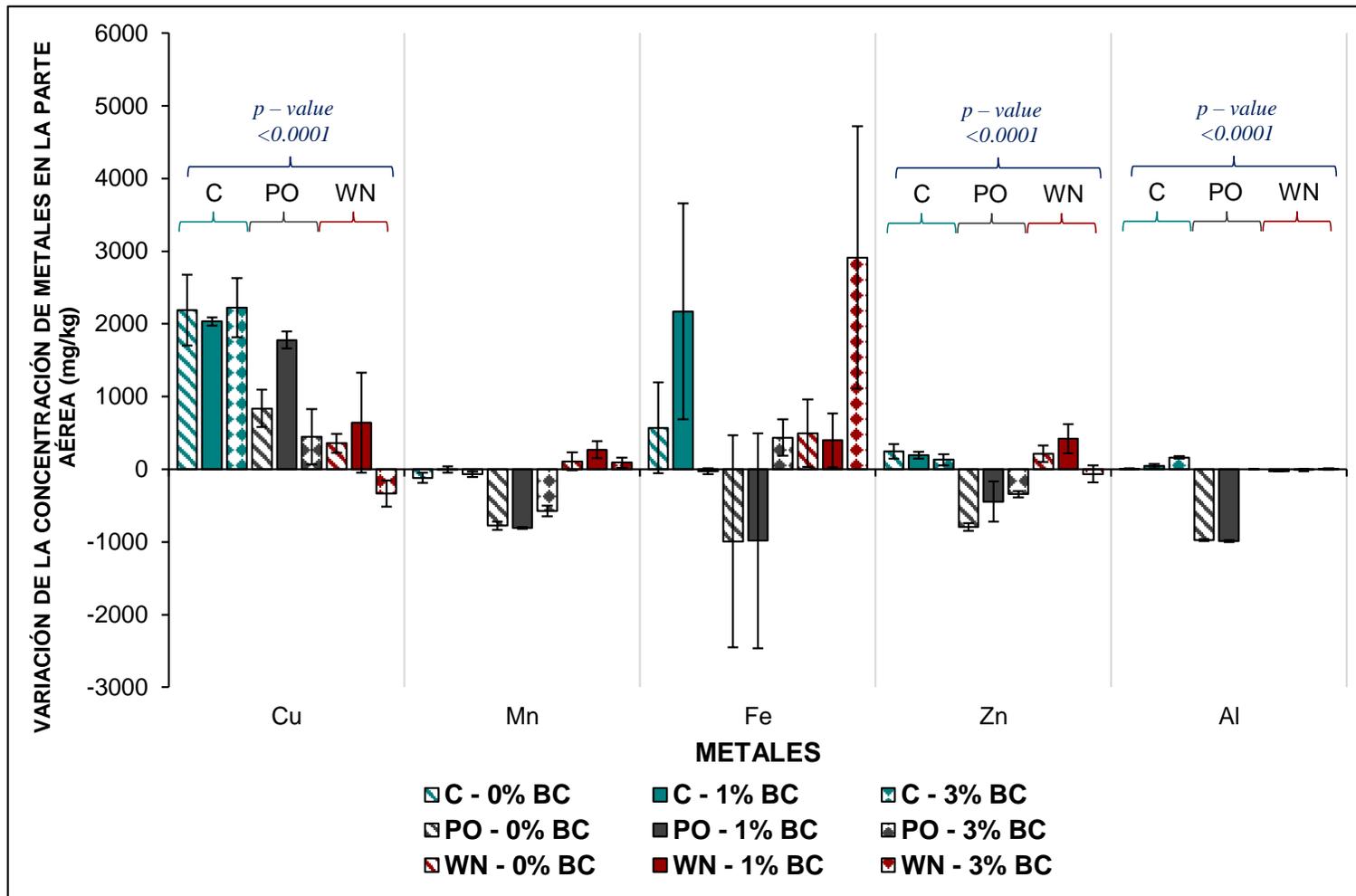


Figura 56. Variación de la concentración de metales en la parte aérea de las especies vegetales altoandinas tras el experimento en invernadero.

(p -value<0.05); indica diferencia significativa entre las especies vegetales

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 47. Resultados del análisis de varianza aplicado a la variación de la concentración de metales en la parte aérea de las especies vegetales tras el experimento en invernadero.

Metal	p-valor	Media
Cu		
Dosificación biochar	0.1039	
Especie vegetal	<0.0001	
<i>Calamagrostis</i> spp.		2148.15 ^a
<i>Paranephelium ovatus</i>		1019.94 ^b
<i>Werneria nubigena</i>		222.22 ^c
Interacción	0.3058	
Mn		
Dosificación biochar	0.3734	
Especie vegetal	<0.0001*	
Interacción	0.2125	
Fe		
Dosificación biochar	0.487	
Especie vegetal	0.1331	
Interacción	0.2983	
Zn		
Dosificación biochar	0.2872	
Especie vegetal	<0.0001	
<i>Calamagrostis</i> spp.		191.74 ^a
<i>Paranephelium ovatus</i>		-527.07 ^b
<i>Werneria nubigena</i>		189.46 ^a
Interacción	0.1018	
Al		
Dosificación biochar	0.6294	
Especie vegetal	<0.0001	
<i>Calamagrostis</i> spp.		24.99 ^a
<i>Paranephelium ovatus</i>		-980.43 ^b
<i>Werneria nubigena</i>		-10.88 ^c
Interacción	0.4828	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

*No cumplió supuesto de homogeneidad de varianzas

Fuente: Elaboración propia.

En la **Tabla 47** se observa que no hubo diferencias significativas entre las posibles interacciones (planta-biochar) o los niveles del factor dosificación biochar en ninguno de los metales, sin embargo, en el factor especie vegetal se determinó diferencias significativas en al menos dos de los niveles considerados, pudiendo determinar así diferencias significativas entre la variación de la concentración de metales en la parte radicular de las especies vegetales.

Para Cu se observó un p-valor menor a 0.05 en el factor especie vegetal, determinando que el efecto de las especies vegetales es distinto a cero, es decir, que la variación en la acumulación de Cu analizado en la parte aérea de las especies vegetales depende del factor especie vegetal, así mismo, en la **Tabla 47** se observa que *Calamagrostis* spp. tuvo un aumento en la concentración de Cu significativamente distinto al de las otras dos especies (2148.15 mg/kg),

mientras que *P. ovatus* y *W. nubigena* también tuvieron un aumento en la concentración de Cu significativamente distintos entre sí (1019.94 y 222.22 mg/kg, respectivamente) y al obtenido por *Calamagrostis* spp.

Para Fe se observó un p-valor mayor a 0.05 en el factor especie vegetal, determinando que el efecto de las especies vegetales es igual a cero, es decir, que la variación en la acumulación de Fe analizado en la parte aérea de las especies vegetales no depende del factor especie vegetal.

Para Zn se observó un p-valor menor a 0.05 en el factor especie vegetal, determinando que el efecto de las especies vegetales es distinto a cero, es decir, que la variación en la acumulación de Zn analizado en la parte aérea de las especies vegetales depende del factor especie vegetal, así mismo, en la **Tabla 47** se observa que *Calamagrostis* spp. y *W. nubigena* tuvieron aumentos en la concentración de Zn, los cuales no fueron significativamente distintos entre sí (191.74 y 189.46 mg/kg respectivamente), mientras que *P. ovatus* tuvo una disminución en su concentración de Zn la cuál es significativamente distinta de lo hallado en las otras dos especies.

Para Al se observó un p-valor menor a 0.05 en el factor especie vegetal, determinando que el efecto de las especies vegetales es distinto a cero, es decir, que la variación en la acumulación de Al analizado en la parte aérea de las especies vegetales depende del factor especie vegetal, así mismo, en la **Tabla 47** se observa que *Calamagrostis* spp. tuvo un aumento en la concentración de Al significativamente distinto al de las otras dos especies (24.99 mg/kg respectivamente), mientras que *P. ovatus* y *W. nubigena* tuvieron una disminución en sus concentraciones de Al, las cuales fueron significativamente distintas entre sí y a lo obtenido para *Calamagrostis* spp.

Con respecto a la variación de las concentraciones de metales en las partes aéreas de las plantas evaluadas se puede determinar que *Calamagrostis* spp. acumuló cantidades significativamente mayores de Cu y Al con respecto a lo acumulado por *P. ovatus* y *W. nubigena*.

5.10.4.2. Análisis de metales en la parte radicular de las especies vegetales

Con respecto al análisis de metales en la parte radicular de las especies vegetales se puede observar en la **Figura 57** que no hay presencia de valores extremos o anómalos, es decir, valores que se encuentran fuera de la distribución establecida por el diagrama de cajas y bigotes, por lo que se utilizaron todos los datos (**Anexo 2**) para generar promedios en función a cada planta, dosificación de biochar aplicado y metal analizado (**Figura 58, 59 y 60**), a estos gráficos se le añadió el resultado del análisis de metales realizado a cada planta previo al inicio del experimento en invernadero (**Tabla 37**), con el propósito de tener un panorama general con respecto a si cada planta sometida al suelo contaminado por DAR y dosificaciones de biochar, había aumentado o disminuido su concentración de metales tras el experimento.

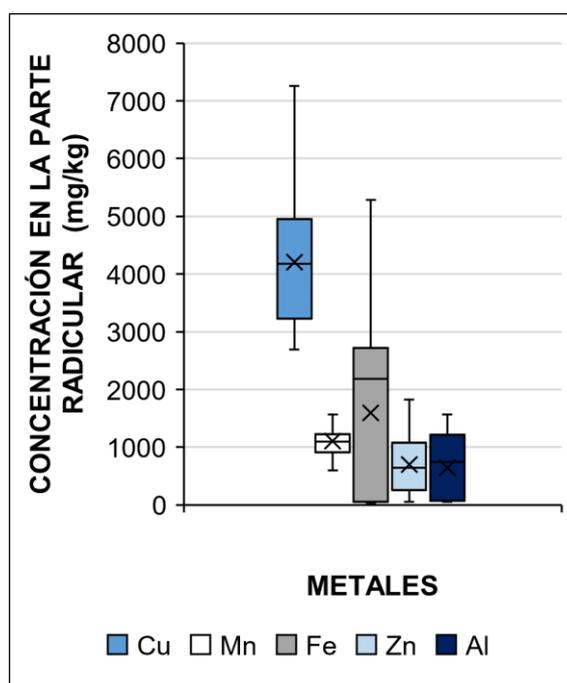


Figura 57. Distribución de las concentraciones de metales en la parte radicular de las especies vegetales del experimento en invernadero.

- Análisis de metales en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. y dosificaciones de biochar

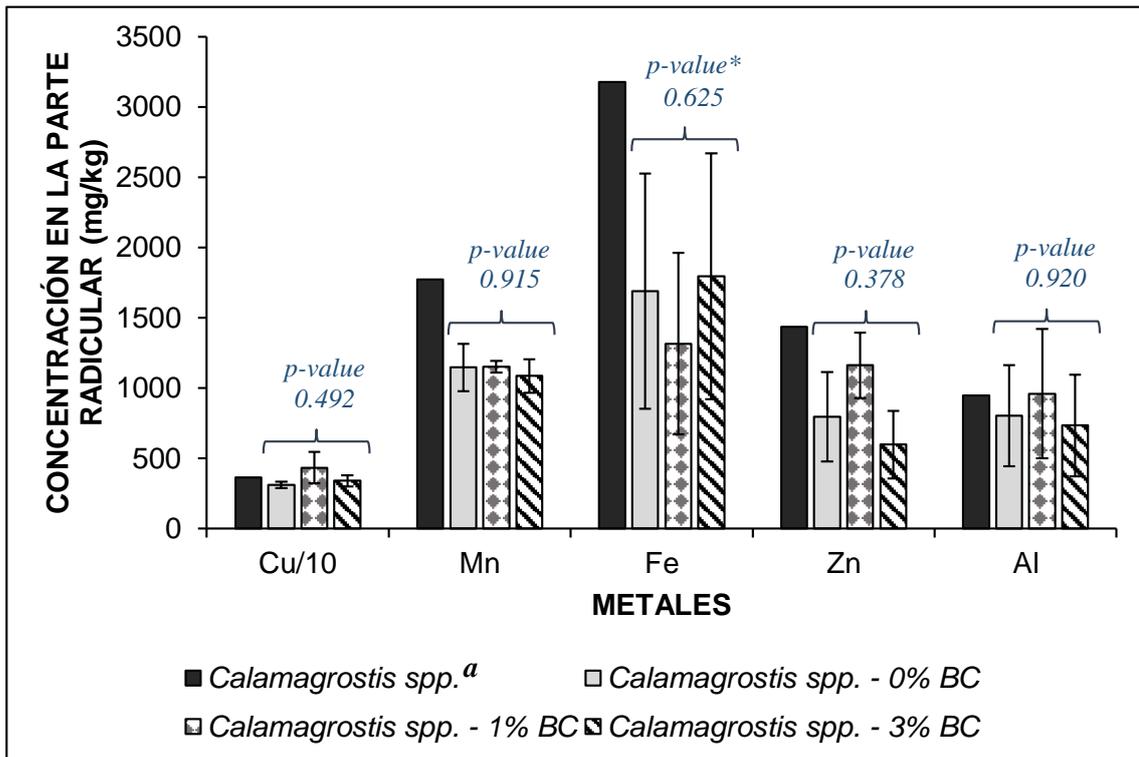


Figura 58. Concentración de metales en la parte radicular de las plantas de *Calamagrostis* spp. antes y después del experimento en invernadero.

* Se utilizó prueba no paramétrica de Kruskal Wallis

^a Muestra analizada antes del experimento en invernadero.

(p-value<0.05); indica diferencia significativa entre los tratamientos con biochar

Fuente: Elaboración propia.

Con respecto al análisis de metales en la parte radicular de las plantas de *Calamagrostis* spp. con diferentes dosificaciones de biochar, se ha realizado la **Figura 58**, donde la columna de nombre "*Calamagrostis* spp." hace referencia a la planta analizada previo al experimento del invernadero (**Tabla 37**) y las demás columnas refieren a los promedios del análisis de metales en cada tratamiento (especie vegetal con dosificación de biochar; **Anexo 2**). Se puede observar que para el Mn, Fe y Zn las concentraciones acumuladas de dichos metales en la parte radicular de las plantas de *Calamagrostis* spp. después del experimento en invernadero fueron menores, con respecto a la concentración de dichos metales en la planta analizada previo al experimento en invernadero, mientras que, para Cu y Al las concentraciones acumuladas en la parte radicular de las plantas de *Calamagrostis* spp. después del experimento en invernadero fueron mayores, en al menos uno de los tratamientos, con respecto a la concentración en la planta analizada previo al experimento en invernadero.

Con respecto a los tratamientos de dosificación de biochar (0%, 1% y 3%), se visualiza que todos los metales han sido acumulados en mayores cantidades tras la aplicación de biochar en *Calamagrostis* spp., tal es el caso del Cu (**0%**

biochar: 3128.2 mg/kg; **1% biochar:** 4341.9 mg/kg; **3% biochar:** 3418.8 mg/kg), Fe (**0% biochar:** 1688.89 mg/kg; **3% biochar:** 1794.87 mg/kg), Mn (**0% biochar:** 1147.86 mg/kg; **1% biochar:** 1152.14 mg/kg), Zn (**0% biochar:** 797.44 mg/kg; **1% biochar:** 1162.39 mg/kg) y Al (**0% biochar:** 804.79 mg/kg; **1% biochar:** 960.85 mg/kg). Por lo que, con el fin de determinar diferencias significativas entre la concentración de metales en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. con respecto a la dosificación de biochar, se aplicó un diseño completamente aleatorizado para cada metal, donde la variable respuesta es la concentración de cada metal en la parte radicular de la planta y el factor o variable independiente es la dosificación de biochar; la validación de supuestos de cada análisis de varianza y el mismo análisis de varianza se encuentran en el **Anexo 3**.

En la **Figura 58** se puede observar que para todos los metales se obtuvo un p-valor mayor a 0.05, por lo que, en los análisis de varianza para Cu, Mn, Zn y Al, se rechazó la hipótesis alterna, concluyendo que el efecto de la dosificación de biochar en las concentraciones de dichos metales de la parte radicular de *Calamagrostis* spp. es igual a cero, es decir, que dichas concentraciones de metales no son significativamente distintas en ninguno de los niveles del factor. Para el caso de la concentración de Fe se realizó una prueba de Kruskal Wallis, en la cual se rechazó la hipótesis alterna, concluyendo también que el efecto de la dosificación de biochar en la concentración de Fe de la parte radicular de *Calamagrostis* spp. no es significativamente distinto en ninguno de los niveles del factor.

- Análisis de metales en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* y dosificaciones de biochar

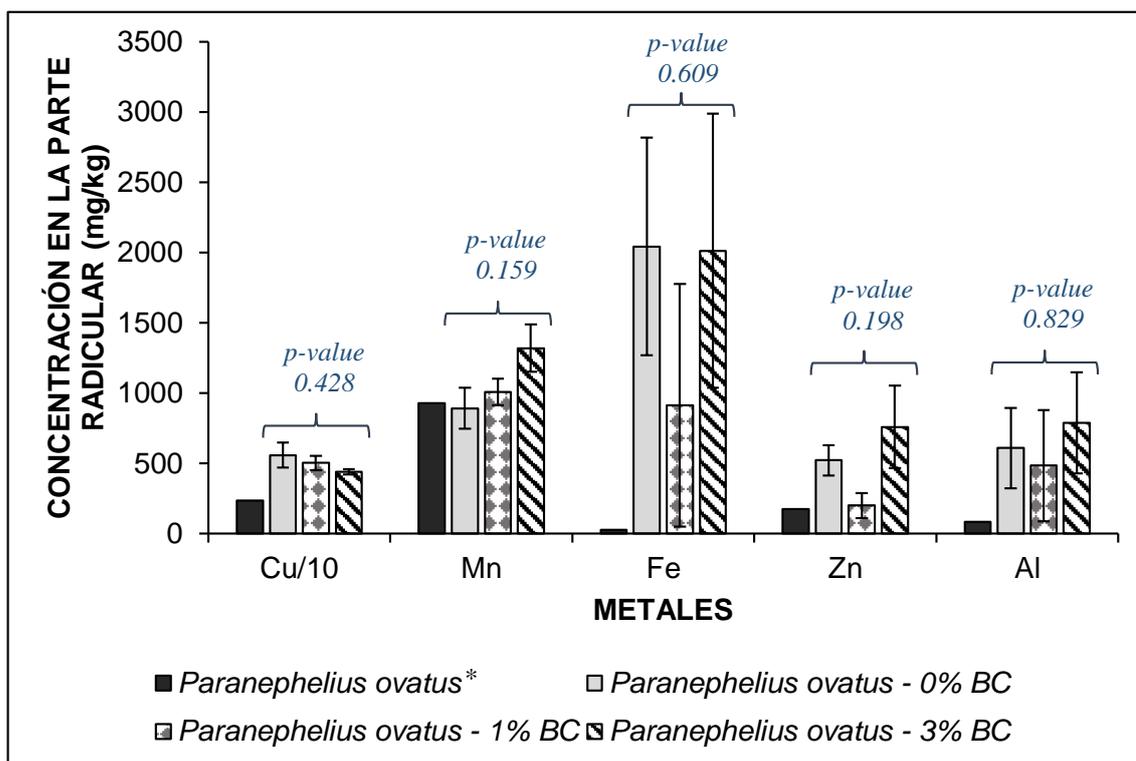


Figura 59. Concentración de metales en la parte radicular de las plantas de *Paranephelius ovatus* antes y después del experimento en invernadero.

*Muestra analizada antes del experimento en invernadero.

(p -value<0.05); indica diferencia significativa entre los tratamientos con biochar

Fuente: Elaboración propia.

Con respecto al análisis de metales en la parte radicular de las plantas de *Paranephelius ovatus* con diferentes dosificaciones de biochar, se ha realizado la **Figura 59**, donde la columna de nombre "*Paranephelius ovatus*" hace referencia a la planta analizada previo al experimento del invernadero (**Tabla 37**) y las demás columnas refieren a los promedios del análisis de metales en cada tratamiento (especie vegetal con dosificación de biochar; **Anexo 2**). Se puede observar que, para todos los metales, las concentraciones acumuladas en la parte radicular de las plantas de *Paranephelius ovatus* después del experimento en invernadero fueron mayores, en al menos uno de los tratamientos, con respecto a la concentración en la planta analizada previo al experimento en invernadero.

Con respecto a los tratamientos de dosificación de biochar (0%, 1% y 3%), se visualiza que algunos metales han sido acumulados en mayores cantidades tras la aplicación de biochar en *Paranephelius ovatus*, tal es el caso del Mn (**0% biochar:** 890.60 mg/kg; **1% biochar:** 1008.55 mg/kg; **3% biochar:** 1319.66 mg/kg), Zn (**0% biochar:** 521.37 mg/kg; **3% biochar:** 758.12 mg/kg) y Al (**0% biochar:** 608.03 mg/kg; **3% biochar:** 788.38 mg/kg), mientras que, un

comportamiento contrario, es decir, hay mayor concentración de metal en la parte aérea de la planta sin biochar que en los otros dos tratamientos, es para el Cu (**0% biochar:** 5581.20 mg/kg; **1% biochar:** 5034.20 mg/kg; **3% biochar:** 4384.60 mg/kg, y Fe (**0% biochar:** 2042.74 mg/kg; **1% biochar:** 914.53 mg/kg; **3% biochar:** 2011.97 mg/kg). Por lo que, con el fin de determinar diferencias significativas entre la concentración de metales en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* con respecto a la dosificación de biochar, se aplicó un diseño completamente aleatorizado para cada metal, donde la variable respuesta es la concentración de cada metal en la parte radicular de la planta y el factor o variable independiente es la dosificación de biochar; la validación de supuestos de cada análisis de varianza y el mismo análisis de varianza se encuentran en el **Anexo 3**.

En la **Figura 59** se puede observar que para todos los metales se obtuvo un p-valor mayor a 0.05, por lo que en todos los análisis de varianza se rechazó la hipótesis alterna, concluyendo que el efecto de la dosificación de biochar en las concentraciones de Cu, Fe, Mn, Zn y Al de la parte radicular de *Paranephelius ovatus* es igual a cero, es decir, que dichas concentraciones de metales no son significativamente distintas en ninguno de los niveles del factor.

- Análisis de metales en la parte radicular de *Werneria nubigena* y dosificaciones de biochar

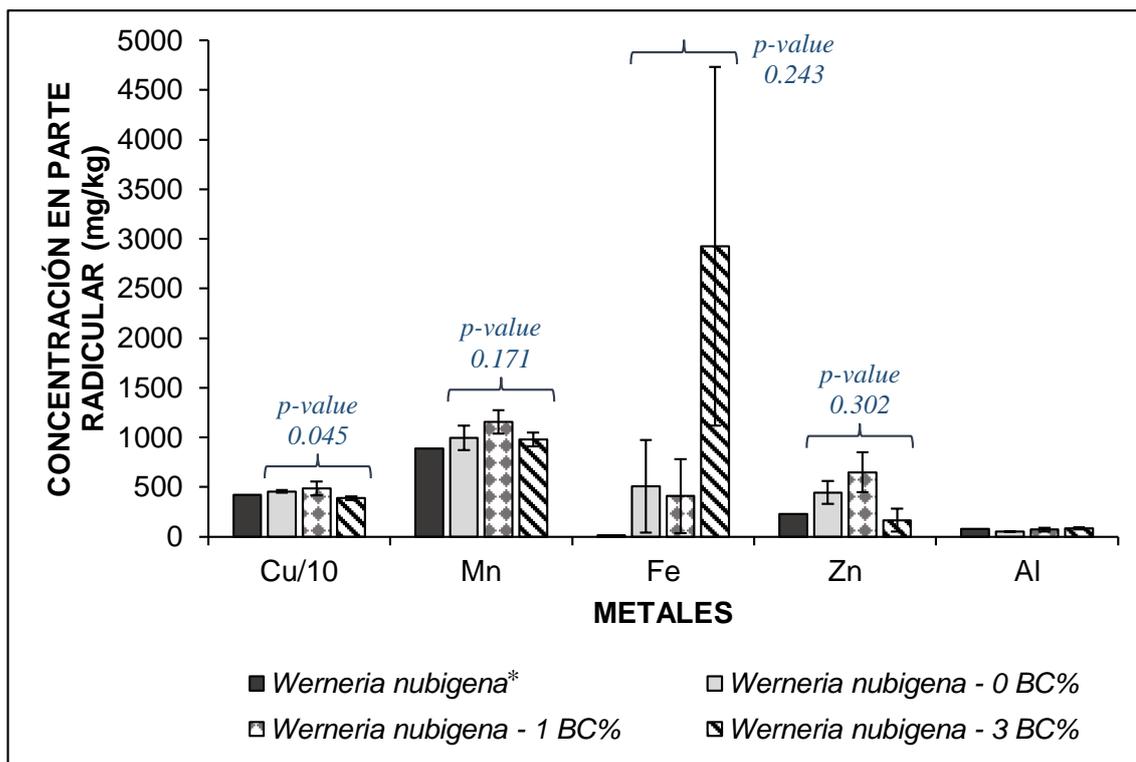


Figura 60. Concentración de metales en la parte radicular de las plantas de *Werneria nubigena* antes y después del experimento en invernadero.

*Muestra analizada antes del experimento en invernadero.

(p-value<0.05); indica diferencia significativa entre los tratamientos con biochar.

Fuente: Elaboración propia.

Con respecto al análisis de metales en la parte radicular de las plantas de *Werneria nubigena* con diferentes dosificaciones de biochar, se ha realizado la **Figura 60**, donde la columna de nombre "*Werneria nubigena*" hace referencia a la planta analizada previo al experimento del invernadero (**Tabla 37**) y las demás columnas refieren a los promedios del análisis de metales en cada tratamiento (especie vegetal con dosificación de biochar; **Anexo 2**). Se puede observar que, para todos los metales, las concentraciones acumuladas en la parte radicular de las plantas de *Werneria nubigena* después del experimento en invernadero fueron mayores, en al menos uno de los tratamientos, con respecto a la concentración en la planta analizada previo al experimento en invernadero.

Con respecto a los tratamientos de dosificación de biochar (0%, 1% y 3%), se visualiza que todos metales han sido acumulados en mayores cantidades tras la aplicación de biochar en *Werneria nubigena*, tal es el caso del Cu (**0% biochar: 4196.60 mg/kg; 1% biochar: 4675.20 mg/kg**), Mn (**0% biochar: 929.91 mg/kg; 1% biochar: 1196.58 mg/kg; 3% biochar: 1228.21 mg/kg**), Fe (**0% biochar: 72.65 mg/kg; 1% biochar: 1196.58 mg/kg; 3% biochar: 1228.21 mg/kg**), Zn (**0% biochar: 299.15 mg/kg; 1% biochar: 1000.00 mg/kg; 3% biochar: 957.26 mg/kg**) y Al (**0% biochar: 70.51 mg/kg; 1% biochar: 427.44 mg/kg; 3% biochar:**

898.46 mg/kg). Por lo que, con el fin de determinar diferencias significativas entre la concentración de metales en la parte radicular de *Werneria nubigena* con respecto a la dosificación de biochar, se aplicó un diseño completamente aleatorizado para cada metal, donde la variable respuesta es la concentración de cada metal en la parte radicular de la planta y el factor o variable independiente es la dosificación de biochar; la validación de supuestos de cada análisis de varianza y el mismo análisis de varianza se encuentran en el **Anexo 3**.

En la **Figura 60** se puede observar que para las concentraciones de cobre se obtuvo un p-valor menor a 0.05 (0.045), por lo que se rechazó la hipótesis nula, concluyendo que el efecto de la dosificación de biochar en la concentración de Cu en la parte radicular de *Werneria nubigena* es distinto de cero, es decir, que la concentración de Cu es significativamente distinta en al menos uno de los niveles del factor. Por lo que se procedió a realizar una prueba de comparaciones múltiples mediante el Test LSD de Fisher (**Anexo 3**), y a partir de ella se generó la **Figura 61**, donde se puede observar que la acumulación de Cu en la parte radicular de *Werneria nubigena* tras dosificar el 1% de biochar es significativamente mayor con respecto a la acumulación obtenida en la dosificación de biochar del 3%, así también, se puede observar que la planta sin dosificación de biochar no es significativamente distinta a ninguna de las medias obtenidas.

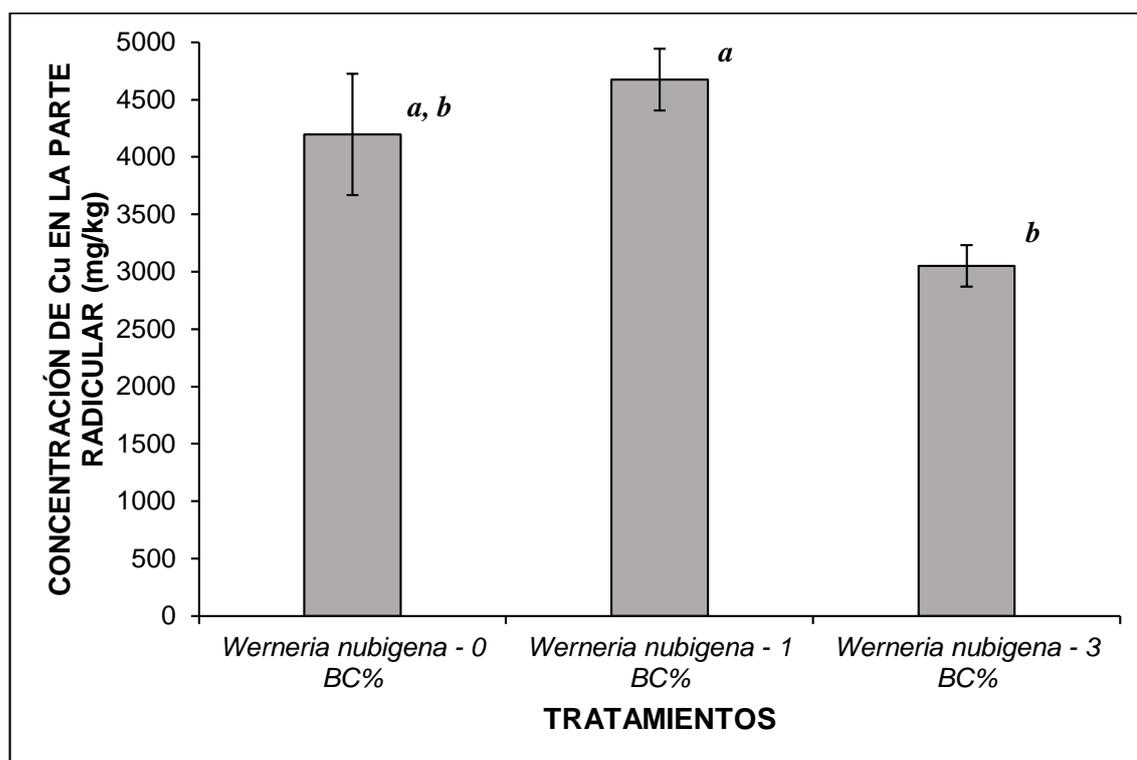


Figura 61. Concentración de cobre en la parte radicular de las plantas de *Werneria nubigena* tras el experimento en invernadero.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

Por otro lado, para los metales como el Mn, Fe y Zn, se obtuvo un p-valor mayor a 0.05, por lo que en todos los análisis de varianza se rechazó la hipótesis alterna, concluyendo que el efecto de la dosificación de biochar en las concentraciones de Mn, Fe y Zn de la parte radicular de *Werneria nubigena* es igual a cero, es decir, que dichas concentraciones de metales no son significativamente distintas en ninguno de los niveles del factor; específicamente para el caso del Al, no se realizó análisis de varianza ya que los residuos obtenidos a partir de sus resultados no cumplía con el supuesto de homocedasticidad, a pesar de utilizar transformaciones como la raíz cuadrada o log10.

- Análisis comparativo de acumulación de metales en la parte radicular de las tres especies vegetales y dosificaciones de biochar

Con la finalidad de poder determinar si alguna de las especies vegetales, ya sea con o sin dosificación de biochar, acumularon metales en cantidades significativamente distintas a las demás, se aplicó un diseño factorial con dos factores, donde el primer factor viene a ser las dosificaciones de biochar (0%; 1% y 3%) y el segundo factor viene a ser las especies vegetales (*Calamagrostis* spp., *Paranephelium ovatus* y *Werneria nubigena*), en ese sentido, las variables respuestas son las concentraciones de cada metal en la parte radicular de las especies vegetales. La validación de supuestos de cada análisis de varianza y el mismo análisis de varianza se encuentran en el **Anexo 3**.

La **Figura 62** fue generada a partir de los promedios de las concentraciones de metales en la parte radicular de cada planta en cada tratamiento establecido en el experimento (**Tabla 59, Anexo 2**); cabe mencionar que, con el fin de visualizar mejor la **Figura 62** se han utilizado codificaciones; donde “**C**” hace referencia a *Calamagrostis* spp., “**PO**” hace referencia a *Paranephelium ovatus* y “**WN**” hace referencia a *Werneria nubigena*; mientras que, “**0%BC; 1%BC y 3%BC**”, se refieren a la dosificación de biochar aplicado a las plantas, es por ello, que ambas codificaciones se encuentran vinculadas y/o cruzadas.

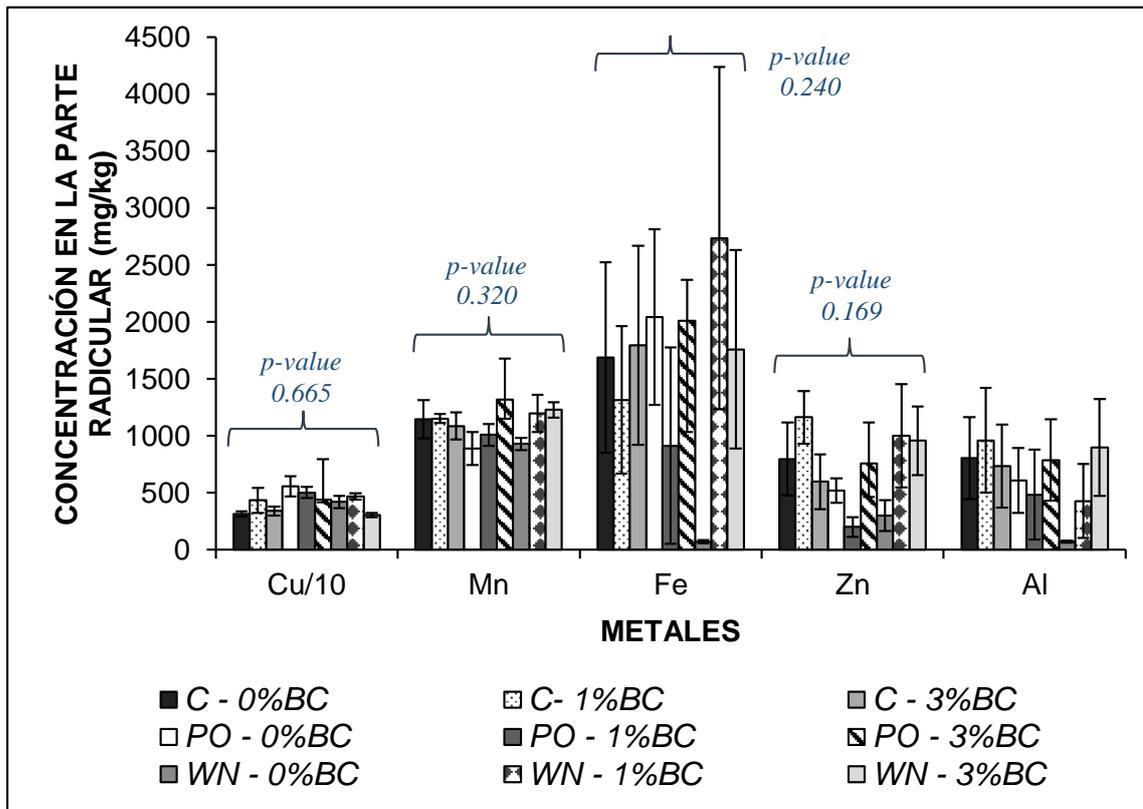


Figura 62. Concentración de metales acumulados en la parte radicular de las especies vegetales altoandinas tras el experimento en invernadero. (p-value<0.05); indica diferencia significativa entre los tratamientos con biochar y especies vegetales.

Fuente: Elaboración propia.

En la **Figura 62**, se puede visualizar que las mayores concentraciones acumuladas por las especies vegetales estuvieron entre el Cu y Fe (4201.33 mg/kg y 1539.07 mg/kg, respectivamente); por otro lado, se observa que para cobre los mayores valores acumulados en parte radicular lo tuvieron *Paranephelium ovatus* con dosificación del 0% y 1% de biochar (558.12 y 503.42 mg/kg, respectivamente); para el Mn, los mayores valores acumulados en parte radicular lo tuvieron *Paranephelium ovatus* con dosificación del 3% de biochar (1319.66 mg/kg) y *Werneria nubigena* con dosificación del 3% de biochar (1228.21 mg/kg); para el Fe, los mayores valores acumulados en parte radicular lo tuvieron *Paranephelium ovatus* con dosificación del 0% de biochar (2042.74

mg/kg) y *Werneria nubigena* con dosificación del 1% de biochar (2735.90 mg/kg); para el Zn, los mayores valores acumulados en parte radicular lo tuvieron *Calamagrostis* spp. con dosificación del 1% de biochar (1162.39 mg/kg) y *Werneria nubigena* con dosificación del 1% de biochar (1000 mg/kg); para el Al, los mayores valores acumulados en parte radicular lo tuvieron *Calamagrostis* spp. con dosificación del 1% de biochar (906.85 mg/kg) y *Werneria nubigena* con dosificación del 3% de biochar (898.46 mg/kg); sin embargo, tras realizar el análisis de varianza anteriormente descrito, se obtuvieron p-valores mayores a 0.05 para todos los metales (**Figura 62**), por lo que en todos los casos de análisis de varianza se rechazó la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual a cero, es decir, que la acumulación de los metales analizados en la parte radicular de las especies vegetales no depende de la combinación de la dosificación del biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente.

Por otro lado, con la finalidad de determinar si las especies vegetales han aumentado o disminuido su concentración de metales con respecto a la concentración inicial de cada uno de ellos; a las concentraciones de cada una de las especies con o sin biochar se le restó la concentración de metales obtenida en la parte radicular de cada planta antes del experimento (**Tabla 37**) y a partir de esas diferencias se generó la **Figura 63**.

En la **Figura 63** se puede observar que a nivel de concentración de metales en la parte aérea, algunas plantas han disminuido su concentración al punto de tener menores concentraciones que la inicial, mientras que otras, aumentaron dicho valor. Para el caso de *Calamagrostis* spp., este obtuvo su mayor acumulación de metales para Al en la dosificación con biochar al 1% (14.70 mg/kg) y a nivel de disminución de concentración de metales obtuvo su menor valor para Fe en la dosificación con biochar al 1% (-1863.25 mg/kg). *Paranephelium ovatum* obtuvo su mayor acumulación de metales para Cu en la dosificación en el tratamiento control (3222.22 mg/kg) y a nivel de disminución de concentración de metales obtuvo su menor valor para Mn en el tratamiento control (-37.61 mg/kg). *Werneria nubigena* obtuvo su mayor acumulación de metales para Fe en la dosificación con biochar al 1% (2687.18 mg/kg) y a nivel de disminución de concentración de metales obtuvo su menor valor para Zn en el tratamiento control (-21.37 mg/kg).

A los resultados plasmados en la **Figura 63** se le aplicó un diseño factorial de dos factores respetando las mismas condiciones consideradas en el análisis mostrado en la **Figura 62** pero teniéndose como variable respuesta a la variación en la concentración de metales. Una vez validados los supuestos del análisis de varianza, se aplicaron las pruebas de comparación múltiple donde corresponde, tal y como se muestra en la **Tabla 48**.

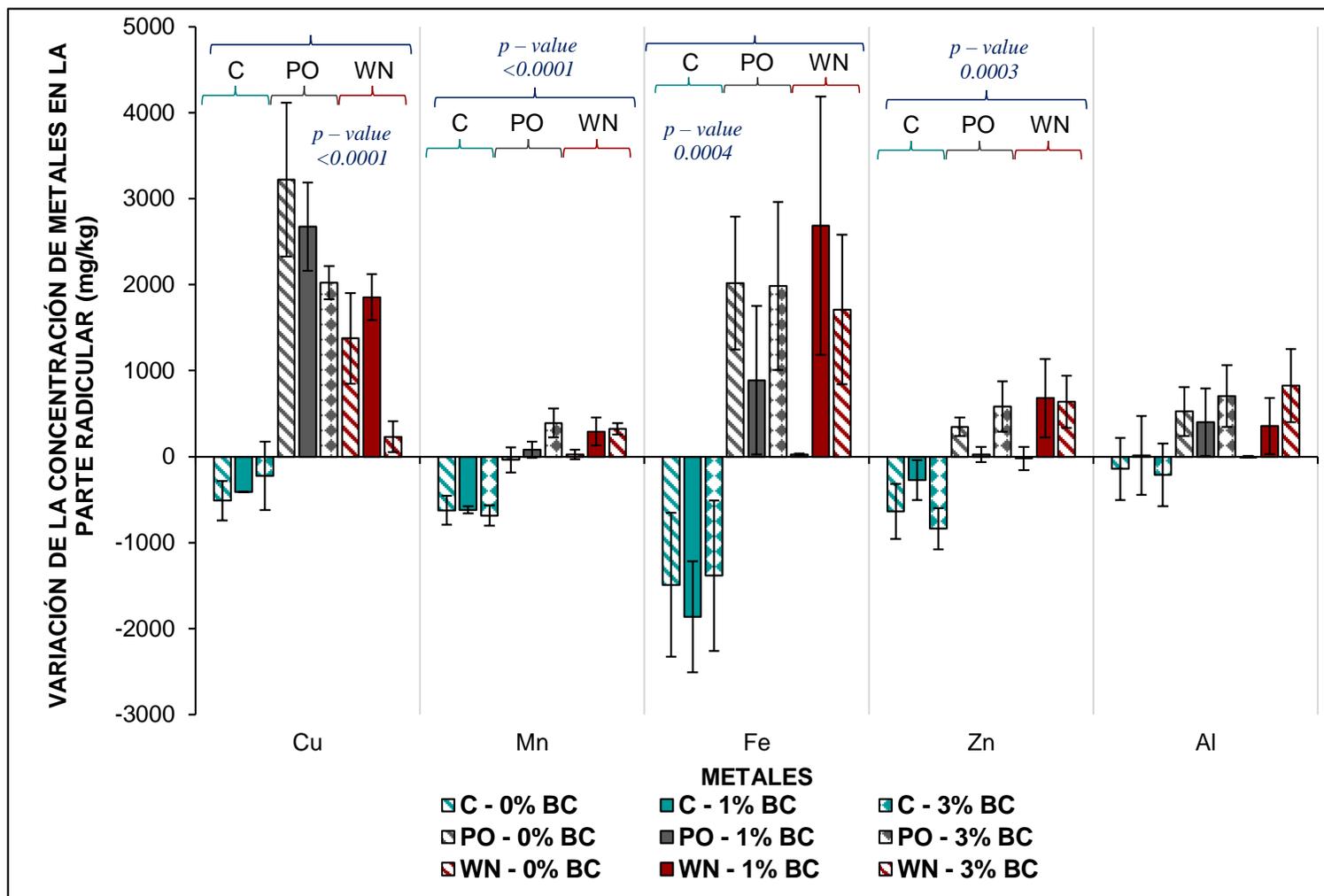


Figura 63. Variación de la concentración de metales en la parte radicular de las especies vegetales altoandinas tras el experimento en invernadero. (p-value<0.05); indica diferencia significativa entre las especies vegetales Fuente: Elaboración propia.

Tabla 48. Resultados del análisis de varianza aplicado a la variación de la concentración de metales en la parte radicular de las especies vegetales tras el experimento en invernadero.

Metal	p-valor	Media
Cu		
Dosificación biochar	0.1278	
Especie vegetal	<0.0001	
<i>Calamagrostis</i> spp.		-381.77 ^a
<i>Paranephelium ovatus</i>		2641.03 ^b
<i>Werneria nubigena</i>		1153.85 ^c
Interacción	0.2532	
Mn		
Dosificación biochar	0.1122	
Especie vegetal	<0.0001	
<i>Calamagrostis</i> spp.		-642.74 ^a
<i>Paranephelium ovatus</i>		144.73 ^b
<i>Werneria nubigena</i>		213.11 ^b
Interacción	0.2995	
Fe		
Dosificación biochar	0.7198	
Especie vegetal	0.0004	
<i>Calamagrostis</i> spp.		-1579.49 ^a
<i>Paranephelium ovatus</i>		1630.77 ^b
<i>Werneria nubigena</i>		1474.07 ^b
Interacción	0.3196	
Zn		
Dosificación biochar	0.4558	
Especie vegetal	0.0003	
<i>Calamagrostis</i> spp.		-583.19 ^a
<i>Paranephelium ovatus</i>		318.80 ^b
<i>Werneria nubigena</i>		431.62 ^b
Interacción	0.1682	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

En la **Tabla 48** se observa que no hubo diferencias significativas entre las posibles interacciones (planta-biochar) o los niveles del factor dosificación biochar en ninguno de los metales, sin embargo, en el factor especie vegetal se determinó diferencias significativas en al menos dos de los niveles considerados, pudiendo determinar así diferencias significativas entre la variación de la concentración de metales en la parte radicular de las especies vegetales.

Para Cu se observó un p-valor menor a 0.05 en el factor especie vegetal, determinando que el efecto de las especies vegetales es distinto a cero, es decir, que la variación en la acumulación de Cu analizado en la parte radicular de las especies vegetales depende del factor especie vegetal, así mismo, en la **Tabla 48** se observa que *P. ovatus* y *W. nubigena* tuvieron aumentos en la concentración de Cu significativamente distintos (2641.03 y 1153.85 mg/kg respectivamente), mientras que *Calamagrostis* spp. tuvo una disminución en su

concentración de Cu la cuál es significativamente distinta de lo hallado en las otras dos especies.

Para Mn se observó un p-valor menor a 0.05 en el factor especie vegetal, determinando que el efecto de las especies vegetales es distinto a cero, es decir, que la variación en la acumulación de Mn analizado en la parte radicular de las especies vegetales depende del factor especie vegetal, así mismo, en la **Tabla 48** se observa que *P. ovatus* y *W. nubigena* tuvieron aumentos en la concentración de Mn, los cuales no fueron significativamente distintos entre sí (144.73 y 213.11 mg/kg respectivamente), mientras que *Calamagrostis* spp. tuvo una disminución en su concentración de Cu la cuál es significativamente distinta de lo hallado en las otras dos especies.

Para Fe se observó un p-valor menor a 0.05 en el factor especie vegetal, determinando que el efecto de las especies vegetales es distinto a cero, es decir, que la variación en la acumulación de Fe analizado en la parte radicular de las especies vegetales depende del factor especie vegetal, así mismo, en la **Tabla 48** se observa que *P. ovatus* y *W. nubigena* tuvieron aumentos en la concentración de Fe, los cuales no fueron significativamente distintos entre sí (1630.77 y 1474.07 mg/kg respectivamente), mientras que *Calamagrostis* spp. tuvo una disminución en su concentración de Cu la cuál es significativamente distinta de lo hallado en las otras dos especies.

Para Zn se observó un p-valor menor a 0.05 en el factor especie vegetal, determinando que el efecto de las especies vegetales es distinto a cero, es decir, que la variación en la acumulación de Zn analizado en la parte radicular de las especies vegetales depende del factor especie vegetal, así mismo, en la **Tabla 48** se observa que *P. ovatus* y *W. nubigena* tuvieron aumentos en la concentración de Zn, los cuales no fueron significativamente distintos entre sí (318.80 y 431.62 mg/kg respectivamente), mientras que *Calamagrostis* spp. tuvo una disminución en su concentración de Cu la cuál es significativamente distinta de lo hallado en las otras dos especies.

Con respecto a la variación de las concentraciones de metales en las partes radiculares de las plantas evaluadas se puede determinar que *P. ovatus* y *W. nubigena* acumularon cantidades significativamente mayores de Cu, Mn, Fe y Zn con respecto a lo acumulado por *Calamagrostis* spp.

5.10.4.3. Análisis del factor de traslocación de las especies vegetales

Debido a que se obtuvieron resultados consistentes en cuanto a concentraciones de metales en parte aérea y radicular de las especies vegetales (**Tablas 58 y 59, Anexo 2**) tras el experimento en invernadero, se realizaron los cálculos necesarios para obtener el factor de traslocación de cada tratamiento empleado (**Tabla 49**).

En la **Tabla 49** se está considerando el factor de traslocación para cada especie vegetal “colectada”, este valor hace referencia al factor de traslocación

calculado a partir de las concentraciones de metales de la planta de cada especie que se analizó previo al experimento en invernadero (**Tabla 37**), a fin de ser comparado con los tratamientos aplicados.

El **Figura 64** nos muestra que las plantas colectadas *Calamagrostis* spp. y *Werneria nubigena* para el experimento de fitorremediación se encontraban desarrollándose en suelo con menores concentraciones de metales (excepto Cu) con respecto al suelo contaminado por DAR, al cual fueron sometidos durante el experimento. Para el caso de *Paranephelus ovatus*, estas plantas se encontraban desarrollándose en suelo con menores concentraciones de metales, a excepción del Al, con respecto al suelo contaminado por DAR. Esto es relevante, ya que al observar los cambios en el potencial fitorremediador se hacen comparaciones de las condiciones a las que estaban adecuadas las plantas antes del experimento.

Para el caso de *Calamagrostis* spp. se visualizan cambios de potencial fitorremediador en Cu, Fe y Zn; mientras que, para Mn y Al, la planta es considerada como *estabilizadora* de dichos metales antes y después del experimento. Para Cu y Fe se puede observar que la planta al momento de ser colectada en campo, tenía un factor de traslocación menor a uno, siendo categorizada como *estabilizadora* y luego al ser sometida al suelo contaminado por DAR, pasó a ser categorizada como *extractora* de Cu en los tres tratamientos (0%, 1% y 3% de biochar). Para Zn, se observa que la planta al ser colectada en campo, tenía un factor de traslocación menor a uno y luego al ser sometida al suelo contaminado por DAR, mantuvo dicho potencial *estabilizador* de Zn para los tratamientos de 0% y 1% de biochar, sin embargo, en la dosificación del 3% de biochar, esta categoría cambió a *extractora* de Zn.

Para el caso de *Paranephelus ovatus*, se visualizan cambios en el potencial fitorremediador para todos los metales, con excepción del Fe, ya que este se mantuvo categorizado como *extractor* de dicho metal, antes y después del experimento en invernadero. Para el caso de Cu, la planta obtuvo valores menores a uno, es decir, se categorizó como *estabilizadora* para los tratamientos de 0% y 3% de biochar, mientras que para el 1% de biochar y la planta analizada previo al experimento fue categorizada como *extractora* de dicho metal; para el caso del Mn, la planta analizada antes del experimento fue categorizada como *extractora* y luego al ser sometida al suelo contaminado por drenaje ácido de roca cambió dicha categoría tras ser dosificada con biochar (1% y 3%), pasando a ser *estabilizadora* de dicho metal. Para el caso del Zn, la planta fue categorizada como *extractora* en la muestra antes del experimento y en las muestras dosificadas con biochar al 1% y 3%, mientras que, para la planta sometida al suelo contaminado por DAR sin ninguna dosificación de biochar, presentó un potencial fitorremediador de estabilización; para el caso del Al, la planta cambió su categoría de *extractora* de Al a *estabilizadora* del metal tras ser sometida al suelo contaminado por drenaje ácido de roca sin dosificación de biochar y dosificación al 1%.

Para el caso de *Werneria nubigena*, la planta se mantuvo como *extractora* de Cu tras ser sometida a menores concentraciones de dicho metal (**Figura 64**); por otro lado, para Mn, Fe y Zn, la planta fue categorizada como *estabilizadora* de dichos metales y al ser sometidos al experimento cambiaron su categorización a *extractora* de Mn (dosificaciones del 0% y 1% de biochar), Fe (0%, 1% y 3% de biochar) y Zn (0% y 1% de biochar); para el caso del Al la planta modificó su potencial fitorremediador de “extractor” a “estabilizador” al ser sometida al suelo contaminado por DAR en los tres tratamientos.

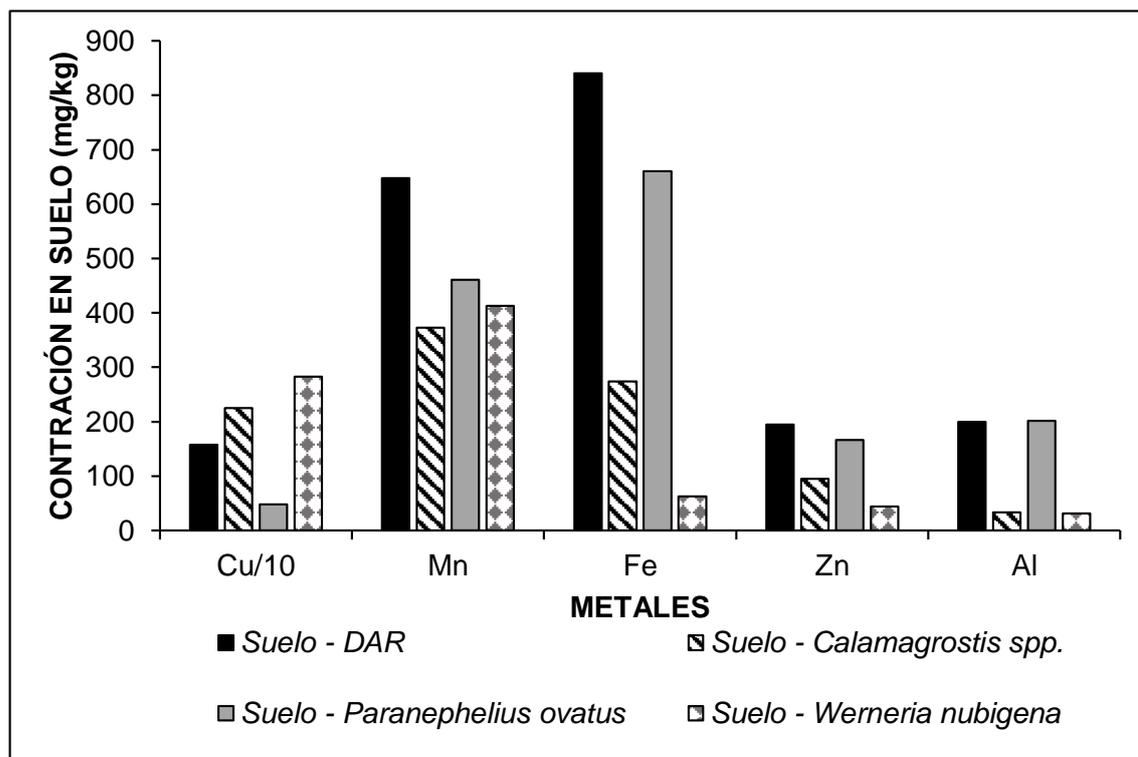


Figura 64. Concentración de metales en la muestra de suelo contaminado por DAR y los suelos de donde fueron colectadas las especies vegetales altoandinas.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 49. Factores de traslocación de las especies vegetales antes y después del experimento en invernadero.

ESPECIE VEGETAL	FACTOR DE TRASLOCACIÓN				
	Cu	Mn	Fe	Zn	Al
Calamagrostis spp.					
Colectado*	0.75	0.55	0.03	0.07	0.06
0% Biochar	1.58 ± 0.17	0.80 ± 0.14	41.68 ± 41.66	0.58 ± 0.19	0.41 ± 0.35
1% Biochar	1.46 ± 0.02	0.85 ± 0.05	33.34 ± 32.83	0.28 ± 0.09	0.65 ± 0.57
3% Biochar	1.51 ± 0.28	0.86 ± 0.12	1.02 ± 1.01	1.06 ± 0.87	0.08 ± 0.01
Paranephelius ovatus					
Colectado*	1.36	1.80	97.00	6.18	12.80
0% Biochar	0.78 ± 0.17	1.09 ± 0.29	2.74 ± 2.73	0.56 ± 0.07	0.66 ± 0.58
1% Biochar	1.01 ± 0.08	0.87 ± 0.05	32.38 ± 32.15	4.39 ± 1.63	0.31 ± 0.25
3% Biochar	0.84 ± 0.12	0.85 ± 0.07	18.26 ± 17.33	1.82 ± 1.10	<i>a</i>
Werneria nubigena					
Colectado*	1.49	0.98	0.26	0.72	1.12
0% Biochar	1.13 ± 0.17	1.06 ± 0.07	7.30 ± 6.72	3.35 ± 2.12	0.66 ± 0.05
1% Biochar	1.04 ± 0.08	1.01 ± 0.20	4.85 ± 4.84	1.50 ± 1.15	0.34 ± 0.23
3% Biochar	1.33 ± 0.12	0.80 ± 0.03	1.25 ± 0.55	0.18 ± 0.03	0.46 ± 0.39
ESPECIE VEGETAL	POTENCIAL FITORREMIADOR				
	Cu	Mn	Fe	Zn	Al
Calamagrostis spp.					
Colectado*	ESTABILIZADORA	ESTABILIZADORA	ESTABILIZADORA	ESTABILIZADORA	ESTABILIZADORA
0% Biochar	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA	ESTABILIZADORA
1% Biochar	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA	ESTABILIZADORA
3% Biochar	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA	EXTRACTORA	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA
Paranephelius ovatus					
Colectado*	EXTRACTORA	EXTRACTORA	EXTRACTORA	EXTRACTORA	EXTRACTORA
0% Biochar	ESTABILIZADORA	EXTRACTORA	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA	ESTABILIZADORA
1% Biochar	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA	EXTRACTORA	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA
3% Biochar	ESTABILIZADORA	ESTABILIZADORA	EXTRACTORA	EXTRACTORA	<i>a</i>
Werneria nubigena					
Colectado*	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA	ESTABILIZADORA	ESTABILIZADORA	EXTRACTORA
0% Biochar	EXTRACTORA	EXTRACTORA	EXTRACTORA	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA
1% Biochar	EXTRACTORA	EXTRACTORA	EXTRACTORA	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA
3% Biochar	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA	EXTRACTORA	ESTABILIZADORA	ESTABILIZADORA

*Muestra analizada antes del experimento en invernadero. /^a Resultado no considerado por presentar valores extremos

Fuente: Elaboración propia.

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En función al desarrollo del **objetivo específico 1**:

“Analizar las concentraciones de Al, Cu, Fe, Mn y Zn en el suelo y agua de una zona expuesta al DAR y una zona adyacente sin contacto con el DAR”.

Los resultados nos expresan que las muestras de DAR presentaron parámetros físico-químicos fuera de lo establecido en el ECA-Agua y altas concentraciones de metales, mientras que las muestras del suelo contaminado por DAR presentaron altas concentraciones metales y estas concentraciones no fueron significativamente distintas a lo hallado en las muestras de suelo de un área visualmente menos impactada. Ante los resultados descritos se discute lo siguiente:

La microcuenca Quillcayhuanca presenta hacia la parte nor-oriental una litología sedimentaria de la edad jurásica que corresponde a la Fm. Chicama; hacia el margen derecho del Río Cayesh predominan las lutitas y areniscas finas, mientras que hacia el margen izquierdo predominan las lutitas pizarrosas; las lutitas que se intercalan con las areniscas, son piritosas y con nódulos ferruginosos (Reyes Nolasco 2018), dicha información es relevante para los resultados obtenidos en cuanto al DAR en la presente investigación, ya que según varios autores, entre ellos Dold et al. (2013) y Grande et al. (2019) atribuyen que la formación del DAR se produce debido a la oxidación de la pirita predominante en zonas pro-glaciares, esta oxidación lleva a la generación de protones, por ende, bajos niveles de pH, dicha condición provoca la lixiviación de metales y sobre todo el Fe (debido a la presencia de pirita), es por eso que en los drenajes ácidos de roca suelen haber altas concentraciones de Fe, tal y cómo se ha obtenido en la presente investigación. Por otro lado, la presencia de altas concentraciones de otros metales (Al, Cu, Mn y Zn medidos en la presente investigación) están relacionados también a la lixiviación provocada por las condiciones ácidas del DAR, pero en este caso estarían relacionados también a la presencia de otros materiales rocosos por donde está discurriendo el DAR, pudiendo ser estas concentraciones de metales que se ubican en la parte alta hacia el margen derecho del Río Cayesh (Reyes Nolasco 2018).

Al analizar los resultados obtenidos en los parámetros ambientales (pH y conductividad eléctrica) y la concentración de metales en las muestras de agua contaminadas por DAR, se determinó que estas no cumplen con los estándares y/o límites permisibles, ya sea para consumo humano (DS N° 031-2010-SA), calidad ambiental del agua en ríos de la sierra (ECA-Agua Cat.4, E2) y calidad ambiental para el uso del agua en riego de vegetales (ECA-Agua Cat.3, D1); ratificando lo hallado por Martel Valverde, Torres Lázaro y Jara Infantes (2018), quienes tras estudiar los niveles de pH en las microcuencas Quillcayhuanca, Shallap y Cojup, determinaron que el peor escenario fue el observado en la

Quebrada Cayesh, debido a los altos niveles de acidez, sumado a ello, Reyes Nolasco (2018) tras hacer una evaluación en muestras de agua en la microcuenca Quillcayhuanca pudo detectar que el punto del área afectada por DAR en la quebrada Cayesh fue la que menor valor pH demostró (3.85, promedio de las estaciones en época lluviosa y época seca), además atribuyó que dicho nivel de pH influye directamente en la disolución de metales pesados, dentro de los cuales resaltaron el Al, Cd, Fe, Mn, Ni y Pb, por sobrepasar el ECA-Agua en la Categoría 1, sub-categoría A1.

Por otro lado, al realizar el análisis de metales en las muestras de suelo del área evidentemente impactada por DAR y de un área visualmente menos impactada por DAR se pudo observar que no hubo diferencias significativas entre las concentraciones de metales, lo que indicaría que las áreas colindantes al fenómeno del DAR podrían tener las altas concentraciones de metales a pesar de no estar visualmente impactadas, esta situación se ha podido observar a nivel internacional en la investigación de Dold et al. (2013), quien estudió el fenómeno del DAR en la Antártica, exactamente en la Isla del Rey Jorge y la Encalada Cardozo, dicha investigación demostró la cobertura o la amplitud que el DAR puede llegar abarcar, contaminando las áreas superficiales por donde discurre el drenaje y expandiéndose hacia áreas adyacentes, afectando así el ecosistema y/o el paisaje. A nivel nacional se ha observado esta situación en la investigación de Grande et al. (2019) quien determinó que el retroceso glaciar de áreas cercanas a la Cordillera Blanca ha dejado grandes cantidades de material sulfuroso expuesto a condiciones atmosféricas, los cuales al oxidarse naturalmente han contribuido a la degradación de la red fluvial y ecosistemas de montaña del río Negro a través de fallas, por otro lado, Santofimia et al. (2017), quién estudio la generación del DAR en el entorno del nevado Pastoruri, ha encontrado que la expansión del DAR ha provocado la contaminación de aproximadamente el 50% de lagunas, manantiales y humedales ubicados en la cabecera de cuenca del Río Pachacoto.

Por lo tanto, los sitios cercanos al DAR con un impacto visual menos evidente, presentan altas concentraciones de metales producto de la expansión del DAR, soportado en las investigaciones antes mencionadas, las cuales guardan relación con lo hallado en los resultados del objetivo específico 1. Además, los metales analizados son relevantes para las siguientes fases de la presente investigación, ya que se encuentran superando límites establecidos en normativas nacionales e internacionales.

En función al desarrollo del **objetivo específico 2**

“Identificar tres especies de plantas altoandinas en la zona de estudio y determinar su potencial fitorremediador”

Los resultados nos muestran que *Baccharis buxifolia* y *Lupinus* spp. presentaron capacidad de acumular efectivamente Cu, Fe y Zn, mientras que, para Mn y Al se consideraron como excluidoras de dichos metales. Con respecto a

Calamagrostis spp., *Paranephelium ovatus* y *Werneria nubigena*, estas presentaron capacidad de acumular efectivamente Al, Cu, Fe, Mn y Zn en sus tejidos. Por consiguiente, en función a la capacidad fitorremediadora de las cinco especies vegetales altoandinas colectadas en la primera visita a la Quebrada Cayesh se determinó que *Calamagrostis* spp., *Paranephelium ovatus* y *Werneria nubigena* serían utilizadas en la siguiente fase del experimento. Ante los resultados descritos se discute lo siguiente:

En distintos lugares dentro de Huaraz se llevaron a cabo estudios con el fin de identificar plantas altoandinas con capacidad de acumular metales en sus tejidos, tal es el caso de Palomino Cadenas (2007); Miguel et al. (2013); Loayza Muro (2014); Jara-Peña et al. (2017); Chang Kee et al. (2018); Torres Saavedra (2018) y Luna Solano (2018) habiéndose identificado alrededor de 17 plantas (**Tabla 6**) con el potencial de ser utilizadas en sistemas de fitorremediación que hagan frente a fuentes de contaminación como el drenaje ácido de roca y/o el drenaje ácido de mina. Cuatro especies estudiadas por dichos investigadores fueron utilizadas en la presente investigación debido a que se encontraron en el área de estudio.

Para el caso de ***Baccharis buxifolia*** y ***Lupinus* spp.** no fueron elegidas para la siguiente fase del experimento debido a que ambas presentaron factores de bioacumulación radicular y aérea menor a uno para Mn y Al, es decir, que ambas plantas fueron categorizadas como “excluseras” de dichos metales, esta situación no se observó en ninguna de las otras plantas colectadas, por lo que fue determinante para la elección de las plantas con mayor potencial fitorremediador. Los resultados obtenidos en estas dos plantas fueron observados también en la investigación de Loayza Muro (2014) quien tras comparar la capacidad fitorremediadora en Al, Cu, Fe, Mn y Zn de cinco plantas altoandinas colectadas en el Río Quillcayhuanca, Río Shallap y Laguna Shallap (Huaraz), determinó que ***Lupinus* spp.** no acumulaba efectivamente ninguno de los metales analizados en sus tejidos (aéreo y radicular), mientras que ***Baccharis* spp.** no acumulaba efectivamente Al, Fe y Mn en sus tejidos.

Para el caso de ***Werneria nubigena*** se obtuvieron factores de traslocación mayores a uno en todos los metales (excepto Mn), esto quiere decir que dicha planta tiene el potencial de ser clasificada como fitoextractora de Al, Cu, Fe y Zn, lo cual se corroboró debido a que sus factores de bioacumulación aérea fueron mayores a uno para dichos metales; por otro lado, se obtuvo un factor de traslocación menor a uno para Mn, lo que permite clasificar a esta planta como potencial fitoestabilizadora de este metal, esto se verificó ya que su factor de bioacumulación radicular para dicho metal fue mayor a uno; además, esta planta presentó valores mayores a uno en el factor de bioacumulación radicular de todos los metales analizados, lo que quiere decir que también tiene capacidad de acumular efectivamente dichos metales en su tejido radicular. Estos resultados encuentran soporte en investigaciones como la de Chang Kee et al. (2018), quien colectó nueve especies de plantas altoandinas con potencial

fitorremediador y las propagó en suelo contaminado por drenaje ácido de mina, al finalizar su experimento determinó que **Werneria nubigena** obtuvo el mayor valor en cuanto factores de bioacumulación aérea para Cd (1.92), Cu (1.20), Ni (6.50) y Zn (3.50). Además, Loayza Muro (2014), colectó muestras de esta planta en el Río Shallap (Huaraz) y logró determinar que **Werneria nubigena** tiene la capacidad de acumular Cu, Mn y Zn en sus tejidos vegetales, indistintamente de ser raíz o parte aérea.

Para el caso de **Calamagrostis spp.** se obtuvieron factores de traslocación mayores a uno para Cu, Fe y Zn; esto quiere decir que dicha planta tiene el potencial de ser clasificada como fitoextractora de dichos metales, lo cual se corroboró debido a que sus factores de bioacumulación aérea fueron mayores a uno para Cu, Fe y Zn; por otro lado, para Al y Mn se obtuvieron factores de traslocación menores a uno, lo que permite clasificarla como potencial fitoestabilizadora de Al y Mn, esto se verificó ya que el factor de bioacumulación radicular para dichos metales fueron mayores a uno; al igual que con **Werneria nubigena**, esta planta (**Calamagrostis spp.**) obtuvo factores de bioacumulación radicular mayores a uno en todos los metales analizados, es decir, que también acumula efectivamente los metales en su tejido radicular. Si bien es cierto, aún no se ha identificado la especie exacta de la planta colectada, han habido investigaciones que corroboran los resultados obtenidos en plantas del mismo género, tal es el caso de Jara-Peña et al. (2017), quien colectó muestras de **Calamagrostis rígida** en Yanamate, Quiulacocha (humedales en Cerro de Pasco) y Yuracmayo (humedal en Lima) encontrando Cd, Cu, Pb y Zn en sus tejidos, siendo las concentraciones de la parte radicular mayores que las concentraciones de la parte aérea, por otro lado, Miguel et al. (2013) colectó muestras de **Calamagrostis ligulata** en los humedales de Huancapetí y Mesapata (Huaraz), determinando que esta planta tiene la capacidad de bioacumular As, Al, Cd, Fe, Pb y Zn en su parte aérea, por último, Chang Kee et al. (2018), quien colectó muestras de **Calamagrostis recta** en Cátac y determinó que fue la planta con los mayores valores de bioacumulación radicular para Cd (1.09), Cu (1.80) y Ni (1.09).

Para el caso de **Paranephelius ovatus** se obtuvieron factores de traslocación menores a uno para el Al, Cu, Fe y Mn, lo cual nos permite clasificarla como potencial fitoestabilizadora en esos metales, esto fue corroborado ya que la planta obtuvo valores mayores a uno para los factores de bioacumulación radicular en dichos metales; por otro lado, para el Zn se obtuvo un factor de traslocación mayor a uno, lo que la clasifica como potencial fitoextractora de Zn, esto se verificó ya que el factor de bioacumulación aéreo para el Zn fue mayor a uno. Es importante mencionar que **Paranephelius ovatus** es la única de las cinco plantas colectadas que presentó valores mayores a uno en los factores de bioacumulación aérea y radicular para todos los metales analizados, es decir, que es considerada como “acumuladora” de todos estos metales. Además, esta especie vegetal se presenta por primera vez como una especie potencialmente utilizable para fitorremediación en los Andes peruanos.

Después de haber realizado el análisis de los factores de bioacumulación en cada una de las plantas colectadas y tras observar que los resultados obtenidos se alinean con lo hallado por otros investigadores, se determinó que *Calamagrostis* spp., *Paranephelium ovatus* y *Werneria nubigena* presentaron mayor capacidad fitorremediadora, por lo que, fueron colectadas posteriormente para ser utilizadas en el experimento de fitorremediación con biochar en condiciones de invernadero.

En función al desarrollo del **objetivo específico 3**:

“Determinar la dosificación adecuada de biochar para asistir a la fitorremediación de tres especies vegetales altoandinas plantadas en macetas con suelos contaminados por drenaje ácido de roca”

Los resultados nos muestran que los tratamientos con biochar a estudiar en el experimento serían del 0%, 1% y 3%. Además tras los análisis al suelo contaminado por DAR, el cual fue utilizado en el experimento de fitorremediación, se encontraron altas concentraciones de metales y bajos niveles de fertilidad, mientras que el biochar mantuvo parámetros de fertilidad dentro del promedio de la mayoría de las enmiendas orgánicas. En cuanto a los resultados del monitoreo del experimento en invernadero, el biochar sólo influyó significativamente en el pH del sustrato, mientras que, los demás resultados no tuvieron influencia significativa por parte de los factores establecidos. Por otro lado, para los niveles de acumulación de metales, sólo hubieron diferencias significativas por parte del biochar en concentraciones de Cu para *Werneria nubigena* y *Paranephelium ovatus*. Además, el potencial fitorremediador de todas las plantas tuvieron variaciones características en cada especie vegetal y metal analizado. Por último, mediante una comparación del inicio al final del experimento, *Calamagrostis* spp. presentó un aumento significativo de Cu y Al en su parte aérea, mientras que, *Werneria nubigena* y *Paranephelium ovatus* presentaron aumentos significativos de Fe, Mn, Zn y Cu en sus partes radicales. Ante los resultados descritos se discute lo siguiente:

- Producción del biochar y bioensayos de germinación y evaluación del desarrollo de la plántula *Lactuca sativa* L.

Una vez que se realizó la producción del biochar, este fue sometido a los “bioensayos de germinación y evaluación del desarrollo de la plántula *Lactuca sativa* L.”, esta prueba nos permitió descartar la toxicidad del mismo, de una manera rápida y sencilla, ya que esta enmienda sería posteriormente utilizada en el experimento de fitorremediación en invernadero. Cabe mencionar que esta prueba es solicitada según algunos estándares internacionales (Meyer et al. 2015) cuando el biochar es utilizado para mejorar el rendimiento de cultivos y así evitar efectos tóxicos en las plantas, por otro lado, Zheng et al. (2018) expone algunas investigaciones en que el biochar no resultó beneficioso en su aplicación, clasificando estas situaciones por cada contaminante hallado y cómo influyó en el desarrollo del experimento, una de sus conclusiones más

resaltantes fue que se deben proponer varias pruebas biológicas simples y rápidas, como la prueba de germinación y la prueba de evitación de lombrices, propuestas por Major (2011) a través de la Iniciativa Internacional del Biochar para verificar rápidamente la calidad y la seguridad del biochar en aplicaciones prácticas.

Los dos bioensayos de germinación y evaluación del desarrollo de la plántula *Lactuca sativa* L. duraron 10 días cada uno y según los registros de temperatura y humedad relativa se realizaron a condiciones similares. La primera prueba se realizó con dosificaciones del 5%, 10%, 15% y 20%, dosificaciones relativamente altas con respecto a otras investigaciones que buscan determinar toxicidad de una enmienda (Fain Binda, Butti y Torti 2017; Olszyk et al. 2018), se utilizaron dichas dosificaciones en el primer bioensayo ya que además de determinar si el biochar generaba toxicidad o no, se tenía como finalidad obtener un rango de dosificación de biochar a utilizar en el experimento de fitorremediación en invernadero. Los resultados de la primera prueba indican que la dosificación más baja (5%) fue la única que no se ubicó dentro de las categorías de toxicidad para los índices analizados, por lo que se procedió a una segunda prueba disminuyendo los valores de dosificación a 1%, 3%, 5% y 7% de biochar; donde en función a los índices, se observó una proporcionalidad inversa entre la dosificación del biochar y el desarrollo de la radícula de las plántulas de *Lactuca sativa* L., al punto de observar que la dosificación del 7% de biochar se categorizó como "enmienda de baja toxicidad", según el índice de elongación radicular obtenido. Posterior a ello, el análisis de regresión lineal utilizando el índice de Zucconi y las dosificaciones de biochar indicó que a mayor dosificación de biochar, el índice disminuye su valor. Este resultado concuerda con lo hallado por Trujillo Aranda (2017) quien realizó la misma prueba en biochar de gallinaza y pollinaza, siendo las dosificaciones del 3% y 1%, respectivamente, las que generaron índices de Zucconi significativamente mayores con respecto a sus otras dosificaciones (5% y 7%). Por lo tanto, en la presente investigación, se optó por utilizar las dosificaciones de 1% y 3% de biochar en el posterior experimento de fitorremediación, ya que además de determinar que no se encuentran en una categoría de toxicidad, fueron las dosificaciones donde se hallaron las mayores medias del índice de Zucconi, siendo esta una información temprana sobre los posibles efectos que pueda generar la dosificación de este biochar en los objetivos de la investigación.

- Evaluación de la asistencia del biochar en la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales altoandinas.

Una vez realizada la colecta del suelo contaminado por DAR y las especies vegetales altoandinas, estas fueron trasladadas al invernadero del CICTEM, donde se inició el experimento de fitorremediación con dosificaciones de biochar, del cual se obtuvieron resultados producto del monitoreo del suelo y especímenes (pH del sustrato, longitud de raíces, número de raíces y longitud de plantas) del propio experimento.

Se observó que *Paranephelius ovatus* tuvo un incremento significativo del número de raíces con respecto a *Werneria nubigena* (7 y 4, respectivamente), sin importar la dosificación del biochar, es decir, que no hubo diferencias significativas entre los resultados obtenidos a partir de las dosificaciones del biochar, sino que, se encontraron estas diferencias a nivel de especies vegetales; por otro lado, en cuanto al pH evaluado a la muestra de suelo contaminado por DAR y su variación en cada tratamiento tras finalizar el experimento en invernadero se observó que hubo diferencias significativas entre las dosificaciones de biochar (el cuál según su análisis de caracterización tuvo un pH de 8.81), siendo la dosificación del 3% la que generó un mayor aumento del pH en todo el experimento. Los tratamientos sin biochar también tuvieron un aumento del pH con una media de 1.28, es decir que los suelos aumentaron de 3.84 (pH del suelo contaminado por DAR) a aproximadamente 5, mientras que las dosificaciones de biochar lo elevaron en promedio a valores de 5.90 y 6.82 respectivamente. El aumento del pH en los tratamientos sin dosificación de biochar, fueron un indicio de que las especies vegetales estaban acumulando metales en los suelos contaminados por drenaje ácido de roca, ya que, este parámetro es uno de los principales indicadores de la presencia y dinámica de metales en el suelo (Shah y Daverey 2020), por otro lado, estos resultados obtenidos, nos permitieron observar que el biochar utilizado en el experimento, podría estar actuando de manera más significativa con los parámetros físico-químicos (en este caso el pH) que con parámetros biológicos medidos durante el desarrollo del experimento (longitud de planta, longitud de raíces y variación del número de raíces), tal y cómo lo demostró Olszyk et al. (2018), quien tras evaluar la respuesta de cuatro tipos de biochar en la germinación de semillas de zanahoria, lechuga, tomate, cebolla, entre otros cultivos y su posterior desarrollo, determinó que el biochar tuvo efectos más significativos en la mejora del pH, conductividad eléctrica y fósforo en el suelo que en el desarrollo de los cultivos y/o plantas. Por otro lado, Stella Mary et al. (2016) y Suliman et al. (2017) determinaron que a corto plazo el biochar tiene efectos significativos en parámetros físico químicos del suelo, como el pH y/o conductividad eléctrica e inclusive la retención de agua, sin embargo, a largo plazo podrían generarse otros beneficios como el incremento de carbón en el suelo, la mejora de la capacidad de intercambio catiónico y con ella la retención de nutrientes.

No se descarta que los comportamientos característicos de cada planta en cuanto a las mediciones de longitud de raíz, número de raíces y longitud de planta podría estar atribuido también a la propia fisiología de cada especie vegetal y/o el estado del sustrato donde fueron plantadas.

A nivel de la influencia que tuvieron las dosificaciones de biochar en la acumulación de metales por parte de las especies vegetales altoandinas en el suelo contaminado por DAR, este fue evaluado en función a la **acumulación de metales en la parte aérea y radicular de las plantas**, donde se obtuvieron resultados particulares para cada especie vegetal, como a continuación se

discute de manera independiente, ya que no se hallaron referencias de fitorremediación asistida con biochar para las especies vegetales en estudio.

Para el caso de ***Werneria nubigena*** se determinó que el biochar no influyó significativamente en la cantidad de metales acumulados en la parte aérea de la planta, mientras que, en la acumulación de Cu en la parte radicular de las plantas se obtuvieron diferencias significativas entre la dosificación del 1% y 3% de biochar, siendo la dosificación del 1% la que obtuvo una mayor media, cabe mencionar que ambas dosificaciones resultaron no ser significativamente distintas de tratamiento con 0% de biochar, sin embargo, la mayor media obtenida en dicho análisis fue para la dosificación del 1%; con respecto a los demás metales acumulados en la parte radicular no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Se observó, además, que las plantas de ***Werneria nubigena*** utilizadas en el experimento provenían de un suelo con menores concentraciones de metales (a excepción del cobre) y que tras someterse al experimento en invernadero tuvo diferentes comportamientos en cuanto a su acumulación aérea y radicular, esto se pudo visualizar, ya que, el análisis de la "planta colectada" o antes del experimento nos demostró a través de su factor de traslocación, que tenía el potencial fitorremediador de estabilización para Mn, Fe y Zn, mientras que para cobre y aluminio tuvo un potencial extractor y estos variaron tras el experimento, siendo los ejemplo más resaltantes el Fe que cambió de potencial estabilizador en el análisis de la planta previo al experimento a extractor (en los tres tratamiento) tras finalizar el mismo, el caso contrario se vio en Al pasando de potencial extractor a estabilizador.

Para el caso de ***Calamagrostis spp.*** se determinó que el biochar no influyó significativamente en la cantidad de metales acumulados en la planta (parte aérea y radicular), es decir, no se determinaron diferencias significativas entre los tratamientos de 0%, 1% y 3% de dosificación de biochar con respecto a la concentración de metales analizados; por otro lado, se observó que las plantas de ***Calamagrostis spp.*** utilizadas en el experimento provenían de un suelo con menores concentraciones de metales (a excepción del Cu) y que tras someterse al experimento en invernadero tuvo diferentes comportamientos en cuanto a su acumulación aérea y radicular. Esto se pudo visualizar, debido a que el análisis de la "planta colectada" o antes del experimento nos demostró a través de su factor de traslocación, que tenía el potencial de ser *estabilizadora* de los cinco metales, y estos comportamientos variaron tras finalizar el experimento, ya que los análisis finales con respecto a esta planta nos demostraron que a nivel del Cu hubo un cambio de potencial *estabilizador* a potencial *extractor* en los tres tratamientos, lo mismo sucedió para Fe; mientras que, para Zn solo se dio el cambio de *estabilizadora* a *extractora* en la dosificación del 3% de biochar.

Para el caso de ***Paranephelius ovatus*** se determinó que el biochar no influyó significativamente en la cantidad de metales acumulados en la parte radicular de las plantas, mientras que, en la acumulación de Cu en la parte aérea de las plantas se obtuvieron diferencias significativas entre la dosificación del 1% y 3%

de biochar, siendo la de 1% la que obtuvo una mayor media, cabe mencionar que ambas dosificaciones resultaron no ser significativamente distintas de tratamiento con 0% de biochar, sin embargo, la mayor media obtenida en dicho análisis fue para la dosificación del 1%; con respecto a los demás metales acumulados en la parte aérea no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Se observó, además, que las plantas de *Paranephelius ovatus* utilizadas en el experimento provenían de un suelo con menores concentraciones de metales (a excepción del Al) y que tras someterse al experimento en invernadero tuvo diferentes comportamientos en cuanto a su acumulación aérea y radicular. Esto se pudo visualizar, ya que, el análisis de la "planta colectada" o antes del experimento nos demostró a través de su factor de traslocación, que tenía el potencial de ser *extractora* de los cinco metales, y al finalizar el experimento se observó cambio marcados para Mn, donde tras dosificar biochar al 1% y 3%, la planta pasó de tener potencial *extractor* a *estabilizador* de dicho metal, del mismo modo se visualizó un cambio en Zn de potencial *estabilizador* en el tratamiento sin biochar a potencial *extractor* en ambas dosificaciones de biochar.

En general, la dosificación del biochar influyó significativamente en la mejora de los niveles del pH en el suelo contaminado por DAR, donde la dosificación del 3% de biochar logró una mayor media, mientras que, para la acumulación de Cu en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* y la acumulación radicular de Cu en *Werneria nubigena*, la dosificación del 1% de biochar fue significativamente distinta del 3% de biochar, pero no del 0% de biochar, a pesar de presentar la mayor media en ambos casos. Los resultados en cuanto a las dosificaciones de biochar encuentra soporte en investigaciones cómo la de Moore et al. (2017), quien determinó que dosificaciones del 5% y 10% de biochar producido a partir de cáscaras de avena y heces de pollo, respectivamente, disminuyeron la movilidad del Cu en el suelo, lo que estaría relacionado a incrementar la disponibilidad del mismo hacia las plantas; encontró también que la distribución del Cu en el suelo está relacionado a los parámetros físico-químicos del mismo (pH, materia orgánica, CIC), y que el biochar al incrementar dichas propiedades en el suelo, mejora de manera indirecta la inmovilización del cobre. Por otro lado, Zhang et al. (2019) determinó que dosificaciones del 1.5% y 6% de biochar producido a partir de paja de trigo mejoraron la acumulación de Cd en la parte aérea de *Medicago sativa* (alfalfa), sin embargo, estas mejoras no fueron significativamente distintas del tratamiento control; así mismo, Gong et al. (2019) encontró que dosificaciones del 1% de biochar producido a partir de residuos de té mejora la acumulación de Cd en las raíces de *Boehmeria nivea* (tipo de ortiga), esta acumulación fue significativamente mayor a la obtenida para el tratamiento control, mientras que no lo fue para los otros tratamientos (dosificación del 5% y 10% de biochar). Estos últimos investigadores atribuyeron que la mejora en la acumulación del Cd, el crecimiento y desarrollo de las plantas está relacionado a que el biochar mejora la retención de nutrientes y agua en el suelo, por lo que,

los experimentos de este tipo deberían analizarse a largo plazo, ya que una enmienda orgánica podría presentar efectos más notorios al largo plazo.

Por otro lado, se vieron cambios en el factor de traslocación de las plantas y con ello modificaciones en su potencial fitorremediador. Estos cambios podrían atribuirse a que las plantas fueron colocadas en un suelo con mayores concentraciones de metales, sin embargo, como ya se ha detallado en el potencial fitorremediador de cada planta analizada, han habido variaciones muy particulares, ya sea analizándolo desde cada especie vegetal, cada metal y/o cada dosificación del biochar, esto puede darse así debido a que en la fitorremediación, el estado de la planta, la cantidad de nutrientes e inclusive las condiciones meteorológicas influyen en su desarrollo y por ende en la acumulación de metales (Shah y Daverey 2020). Sin embargo, tras la dosificación del biochar se han observado situaciones similares en otras investigaciones como la de Zhang et al. (2019), quien observó que la acumulación de Cd en *M. sativa* (alfalfa) aumentaba en la parte aérea de la planta tras dosificar biochar, mientras que, la acumulación en la parte radicular disminuía tras la dosificación del biochar. Además, estos últimos autores determinaron que la adición de biochar puede alterar o modificar las concentraciones de metales en las plantas, especialmente si se estudian diferentes especies, ya que cada una tendría una respuesta y/o comportamiento distinto.

En función a lo observado con respecto a la dosificación del biochar y pensando en el futuro de la línea de investigación en fitorremediación asistida, debemos tener en consideración que la respuesta del biochar ante la variación del pH en el suelo y la modificación del potencial fitorremediador de las plantas, este podría estar actuando directamente en las características físico-químicas del suelo, tal y como lo menciona Paz Ferreiro et al. (2013), afirmando que la mayoría de biochares tienen la característica común de ser alcalinos y mejoran las condiciones físicas del suelo (reteniendo nutrientes y agua); por lo que, se hace necesario entender e investigar cómo estos parámetros influyen en la eficacia de remediar un suelo contaminado, abarcando el análisis y/o evaluación desde la adsorción del contaminante hasta cómo el biochar influye en el desarrollo completo de una planta. En ese mismo sentido, Sun, Sha y Chunming (2018) mencionan que es importante evaluar las características físico químicas y nutrientes del biochar, ya que estas son las que influyen directamente en la calidad y/o salud del suelo, mejorando así el crecimiento de las plantas, sugieren además, que se deben considerar distintos tipos de residencia y temperaturas en la producción del biochar; buscando desde este punto las condiciones óptimas de producción del biochar y luego interpretarlo en conjunto con la capacidad fitorremediadora de cada planta.

En cuanto al análisis de la variación de las concentración de metales (desde el inicio del experimento hasta el final del mismo), se pudo observar que *Calamagrostis* spp. presentó acumulación de Cu y Al en su parte aérea, la cual

fue significativamente mayor que lo acumulado por *Paranephelium ovatus* y *Werneria nubigena*, este resultado halla soporte en lo encontrado por Miguel et al. (2013) quien colectó muestras de la especie *Calamagrostis* en los humedales de Huancapetí y Mesapata (Huaraz), determinando que esta planta tiene la capacidad de bioacumular As, Al, Cd, Fe, Pb y Zn en su parte aérea. En cuanto a *Paranephelium ovatus* y *Werneria nubigena* se observó que ambas plantas presentaron acumulaciones de Mn, Fe, Zn y Cu en sus partes radiculares, las cuales fueron significativamente mayores a lo acumulado por *Calamagrostis* spp., pero no significativamente distintas entre sí, lo hallado guarda relación con lo obtenido por Loayza Muro (2014), quien colectó muestras de *Werneria nubigena* en el Río Shallap (Huaraz) y logró determinar que dicha planta tiene la capacidad de acumular Cu, Mn y Zn en sus tejidos vegetales, indistintamente de ser raíz o parte aérea, mientras que, lo hallado en *Paranephelium ovatus* no logra ser discutido ya que el análisis de la capacidad de acumulación de metales en esta planta es resgistrado por primera vez. Finalmente, lo que se puede observar de estas tres especies vegetales es que tras ser sembradas en un suelo con mayores concentraciones de metales presentan un respuesta positiva en cuanto la acumulación de ciertos metales, lo que nos permite considerarlas como potenciales especies a utilizar en procesos de fitorremediación.

CONCLUSIONES

- La capacidad fitorremediadora de las especies vegetales altoandinas se ve modificada tras ser expuestas a un suelo con mayor concentración de metales y/o diferentes dosificaciones de biochar. Además, las dosificaciones del biochar modifican las características físico-químicas del suelo; generando así que las plantas en estudio cambien su potencial fitorremediador de estabilizador a extractor o viceversa.
- El bajo nivel de pH hallado en el DAR provoca la lixiviación de metales, los cuales se encuentran en concentraciones mayores a lo establecido en la normativa nacional. El DAR compuesto por metales y su condición ácida generan contaminación del suelo y agua por donde discurre o tiene contacto, llegando afectar también a las áreas adyacentes.
- Las especies vegetales *Calamagrostis* spp. y *Werneria nubigena*, que se encontraron creciendo y desarrollándose en los entornos del área impactada por el DAR presentaron capacidad de acumular efectivamente Al, Cu, Fe, Mn y Zn en sus tejidos radiculares, mientras que en sus tejidos aéreos no presentaron capacidad de acumular efectivamente el Mn, sin embargo, al ser catalogadas como fitoestabilizadoras de dicho metal siguen siendo consideradas como acumuladoras de todos los metales. Para el caso de *Paranephelium ovatus*, las plantas colectadas en el área impactada por DAR presentaron capacidad de acumular efectivamente todos los metales analizados en sus partes aéreas y radiculares.
- La dosificación del 1% de biochar presentó diferencias significativas en la acumulación aérea de Cu en *Paranephelium ovatus* y en la acumulación radicular de Cu en *Werneria nubigena*; en los demás tratamientos planteados en el experimento de invernadero, no hubo diferencias significativas, a pesar de que en la mayoría de casos las plantas con dosificaciones de biochar presentaron las mayores concentraciones de metales en parte aérea y radicular. Por lo que, una dosificación adecuada para asistir a la fitorremediación de las tres especies vegetales altoandinas en estudio no fue determinado mediante diferencias significativas. Esto significa que el efecto de la dosificación de biochar es específico en cada especie para cada uno de los metales analizados.
- *Calamagrostis* spp. presentó acumulación significativamente mayor de Cu y Al en su parte aérea, mientras que, *Paranephelium ovatus* y *Werneria nubigena* presentaron acumulaciones significativamente mayores de Mn, Fe, Zn y Cu en sus parte radiculares.

RECOMENDACIONES

- Realizar el experimento de la evaluación de la capacidad fitorremediadora de *Calamagrostis* spp., *Paranephelius ovatus* y *Werneria nubigena* en invernadero, desde la germinación de las semillas hasta el desarrollo de la planta, con el fin de asegurar que no exista acumulación previa de metales en los tejidos de las plantas al momento de iniciar el experimento.
- Considerar los parámetros físico-químicos del suelo antes y después del experimento, para luego relacionarlos con la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales altoandinas, a fin de determinar qué grado de relación existe entre ambas respuestas y poder mejorar la técnica de fitorremediación.
- Realizar la producción de biochar a diferentes temperaturas y tiempos de residencia para luego aplicarlos en experimentos de fitorremediación, esto con la finalidad de determinar la influencia de los parámetros de producción en la asistencia que el biochar puede generar.
- Evaluar la relación entre las características físico-químicas del biochar, cómo estas influyen en las características del suelo y posteriormente en la capacidad fitorremediadora de las plantas, realizando experimentos a largo plazo y a corto plazo.
- Siendo los ecosistemas de montaña muy sensibles a los efectos del cambio climático, se recomienda la promoción e incentivo al desarrollo de investigaciones relacionadas a la fitorremediación como herramienta alternativa para el tratamiento de sitios contaminados por drenaje ácido y metales pesados, para evitar la expansión de contaminantes hacia ecosistemas terrestres y acuáticos que con el tiempo llegará a afectar a la salud ambiental y de la población andina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-SALAM, A.A., SALEM, H.M., ABDEL-SALAM, M.A. y SELEIMAN, M.F., 2015. Phytochemical Removal of Heavy Metal-Contaminated Soils. En: I. SHERAMETI y A. VARMA (eds.), *Heavy Metal Contamination of Soils: Monitoring and Remediation*. S.l.: Springer, ISBN 9783319145259.
- AGBLEVOR, F.A., BEIS, S., KIM, S.S., TARRANT, R. y MANTE, N.O., 2010. Biocrude oils from the fast pyrolysis of poultry litter and hardwood. *Waste Management* [en línea], vol. 30, no. 2, pp. 298-307. ISSN 0956053X. DOI 10.1016/j.wasman.2009.09.042. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2009.09.042>.
- AL-WABEL, M.I., RAFIQUE, M.I., AHMAD, Mahtab, AHMAD, Munir, HUSSAIN, A. y USMAN, A.R.A., 2018. Pyrolytic and hydrothermal carbonization of date palm leaflets: Characteristics and ecotoxicological effects on seed germination of lettuce. *Saudi Journal of Biological Sciences*, ISSN 1319562X. DOI 10.1016/j.sjbs.2018.05.017.
- ANA, 2016. Protocolo nacional para el monitoreo de la calidad de los recursos hídricos superficiales. [en línea]. S.l.: Disponible en: https://www.ana.gob.pe/sites/default/files/normatividad/files/r.j._010-2016-ana_0.pdf.
- ARÉVALO DE GAUGGEL, G. y CASTELLANO, M., 2009. Manual Fertilizantes y Enmiendas. [en línea]. El Zamorano: Disponible en: https://www.se.gob.hn/media/files/media/Modulo_6_Manual_Fertilizantes_y_Enmiendas..pdf.
- ARIAS MARTINEZ, S.A., BETANCUR TORO, F.M., GÓMEZ ROJAS, G., SALAZAR GIRALDO, J.P. y HERNÁNDEZ ÁNGEL, M.L., 2010. Fitorremediación con humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales porcinas. *Informador Técnico*, vol. 74, pp. 12-22.
- ATSDR, 2000. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. [en línea]. [Consulta: 7 agosto 2020]. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/>.
- AVELINO CARHUARICRA, C.G., 2013. *Eficacia de la fitoextracción para la remediación de suelos contaminados en villa de Pasco* [en línea]. Callao: UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO, 2013. Disponible en: <http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/UNAC/459/T.M.378.A91.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- BAGUR-GONZÁLEZ, M.G., ESTEPA-MOLINA, C., MARTÍN-PEINADO, F. y MORALES-RUANO, S., 2011. Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal(loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site. *Journal of Soils and Sediments*, vol. 11, no. 2, pp. 281-289. ISSN 14390108. DOI 10.1007/s11368-010-0285-4.
- BEESELY, L., MORENO-JIMÉNEZ, E., GOMEZ-EYLES, J.L., HARRIS, E., ROBINSON, B. y SIZMUR, T., 2011. A review of biochars' potential role in

- the remediation, revegetation and restoration of contaminated soils. *Environmental Pollution* [en línea], vol. 159, no. 12, pp. 3269-3282. ISSN 02697491. DOI 10.1016/j.envpol.2011.07.023. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2011.07.023>.
- BENIGNO VEGA, R.E., 2018. *Evaluación de fitoextracción por Chenopodium ambrosioides y Trifolium repens de zinc y plomo del relave de la planta concentradora de minerales "Santa Rosa de Jangas", 2017* [en línea]. Huaraz: Universidad Nacional Santiago Antunez de Mayolo, 2018. Disponible en: http://repositorio.unasam.edu.pe/bitstream/handle/UNASAM/2446/T033_74803416_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- BENITEZ, C.G., PECE, M.G. y GALINDEZ, M.J. de, 2010. Análisis de la Varianza en Experimentos Factoriales: Cátedra de Estadística Forestal. *Apuntes de la Cátedra de Estadística* [en línea]. Santiago del Estero: Disponible en: <http://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/sd-21-estadistica.pdf>.
- BRITANNICA, 2020. Metal chemistry. [en línea]. [Consulta: 31 julio 2020]. Disponible en: <https://www.britannica.com/science/metal-chemistry>.
- BRUUN, E.W., AMBUS, P., EGSGAARD, H. y HAUGGAARD-NIELSEN, H., 2012. Effects of slow and fast pyrolysis biochar on soil C and N turnover dynamics. *Soil Biology and Biochemistry* [en línea], vol. 46, no. August 2014, pp. 73-79. ISSN 00380717. DOI 10.1016/j.soilbio.2011.11.019. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.11.019>.
- BRUUN, E.W., HAUGGAARD-NIELSEN, H., IBRAHIM, N., EGSGAARD, H., AMBUS, P., JENSEN, P.A. y DAM-JOHANSEN, K., 2011. Influence of fast pyrolysis temperature on biochar labile fraction and short-term carbon loss in a loamy soil. *Biomass and Bioenergy* [en línea], vol. 35, no. 3, pp. 1182-1189. ISSN 09619534. DOI 10.1016/j.biombioe.2010.12.008. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.12.008>.
- BUSS, W., GRAHAM, M.C., SHEPHERD, J.G. y MAŠEK, O., 2016. Risks and benefits of marginal biomass-derived biochars for plant growth. *Science of the Total Environment*, vol. 569-570, pp. 496-506. ISSN 18791026. DOI 10.1016/j.scitotenv.2016.06.129.
- CANABARRO, N., SOARES, J.F., ANCHIETA, C.G., KELLING, C.S. y MAZUTTI, M. a, 2013. Thermochemical processes for biofuels production from biomass. *Sustainable Chemical Processes* [en línea], vol. 1, no. 1, pp. 22. ISSN 2043-7129. DOI 10.1186/2043-7129-1-22. Disponible en: <http://www.sustainablechemicalprocesses.com/content/1/1/22>.
- CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT, 2007. *Canadian Soil Quality Guidelines for the Protection of Environmental and Human Health Total*. 2007. Canadá: s.n. ISBN 1-896997-34-1.
- CASTAÑEDA, W., 2019. Valorización de los residuos sólidos municipales, agropecuarios y forestales. . Lima:

- CEDERLUND, H., BÖRJESSON, E. y STENSTRÖM, J., 2017. Effects of a wood-based biochar on the leaching of pesticides bentazone, chlorpyrifos, diuron, glyphosate and MCPA. *Journal of Environmental Management*, vol. 191, pp. 28-34. ISSN 10958630. DOI 10.1016/j.jenvman.2017.01.004.
- CHANG KEE, J., GONZALES, M.J., PONCE, O., RAMÍREZ, L., LEÓN, V., TORRES, A., CORPUS, M. y LOAYZA-MURO, R., 2018. Accumulation of heavy metals in native Andean plants: potential tools for soil phytoremediation in Ancash (Peru). *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, no. 34, pp. 33957-33966. ISSN 16147499. DOI 10.1007/s11356-018-3325-z.
- CHIBUEZE, C., CHIOMA, A. y CHIKERE, B., 2016. Bioremediation techniques – classification based on site of application : principles , advantages , limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, ISSN 1573-0972. DOI 10.1007/s11274-016-2137-x.
- CINCIA, 2018. Producción y utilización del biocarbón en Madre de Dios. [en línea]. S.l.: Disponible en: http://cincia.wfu.edu/wp-content/uploads/Nota-Técnica_Biochar-1.pdf.
- CORNEJO ESCURRA, D.W., 2016. “Mejoramiento de la calidad de suelos contaminados con Fracción de hidrocarburos F2 a partir de la fitorremediación empleando la *Typha latifolia* (Totorá) y biocarbón”. S.l.: UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO.
- CORPUS QUIROZ, M.Y., 2018. *Eficiencia de especies altoandinas como plantas fitorremediadoras de suelos contaminados con metales pesados provenientes de la planta concentradora de minerales Santa Rosa de Jangas, en condiciones de invernadero, 2015-2016*. Huaraz: UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO, 2018.
- CUEVAS DÍAZ, M., ESPINOZA REYES, F., ILIZALITURRI HERNÁNDEZ; CÉSAR y MENDOZA CANTÚ, A., 2015. *Métodos ecotoxicológicos para la evaluación de suelos contaminados con hidrocarburos*. S.l.: s.n. ISBN 9786077908623.
- DAN, T.V., 2001. *Phytoremediation of metal contaminated soils: Metal tolerance and metal accumulation in Pelargonium sp. (Tesis de doctorado)* [en línea]. Ottawa: University of Guelph, 2001. Disponible en: <https://www.collectionscanada.gc.ca/obj/s4/f2/dsk3/ftp04/NQ58302.pdf>.
- DOLD, B., AGUILERA, A., CISTERNAS, M.E., BUCCHI, F. y AMILS, R., 2013. Acid Rock Drainage and Rock Weathering in Antarctica: Important Sources for Iron Cycling in the Southern Ocean. *Environmental, Science & Technology*, DOI 10.1021/es305141b.
- DUEÑAS SALAS, J., 2015. *Evaluación de la capacidad fitorremediadora de *Inga edulis* mart., en una área degradada por minería aurífera en el distrito Inambari, provincia Tambopata, región de Madre de Dios* [en línea]. Puerto Maldonado: UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZÓNICA DE MADRE DE DIOS, 2015. Disponible en:

<http://repositorio.unamad.edu.pe/bitstream/handle/UNAMAD/117/004-2-3-040.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

- EUROFINS, 2014. Analyse of biochar produced in KON-TIKI. [en línea]. Freiberg, Germany: Disponible en: https://www.ithaka-institut.org/ithaka/media/doc/Kon-Tiki-II_EBC-Analyse.pdf.
- FAIN BINDA, F., BUTTI, M. y TORTI, M.J., 2017. INDICE DE GERMINACION COMO INDICADOR DE MADUREZ EN COMPOST DE RESIDUOS DE INCUBACION. *Avicultura* [en línea], vol. 10, no. 37, pp. 54-57. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/indice_de_germinacion_como_indicador_de_madurez_en_compost_de_residuos_de_incubacion.pdf.
- FEIGE GAULT, K.B., GAMMON, P. y FORTIN, D., 2015. A geochemical characterization of cold-water natural acid rock drainage at the Zn – Pb XY deposit , Yukon , Canada. *Applied Geochemistry* [en línea], ISSN 0883-2927. DOI 10.1016/j.apgeochem.2015.06.003. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeochem.2015.06.003>.
- FOW ESTEVES, A.J. y CAMINO TENORIO, V.B., 2018. Procesos de producción y aplicación del biochar. En: PERMUSA S.C. (ed.), *CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN MULTIDISCIPLINARIO* [en línea]. Guanajuato: Universidad Centro de Estudios Cortázar, pp. 8106-8133. Disponible en: <http://www.congresoucec.com.mx/documentos/Memoria3.pdf>.
- GAJIĆ, A., RAMKE, H.G., HENDRICKS, A. y KOCH, H.J., 2012. Microcosm study on the decomposability of hydrochars in a Cambisol. *Biomass and Bioenergy*, vol. 47, no. 0, pp. 250-259. ISSN 1873-2909. DOI 10.1016/j.biombioe.2012.09.036.
- GARLAPALLI, R.K., WIRTH, B. y REZA, M.T., 2016. Pyrolysis of hydrochar from digestate: Effect of hydrothermal carbonization and pyrolysis temperatures on pyrochar formation. *Bioresource Technology*, vol. 220, pp. 168-174. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2016.08.071.
- GASCÓ, G., CELY, P., PAZ-FERREIRO, J., PLAZA, C. y MÉNDEZ, A., 2016. Relation between biochar properties and effects on seed germination and plant development. *Biological Agriculture and Horticulture*, vol. 32, no. 4, pp. 237-247. ISSN 01448765. DOI 10.1080/01448765.2016.1166348.
- GELARDI, D.L., LI, C. y PARIKH, S.J., 2019. An emerging environmental concern: Biochar-induced dust emissions and their potentially toxic properties. *Science of the Total Environment* [en línea], vol. 678, pp. 813-820. ISSN 18791026. DOI 10.1016/j.scitotenv.2019.05.007. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.007>.
- GEORGE, C., WAGNER, M., KÜCKE, M. y RILLIG, M.C., 2012. Divergent consequences of hydrochar in the plant-soil system: Arbuscular mycorrhiza, nodulation, plant growth and soil aggregation effects. *Applied Soil Ecology* [en línea], vol. 59, pp. 68-72. ISSN 09291393. DOI

- 10.1016/j.apsoil.2012.02.021. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.02.021>.
- GONG, X., HUANG, D., LIU, Y., ZENG, G., CHEN, S., WANG, R., XU, P., CHENG, M., ZHANG, C. y XUE, W., 2019. Biochar facilitated the phytoremediation of cadmium contaminated sediments : Metal behavior , plant toxicity , and microbial activity. *Science of the Total Environment* [en línea], vol. 666, pp. 1126-1133. ISSN 0048-9697. DOI 10.1016/j.scitotenv.2019.02.215. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.215>.
- GONZÁLES MIRANDA, M.I., 2016. *Mejoramiento de la fitoextracción en plantas nativas en suelos contaminados por actividades mineras en Puchuncaví y Quintero (Tesis doctoral)* [en línea]. Barcelona: UNIVERSITAT DE BARCELONA. Disponible en:
http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/113002/1/MIGM_TESIS.pdf.
- GOTELLI, N.J. y ELLISON, A.M., 2013. *A Primer of Ecological Statistics - Second Edition* [en línea]. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. ISBN 9781605350646. Disponible en: www.sinauer.com.
- GOYAL, H.B., SEAL, D. y SAXENA, R.C., 2008. Bio-fuels from thermochemical conversion of renewable resources: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 12, no. 2, pp. 504-517. ISSN 13640321. DOI 10.1016/j.rser.2006.07.014.
- GRANDE, J.A., LOAYZA-MURO, R., ALONSO-CHAVES, F.M., FORTES, J.C., WILLEMS, B. y SARMIENTO, A.M., 2019. The Negro River (Ancash-Peru): A unique case of water pollution , three environmental scenarios and an unresolved issue. *Science of the Total Environment* [en línea], vol. 648, pp. 398-407. ISSN 0048-9697. DOI 10.1016/j.scitotenv.2018.08.068. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.068>.
- GUERRA LAURA, P.A., 2015. *Producción y caracterización de Biochar a partir de la biomasa residual de sistemas agroforestales y de agricultura convencional en la Amazonía Peruana (Tesis de titulación)* [en línea]. Lima: UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA, 2015. Disponible en:
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1895/Q70.G84-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- HARSONO, S.S., GRUNDMANN, P. y SIAHAAN, D., 2015. Role of Biogas and Biochar Palm Oil Residues for Reduction of Greenhouse Gas Emissions in the Biodiesel Production. *Energy Procedia* [en línea], vol. 65, pp. 344-351. ISSN 18766102. DOI 10.1016/j.egypro.2015.01.063. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.egypro.2015.01.063>.
- HERATH, I., KUMARATHILAKA, P., AL-WABEL, M.I., ABDULJABBAR, A., AHMAD, M., USMAN, A.R.A. y VITHANAGE, M., 2016. Mechanistic modeling of glyphosate interaction with rice husk derived engineered biochar. *Microporous and Mesoporous Materials* [en línea], vol. 225, no. January, pp. 280-288. ISSN 13871811. DOI

- 10.1016/j.micromeso.2016.01.017. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.micromeso.2016.01.017>.
- HIRZEL, J. y SALAZAR, F., 2011. Uso de enmiendas orgánicas como fuente de fertilización en cultivos. *Curso de acreditación para operadores SIRSD 2011: Técnicas de conservación de suelos, agua y vegetación en territorios degradados*. [en línea]. Bío Bío: Disponible en:
http://biblioteca.inia.cl/medios/raihuen/Descargas/cap_05_enmiendas_organicas.pdf.
- HOSSAIN, M.K., STREZOV, V., YIN CHAN, K. y NELSON, P.F., 2010. Agronomic properties of wastewater sludge biochar and bioavailability of metals in production of cherry tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Chemosphere* [en línea], vol. 78, no. 9, pp. 1167-1171. ISSN 00456535. DOI 10.1016/j.chemosphere.2010.01.009. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.01.009>.
- HOSSAIN, M.K., STREZOV VLADIMIR, V., CHAN, K.Y., ZIOLKOWSKI, A. y NELSON, P.F., 2011. Influence of pyrolysis temperature on production and nutrient properties of wastewater sludge biochar. *Journal of Environmental Management* [en línea], vol. 92, no. 1, pp. 223-228. ISSN 03014797. DOI 10.1016/j.jenvman.2010.09.008. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.09.008>.
- HUAMÁN DE LA CRUZ, G.D., 2018. *Evaluación de las potencialidades de los microorganismos asociados a plantas altoandinas para procesos de biorremediación, Punta Olímpica - Parque Nacional Huascarán – 2016* [en línea]. Huaraz: UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO, 2018. Disponible en:
http://repositorio.unasam.edu.pe/bitstream/handle/UNASAM/2449/T033_74169385_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- HUANG, D., LIU, L., ZENG, G., XU, P., HUANG, C., DENG, L., WANG, R. y WAN, J., 2017. The effects of rice straw biochar on indigenous microbial community and enzymes activity in heavy metal-contaminated sediment. *Chemosphere*, vol. 174, pp. 545-553. ISSN 00456535. DOI 10.1016/j.chemosphere.2017.01.130.
- HUANG, H., YAO, W., LI, R., ALI, A., DU, J., GUO, D., XIAO, R., GUO, Z., ZHANG, Z. y AWASTHI, M.K., 2017. Effect of pyrolysis temperature on chemical form, behavior and environmental risk of Zn, Pb and Cd in biochar produced from phytoremediation residue. *Bioresour. Technol.* [en línea], ISSN 0960-8524. DOI 10.1016/j.biortech.2017.10.020. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.10.020>.
- HUFF, M.D., KUMAR, S. y LEE, J.W., 2014. Comparative analysis of pinewood, peanut shell, and bamboo biomass derived biochars produced via hydrothermal conversion and pyrolysis. *Journal of Environmental Management* [en línea], vol. 146, pp. 303-308. ISSN 10958630. DOI 10.1016/j.jenvman.2014.07.016. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.07.016>.

- IBI, 2010. New England Biochar - Designing, building and marketing a biochar unit. [en línea]. [Consulta: 28 octubre 2019]. Disponible en: <https://biochar-international.org/Newenglandbiochar/>.
- IBI, 2015. *Standardized product definition and product testing Guidelines for Biochar that is used in soil* [en línea]. 2015. S.l.: s.n. Disponible en: http://www.biochar-international.org/sites/default/files/Guidelines_for_Biochar_That_Is_Used_in_Soil_Final.pdf.
- IBI, 2018. Biochar Production Technologies. *Biochar production systems are generally classified as either pyrolysis or gasification systems*. [en línea]. [Consulta: 28 octubre 2019]. Disponible en: <https://biochar-international.org/biochar-production-technologies/>.
- IGLESIAS ABAD, S.F., 2018. *Aplicación de biochar a partir de biomasa residual de eucalipto para evaluar la productividad con maíz en el austro ecuatoriano (Tesis doctoral)* [en línea]. Lima: UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA, 2018. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3394/iglesias-abad-sergio-fernando.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- INAIGEM, 2018. Inventario Nacional de Glaciares - Las Cordilleras Glaciares del Perú. [en línea]. Huaraz: Disponible en: <https://www.inaigem.gob.pe/wp-content/uploads/2019/04/INVENTARIO-NACIONAL-DE-GLACIARES--LAS-CORDILLERAS-GLACIARES-DEL-PERU.pdf>.
- INYANG, M., GAO, B., PULLAMMANAPPALLIL, P., DING, W. y ZIMMERMAN, A.R., 2010. Biochar from anaerobically digested sugarcane bagasse. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 101, no. 22, pp. 8868-8872. ISSN 09608524. DOI 10.1016/j.biortech.2010.06.088. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.088>.
- IPCC, 2014. Climate change 2014: impacts, adaptation and vulnerability. . S.l.: s.n., pp. 2014.
- ITHAKA INSTITUTE, 2014. Kon-Tiki - Producción de biochar. [en línea]. [Consulta: 28 octubre 2019]. Disponible en: <https://www.ithaka-institut.org/de/ct/101-Kon-Tiki-----Die-Demokratisierung-der-Pflanzenkohle-Produktion>.
- JARA-PEÑA, E., GÓMEZ, J., MONTOYA, H., SÁNCHEZ, T., TAPIA, L., CANO, N. y DEXTRE, A., 2017. Accumulation of heavy metals in *Calamagrostis rigida* quitense Kunth (Haloragaceae) evaluated in four high Andean wetlands of Peru. *ArnaldoA* [en línea], vol. 24, no. 2, pp. 583-598. DOI 10.22497/arnaldoa.242.24210. Disponible en: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24210>.
- JIANG, T.Y., JIANG, J., XU, R.K. y LI, Z., 2012. Adsorption of Pb(II) on variable charge soils amended with rice-straw derived biochar. *Chemosphere*, vol. 89, no. 3, pp. 249-256. ISSN 00456535. DOI

10.1016/j.chemosphere.2012.04.028.

- JIN, J., KANG, M., SUN, K., PAN, Z., WU, F. y XING, B., 2016. Properties of biochar-amended soils and their sorption of imidacloprid, isoproturon, and atrazine. *Science of the Total Environment* [en línea], vol. 550, pp. 504-513. ISSN 18791026. DOI 10.1016/j.scitotenv.2016.01.117. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.117>.
- JONES, D.L., EDWARDS-JONES, G. y MURPHY, D. V., 2011. Biochar mediated alterations in herbicide breakdown and leaching in soil. *Soil Biology and Biochemistry* [en línea], vol. 43, no. 4, pp. 804-813. ISSN 00380717. DOI 10.1016/j.soilbio.2010.12.015. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.12.015>.
- KALDERIS, D., TSUCHIYA, S., PHILLIPOU, K., PASCHALIDOU, P., PASHALIDIS, I., TASHIMA, D. y TSUBOTA, T., 2020. Utilization of pine tree biochar produced by flame-curtain pyrolysis in two non-agricultural applications Dimitrios. *Bioresource Technology Reports* [en línea], pp. 100384. ISSN 2589-014X. DOI 10.1016/j.biteb.2020.100384. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100384>.
- KIM, K.H., KIM, J.Y., CHO, T.S. y CHOI, J.W., 2012. Influence of pyrolysis temperature on physicochemical properties of biochar obtained from the fast pyrolysis of pitch pine (*Pinus rigida*). *Bioresource Technology* [en línea], vol. 118, no. October, pp. 158-162. ISSN 09608524. DOI 10.1016/j.biortech.2012.04.094. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.094>.
- KIM, R.-Y., YOON, J.K., KIM, T.-S., YANG, J.E., OWENS, G. y KIM, K.-R., 2015. Bioavailability of heavy metals in soils : definitions and practical implementation — a critical review Bioavailability of heavy metals in soils : definitions and practical implementation — a critical review. *Environmental Geochemistry and Health*, no. April. DOI 10.1007/s10653-015-9695-y.
- KRUSE, A., FUNKE, A. y TITIRICI, M.M., 2013. Hydrothermal conversion of biomass to fuels and energetic materials. *Current Opinion in Chemical Biology* [en línea], vol. 17, no. 3, pp. 515-521. ISSN 13675931. DOI 10.1016/j.cbpa.2013.05.004. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.05.004>.
- KUMAR GAUTAM, P., KUMAR GAUTAM, R., CHATTOPAGHYAYA, M.C. y PANDEY, J.D., 2016. Heavy metals in the environment: Fate, transport, toxicity and remediation technologies. *Heavy Metals in the Environment*. Deepak Pat. Allahabad, India: Nava Science, ISBN 9781634847407.
- KURAMSHINA, N.G., KURAMSHIN, E.M., NIKOLAEVA, S. V. y IMASHEV, Y.B., 2014. The biogeochemical characteristics of the content of heavy metals in soil , plants and animals in different natural areas of Bashkortostan. *Journal of Geochemical Exploration* [en línea], pp. 1-4. ISSN 0375-6742. DOI 10.1016/j.gexplo.2014.01.027. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2014.01.027>.

- LEHMANN, J., 2009. Testimony of Dr. Johannes Lehmann Cornell University, Ithaca, NY, USA Before - Biochar for sustainable carbon sequestration and global soil enhancement. *Committee on Energy Independence and Global Warming*. Washington, DC:
- LEHMANN, J., GAUNT, J. y RONDON, M., 2006. Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems - A review. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, vol. 11, no. 2, pp. 403-427. ISSN 13812386. DOI 10.1007/s11027-005-9006-5.
- LEHMANN, J. y JOSEPH, S., 2009. Biochar for environmental management : An introduction. *Biochar for Environmental Management - Science and Technology*, vol. 1, pp. 1-12. ISSN 13899341. DOI 10.1016/j.forpol.2009.07.001.
- LEÓN MENACHO, V.A., 2017. *Capacidad fitorremediadora de especies altoandinas para suelos contaminados por metales pesados procedentes de la compañía minera Lincuna S.A.C., en condiciones de invernadero, 2015-2016* [en línea]. Huaraz: UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO, 2017. Disponible en: <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/1900>.
- LI, F., FENG, D., DENG, H., YU, H. y GE, C., 2016. Effects of Biochars Prepared from Cassava Dregs on Sorption Behavior of Ciprofloxacin. *Procedia Environmental Sciences* [en línea], vol. 31, pp. 795-803. ISSN 18780296. DOI 10.1016/j.proenv.2016.02.076. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.proenv.2016.02.076>.
- LI, N., YIN, M., TSANG, D.C.W., YANG, S., LIU, J., LI, X., SONG, G. y WANG, J., 2019. Mechanisms of U (VI) removal by biochar derived from Ficus microcarpa aerial root : A comparison between raw and modified biochar. *Science of the Total Environment* [en línea], vol. 697. ISSN 0048-9697. DOI 10.1016/j.scitotenv.2019.134115. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134115>.
- LIU, L., LI, W., SONG, W. y GUO, M., 2018. Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils : Principles and applicability. *Science of the Total Environment* [en línea], vol. 633, pp. 206-219. ISSN 0048-9697. DOI 10.1016/j.scitotenv.2018.03.161. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.161>.
- LOAYZA MURO, R., 2014. Calidad de agua en cabeceras altoandinas en el contexto del cambio climático. [en línea]. Huaraz: Disponible en: http://siar.minam.gob.pe/ancash/sites/default/files/archivos/public/docs/nota_tecnica_02.pdf.
- LOAYZA MURO, R., 2018. Servicio para el diseño de humedales artificiales con fines de investigación para la biorremediación de aguas contaminadas con Drenaje Ácido de Rocas (DAR). . Lima:
- LU, K., YANG, X., SHEN, J., ROBINSON, B., HUANG, H., LIU, D., BOLAN, N., PEI, J. y WANG, H., 2014. Effect of bamboo and rice straw biochars on the

- bioavailability of Cd, Cu, Pb and Zn to *Sedum plumbizincicola*. *Agriculture, Ecosystems and Environment* [en línea], vol. 191, pp. 124-132. ISSN 01678809. DOI 10.1016/j.agee.2014.04.010. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2014.04.010>.
- LUNA SOLANO, E.Y., 2018. *Biorremediación utilizando Distichia muscoides y Calamagrostis glacialis del drenaje ácido de roca proveniente del nevado de Pastoruri – 2015* [en línea]. Huaraz: UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO, 2018. Disponible en: http://repositorio.unasam.edu.pe/bitstream/handle/UNASAM/2226/T033_42590052_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- MADDI, B., VIAMAJALA, S. y VARANASI, S., 2011. Comparative study of pyrolysis of algal biomass from natural lake blooms with lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 102, no. 23, pp. 11018-11026. ISSN 09608524. DOI 10.1016/j.biortech.2011.09.055. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.055>.
- MAHURPAWAR, M., 2015. Effects of heavy metals on human health. *Social Issues and Environmental Problems* [en línea], vol. 0530. ISSN 2350-0530. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/2984/CrisantoRodriguez%2C%20Senen.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- MAJOR, J., 2010. Guidelines on Practical Aspects of Biochar Application to Field Soil in Various Soil Management Systems. [en línea]. S.I.: Disponible en: https://www.biochar-international.org/wp-content/uploads/2018/04/IBI_Biochar_Application.pdf.
- MAJOR, J., 2011. Boletín Técnico de IBI #101. *IBI* [en línea], pp. 1-2. Disponible en: https://www.biochar-international.org/wp-content/uploads/2018/04/Technical_Bulletin_101-spanish.pdf.
- MARK, B.G., FRENCH, A., BARAER, M., CAREY, M., BURY, J., YOUNG, K.R., POLK, M.H., WIGMORE, O., LAGOS, P., CRUMLEY, R., MCKENZIE, J.M., LAUTZ, L., FRENCH, A., BARAER, M., CAREY, M., BURY, J., YOUNG, K.R., POLK, M.H., WIGMORE, O. y LAGOS, P., 2017. Glacier loss and hydro-social risks in the Peruvian Andes. *Global and Planetary Change* [en línea], ISSN 0921-8181. DOI 10.1016/j.gloplacha.2017.10.003. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gloplacha.2017.10.003>.
- MARKS, E.A.N., MATTANA, S., ALCANIZ, J.M., PÉREZ-HERRERO, E. y DOMENE, X., 2016. Gasifier biochar effects on nutrient availability, organic matter mineralization, and soil fauna activity in a multi-year Mediterranean trial. *Agriculture, Ecosystems and Environment* [en línea], vol. 215, pp. 30-39. ISSN 01678809. DOI 10.1016/j.agee.2015.09.004. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2015.09.004>.
- MARTEL VALVERDE, G., TORRES LÁZARO, J.C. y JARA INFANTES, W.H., 2018. Variación del pH en aguas superficiales debido a drenajes ácidos de roca en la subcuenca Quillcay, Huaraz, Ancash. *Revista de Glaciares y Ecosistemas de Montaña* [en línea], vol. 5, pp. 57-68. Disponible en:

- <http://www.inaigem.gob.pe/biblioteca/publicaciones/categoria/Revista>.
- MARTIN, S.M., KOOKANA, R.S., VAN ZWIETEN, L. y KRULL, E., 2012. Marked changes in herbicide sorption-desorption upon ageing of biochars in soil. *Journal of Hazardous Materials* [en línea], vol. 231-232, pp. 70-78. ISSN 03043894. DOI 10.1016/j.jhazmat.2012.06.040. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.06.040>.
- MEDINA MARCOS, K.D. y MONTANO CHÁVEZ, Y.N., 2014. *Determinación del factor de bioconcentración y traslocación de metales pesados en el Juncus arcticus Willd. y Cortaderia rudiusscula Stapf, de áreas contaminadas con el pasivo ambiental minero Alianza - Áncash 2013* [en línea]. Huaraz: UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ATUNEZ DE MAYOLO, 2014. Disponible en: <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/1775?show=full>.
- MÉNDEZ, A., GÓMEZ, A., PAZ-FERREIRO, J. y GASCÓ, G., 2012. Effects of sewage sludge biochar on plant metal availability after application to a Mediterranean soil. *Chemosphere*, vol. 89, no. 11, pp. 1354-1359. ISSN 00456535. DOI 10.1016/j.chemosphere.2012.05.092.
- MENDOZA, D., SALAZAR, K. y BRAVO, L., 2016. *Fitorremediación acuática con Myriophyllum aquaticum para el tratamiento de efluentes generados por pasivos ambientales mineros de Hualgayoc-Cajamarca* [en línea]. Callao: UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO, 2016. Disponible en: <http://repositorio.unac.edu.pe/handle/UNAC/1594>.
- MEYER, S., GENESIO, L., VOGEL, I., SCHMIDT, H.-P., SOJA, G., SOMEUS, E., SHACKLEY, S., VERHEIJEN, F. y GLASER, B., 2015. Biochar Standardization and Legislation Harmonization. *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management*, vol. 25, no. 2, pp. 175-191. ISSN 16486897. DOI 10.3846/16486897.2016.1254640.
- MEYER, S., GLASER, B. y QUICKER, P., 2011. Technical, economical, and climate-related aspects of biochar production technologies: A literature review. *Environmental Science and Technology*, vol. 45, no. 22, pp. 9473-9483. ISSN 0013936X. DOI 10.1021/es201792c.
- MIGUEL, B., EDELL, A., YUPANQUI, E. y PALOMINO, E., 2013. A phytoremediation approach using Calamagrostis ligulata and Juncus imbricatus in Andean wetlands of Peru. *Environ Monit Assess*, pp. 323-334. DOI 10.1007/s10661-012-2552-x.
- MILESI DELAYE, L., BRANCO DE FREITAS MAIA, C., IRIZAR, A. y ANDRIULO, A., 2016. Caracterización de biochars producidos a partir de Miscanthus giganteus y Aspidosperma quebracho - blanco. En: ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA - INTA PERGAMINO (ed.), XXV CONGRESO ARGENTINO DE LA CIENCIA DEL SUELO. Buenos Aires: s.n.,
- MINAM, 2014. Guía para el muestreo de suelos. [en línea]. S.l.: Disponible en: <http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2018/07/GUIA-PARA-EL->

MUESTREO-DE-SUELO.pdf.

- MINAM, 2017. *Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para suelo* [en línea]. 2017. Perú: s.n. Disponible en: <http://www.minam.gob.pe/disposiciones/decreto-supremo-n-011-2017-minam/>.
- MOHAN, D., RAJPUT, S., SINGH, V.K., STEELE, P.H. y PITTMAN, C.U., 2011. Modeling and evaluation of chromium remediation from water using low cost bio-char, a green adsorbent. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 188, no. 1-3, pp. 319-333. ISSN 03043894. DOI 10.1016/j.jhazmat.2011.01.127.
- MOLINA, E., 2002. Análisis de suelos y su interpretación. [en línea]. S.I.: Disponible en: <http://www.infoagro.go.cr/Inforegiones/RegionCentralOriental/Documents/Suelos/SUELOS-AMINOGROWanalisisinterpretacion.pdf>.
- MONCUR, M.C., JAMBOR, J.L., PTACEK, C.J. y BLOWES, D.W., 2009. Mine drainage from the weathering of sulfide minerals and magnetite. *Applied Geochemistry* [en línea], vol. 24, no. 12, pp. 2362-2373. ISSN 0883-2927. DOI 10.1016/j.apgeochem.2009.09.013. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeochem.2009.09.013>.
- MOORE, F., GONZÁLEZ, M., KHAN, N., CURAQUEO, G., SANCHEZ-MONEDERO, M., RILLING, J., MORALES, E., PANICHINI, M., MUTIS, A., JORQUERA, M., MEJIAS, J., HIRZEL, J. y MEIER, S., 2017. Copper immobilization by biochar and microbial community abundance in metal-contaminated soils. *Science of the Total Environment* [en línea], ISSN 0048-9697. DOI 10.1016/j.scitotenv.2017.10.223. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.223>.
- NAVA RUÍZ, C. y MÉNDEZ ARMENTA, M., 2011. Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Arch Neurociencia* [en línea], vol. 16, no. 3, pp. 140-147. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/arcneu/ane-2011/ane113f.pdf>.
- NOVOTNY, E.H., MAIA, C.M.B. de F., CARVALHO, M.T. de M. y MADARI, B.E., 2015. Biochar: Pyrogenic Carbon for Agricultural Use - a Critical Review. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* [en línea], vol. 39, no. 2, pp. 321-344. ISSN 1806-9657. DOI 10.1590/01000683rbc20140818. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832015000200321&lng=en&nrm=iso&tlng=en.
- OGUNDIRAN, M.B., MEKWUNYEI, N.S. y ADEJUMO, S.A., 2018. Compost and biochar assisted phytoremediation potentials of *Moringa oleifera* for remediation of lead contaminated soil. *Environmental Chemical Engineering* [en línea], ISSN 2213-3437. DOI 10.1016/j.jece.2018.03.025. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.03.025>.
- OLANIRAN, A.O., BALGOBIND, A. y PILLAY, B., 2013. Bioavailability of Heavy Metals in Soil : Impact on Microbial Biodegradation of Organic Compounds

- and Possible Improvement Strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, pp. 10197-10228. ISSN 1422-0067. DOI 10.3390/ijms140510197.
- OLMO, M., 2016. Efectos del biochar sobre el suelo , las características de la raíz y la producción vegetal Directores : Rafael Villar Montero y José Antonio Alburquerque. ,
- OLSZYK, D.M., SHIROYAMA, T., NOVAK, J.M. y JOHNSON, M.G., 2018. A rapid-test for screening biochar effects on seed germination. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, vol. 49, no. 16, pp. 2025-2041. ISSN 15322416. DOI 10.1080/00103624.2018.1495726.
- OYUELA LEGUIZAMO, M.A., FERNÁNDEZ GÓMEZ, W.D. y GUTIÉRREZ SARMIENTO, M.C., 2016. Native herbaceous plant species with potential use in phytoremediation of heavy metals , spotlight on wetlands - A review. *Chemosphere*, vol. xxx, pp. 1-18. DOI 10.1016/j.chemosphere.2016.10.075.
- PALOMINO CADENAS, E.J., 2007. *Sistemas de Humedales para la Biorremediación de Drenajes Ácidos de Mina o Roca en Ancash – Perú*. Ancash: UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO, 2007.
- PARBHAKAR-FOX, A. y LOTTERMOSER, B.G., 2015. A critical review of acid rock drainage prediction methods and practices. *MINERALS ENGINEERING* [en línea], ISSN 0892-6875. DOI 10.1016/j.mineng.2015.03.015. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mineng.2015.03.015>.
- PAZ FERREIRO, J., LU, H., FU, S., MÉNDEZ, A. y GASCÓ, G., 2013. Use of phytoremediation and biochar to remediate heavy metal polluted soils : a review. *Solid Earth Discuss*, vol. 5, no. November, pp. 2155-2179. DOI 10.5194/sed-5-2155-2013.
- PNUMA, 2014. *Informe anual de seguridad de 2013-PNUMA* [en línea]. S.l.: s.n. ISBN 9789280733891. Disponible en: https://www.cisco.com/web/offer/gist_ty2_asset/Informe_anual_de_seguridad_de_Cisco_de_2013.pdf.
- POERSCHMANN, J., BASKYR, I., WEINER, B., KOEHLER, R., WEDWITSCHKA, H. y KOPINKE, F.D., 2013. Hydrothermal carbonization of olive mill wastewater. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 133, pp. 581-588. ISSN 09608524. DOI 10.1016/j.biortech.2013.01.154. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.154>.
- QIAN, K., KUMAR, A., ZHANG, H., BELLMER, D. y HUHNKE, R., 2015. Recent advances in utilization of biochar. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [en línea], vol. 42, pp. 1055-1064. ISSN 1364-0321. DOI 10.1016/j.rser.2014.10.074. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.10.074>.

- QIAN, T., ZHANG, X., HU, J. y JIANG, H., 2013. Effects of environmental conditions on the release of phosphorus from biochar. *Chemosphere*, vol. 93, no. 9, pp. 2069-2075. ISSN 00456535. DOI 10.1016/j.chemosphere.2013.07.041.
- RAI, P.K., LEE, S.S., ZHANG, M., TSANG, Y.F. y KIM, K.H., 2019. Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. *Environment International* [en línea], vol. 125, no. January, pp. 365-385. ISSN 18736750. DOI 10.1016/j.envint.2019.01.067. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.067>.
- RECHARTE TELLO, F.A., MEJÍA RODRÍGUEZ, R.A. y FAJARDO CUEVAS, V.I., 2018. *Fitorremediación con Ricinus communis para el tratamiento de suelos contaminados con plomo* [en línea]. Callao: Universidad Nacional del Callao, 2018. Disponible en: <http://repositorio.unac.edu.pe/handle/UNAC/2737>.
- REHRAH, D., BANSODE, R.R., HASSAN, O. y AHMEDNA, M., 2015. Physico-chemical characterization of biochars from solid municipal waste for use in soil amendment. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* [en línea], ISSN 01652370. DOI 10.1016/j.jaap.2015.12.022. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2015.12.022>.
- REYES NOLASCO, A.W., 2018. *Contaminación por metales pesados de aguas y suelos en la microcuenca Quillcayhuanca; su relación con la litología y el contexto del cambio climático; Huaraz, Ancash, Perú 2014-2015* [en línea]. Huaraz: UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO, 2018. Disponible en: <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/2381>.
- RIFFO ESTAY, C.A., 2016. *Transferencia de metales pesados Cu , Pb , Zn , Ni , Co y Cr desde un suelo de la comuna de Talcahuano a las plantas Salicornia y Lolium Perenne . (Tesis de titulación)* [en línea]. Concepción: UNIVERSIDAD CATÓLICA DE LA SANTISIMA CONCEPCIÓN, 2016. Disponible en: http://repositoriodigital.ucsc.cl/bitstream/handle/25022009/1020/Carol_Riffo_Estay.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- RODRÍGUEZ ROMERO, A.J., ROBLES SALAZAR, C.A., RUÍZ PICOS, R.A., LÓPEZ LÓPEZ, E., SEDEÑO DÍAZ, J.E. y RODRÍGUEZ DORANTES, A., 2014. ÍNDICES DE GERMINACIÓN Y ELONGACIÓN RADICAL DE Lactuca sativa EN EL BIOMONITOREO DE LA CALIDAD DEL AGUA DEL RIO CHALMA. *Revista internacional de contaminación ambiental* [en línea], vol. 30, no. 3, pp. 307-316. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992014000300007.
- RODRIGUEZ SENEN, C., 2012. *Efectos toxicológicos por metales pesados en los seres vivos* [en línea]. Trujillo: s.n. Disponible en: http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/2984/Crisanto_Rodriguez%2C_Senen.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

- SALEHABADI, A. y ENHESSARI, M., 2019. Application of (mixed) metal oxides-based nanocomposites for biosensors. *Materials for Biomedical Engineering: Inorganic Micro- and Nanostructures* [en línea]. S.I.: Elsevier Inc., pp. 357-396. ISBN 9780081028148. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-102814-8.00013-5>.
- SANTOFIMIA, E. y LÓPEZ-PAMO, E., 2016. Performance of an open limestone channel for treating a stream affected by acid rock drainage (León , Spain). *Environmental Science and Pollution Research* [en línea], ISSN 0944-1344. DOI 10.1007/s11356-016-6562-z. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-6562-z>.
- SANTOFIMIA, E., LÓPEZ-PAMO, E., PALOMINO, E.J., GONZÁLEZ-TORIL, E. y AGUILERA, Á., 2017. Acid rock drainage in Nevado Pastoruri glacier area (Huascarán National Park , Perú): hydrochemical and mineralogical characterization and associated environmental implications. *Environ Sci Pollut Res*, pp. 25243-25259. DOI 10.1007/s11356-017-0093-0.
- SHAH, V. y DAVEREY, A., 2020. Phytoremediation: A multidisciplinary approach to clean up heavy metal contaminated soil. *Environmental Technology and Innovation* [en línea], vol. 18, pp. 100774. ISSN 23521864. DOI 10.1016/j.eti.2020.100774. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100774>.
- SHEN, Z., ZHANG, J., HOU, D., TSANG, D.C.W., OK, Y.S. y ALESSI, D.S., 2019. Synthesis of MgO-coated corncob biochar and its application in lead stabilization in a soil washing residue. *Environment International*, vol. 122, no. September, pp. 357-362. ISSN 18736750. DOI 10.1016/j.envint.2018.11.045.
- SOBRERO, M.C. y RONCO, A., 2004. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. *Imta*, pp. 55-67. ISSN 1098-6596. DOI 10.1017/CBO9781107415324.004.
- SONG, X.D., XUE, X.Y., CHEN, D.Z., HE, P.J. y DAI, X.H., 2014. Application of biochar from sewage sludge to plant cultivation: Influence of pyrolysis temperature and biochar-to-soil ratio on yield and heavy metal accumulation. *Chemosphere*, vol. 109, pp. 213-220. ISSN 18791298. DOI 10.1016/j.chemosphere.2014.01.070.
- SONG, Y., WANG, F., BIAN, Y., KENGARA, F.O., JIA, M., XIE, Z. y JIANG, X., 2012. Bioavailability assessment of hexachlorobenzene in soil as affected by wheat straw biochar. *Journal of Hazardous Materials* [en línea], vol. 217-218, no. March 2017, pp. 391-397. ISSN 03043894. DOI 10.1016/j.jhazmat.2012.03.055. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.03.055>.
- SORIANO FIGUEROA, R., 2018. *Evaluación de la eficiencia en neutralización y remoción de metales pesados (Fe, Cu, Pb y Zn) del drenaje ácido de mina con lodos de baja densidad a nivel planta piloto de cía minera Huancapeti - 2016* [en línea]. Huaraz: Universidad Nacional Santiago Antunez de Mayolo, 2018. Disponible en:

http://repositorio.unasam.edu.pe/bitstream/handle/UNASAM/2828/T033_43682717_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

- STELLA MARY, G., SUGUMARAN, P., NIVEDITHA, S., RAMALAKSHMI, B., RAVICHANDRAN, P. y SESHADRI, S., 2016. Production, characterization and evaluation of biochar from pod (*Pisum sativum*), leaf (*Brassica oleracea*) and peel (*Citrus sinensis*) wastes. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, vol. 5, no. 1, pp. 43-53. ISSN 22517715. DOI 10.1007/s40093-016-0116-8.
- SULIMAN, W., HARSH, J.B., ABU-LAIL, N.I., FORTUNA, A.M., DALLMEYER, I. y GARCIA-P??REZ, M., 2017. The role of biochar porosity and surface functionality in augmenting hydrologic properties of a sandy soil. *Science of the Total Environment* [en línea], vol. 574, pp. 139-147. ISSN 18791026. DOI 10.1016/j.scitotenv.2016.09.025. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.025>.
- SUN, W., SHA, Z. y CHUNMING, S., 2018. Impact of Biochar on the Bioremediation and Phytoremediation of Heavy Metal(Ioid)s in Soil. *Advances in Bioremediation and Phytoremediation* [en línea]. InTech. S.l.: s.n., pp. 149-168. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.70349%0A©>.
- SUPO, J., 2012. *Seminarios de Investigación Científica* [en línea]. S.l.: Bioestadístico. Disponible en: <http://red.unal.edu.co/cursos/ciencias/1000012/un3/pdf/seminv-sinopsis.pdf>.
- TAHA, S.M., AMER, M.E., ELMARSAFY, A.E. y ELKADY, M.Y., 2014. Adsorption of 15 different pesticides on untreated and phosphoric acid treated biochar and charcoal from water. *Journal of Environmental Chemical Engineering* [en línea], vol. 2, no. 4, pp. 2013-2025. ISSN 22133437. DOI 10.1016/j.jece.2014.09.001. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2014.09.001>.
- TASHARROFI, S., SADEGH HASSANI, S., TAGHDISIAN, H. y SOBAT, Z., 2018. Environmentally friendly stabilized nZVI-composite for removal of heavy metals. *New Polymer Nanocomposites for Environmental Remediation* [en línea]. S.l.: Elsevier Inc., pp. 623-642. [Consulta: 15 julio 2020]. ISBN 9780128110348. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012811033100024X>.
- TONG, X.J., LI, J.Y., YUAN, J.H. y XU, R.K., 2011. Adsorption of Cu(II) by biochars generated from three crop straws. *Chemical Engineering Journal*, vol. 172, no. 2-3, pp. 828-834. ISSN 13858947. DOI 10.1016/j.cej.2011.06.069.
- TORRES SAAVEDRA, A.M., 2018. *Factor de bioconcentración y traslocación de especies altoandinas para suelos contaminados con metales pesados provenientes de la planta concentradora de Mesapata, en condiciones de invernadero, 2015 - 2016* [en línea]. Huaraz: UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ATUNEZ DE MAYOLO, 2018. Disponible en:

- <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/2110>.
- TOWETT, E.K., SHEPHERD, K.D. y CADISCH, G., 2013. Quantification of total element concentrations in soils using total X-ray fluorescence spectroscopy (TXRF). *Science of the Total Environment journal*, vol. 464, pp. 374-388. DOI 10.1016/j.scitotenv.2013.05.068.
- TRUJILLO ARANDA, E., 2017. *Producción y Caracterización de Biochar a partir de residuos orgánicos avícolas (Tesis de titulación)* [en línea]. Lima: UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA, 2017. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3714/trujillo-aranda-enmer.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- UCHIMIYA, M., LIMA, I.M., KLASSON, K.T. y WARTELLE, L.H., 2010. Contaminant immobilization and nutrient release by biochar soil amendment: Roles of natural organic matter. *Chemosphere* [en línea], vol. 80, no. 8, pp. 935-940. ISSN 00456535. DOI 10.1016/j.chemosphere.2010.05.020. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.05.020>.
- VARDHAN, K.H., KUMAR, P.S. y PANDA, R.C., 2019. A review on heavy metal pollution, toxicity and remedial measures: Current trends and future perspectives. *Journal of Molecular Liquids* [en línea], vol. 290, pp. 111197. ISSN 01677322. DOI 10.1016/j.molliq.2019.111197. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111197>.
- VARNERO, M.T., ROJAS, C. y ORELLANA, R., 2007. ÍNDICES DE FITOTOXICIDAD EN RESIDUOS ORGÁNICOS DURANTE EL COMPOSTAJE. *Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal* [en línea], vol. 7, no. 1, pp. 28-37. ISSN 0718-2791. DOI 10.4067/S0718-27912007000100003. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-27912007000100003>.
- VEGA PICON, E.O., 2018. *“Capacidad de fitoacumulación de Zinc (Zn) y Plomo (Pb) utilizando las especies de chocho silvestre (Lupinus tomentosus) y llantén (Plantago mayor) del relave de la planta concentradora de minerales “Santa Rosa de Jangas”, 2017 (Tesis de titulación)* [en línea]. Huaraz: UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO, 2018. Disponible en: http://repositorio.unasam.edu.pe/bitstream/handle/UNASAM/2445/T033_45045548_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- VOM EYSER, C., PALMU, K., SCHMIDT, T.C. y TUERK, J., 2015. Pharmaceutical load in sewage sludge and biochar produced by hydrothermal carbonization. *Science of the Total Environment* [en línea], vol. 537, pp. 180-186. ISSN 18791026. DOI 10.1016/j.scitotenv.2015.08.021. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.021>.
- VUILLE, M., CAREY, M., HUGGEL, C., BUYTAERT, W., RABATEL, A., JACOBSEN, D., SORUCO, A., VILLACIS, M., YARLEQUE, C., TIMM, O.E., CONDOM, T., SALZMANN, N. y SICART, J., 2017. Rapid decline of snow and ice in the tropical Andes – Impacts, uncertainties and challenges

- ahead (Invited review). *Earth-Science Reviews* [en línea], ISSN 0012-8252. DOI 10.1016/j.earscirev.2017.09.019. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.earscirev.2017.09.019>.
- WANG, Y., YIN, R. y LIU, R., 2014. Characterization of biochar from fast pyrolysis and its effect on chemical properties of the tea garden soil. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* [en línea], vol. 110, no. 1, pp. 375-381. ISSN 01652370. DOI 10.1016/j.jaap.2014.10.006. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2014.10.006>.
- XU, W., LI, L.Y., GRACE, J.R. y HÉBRARD, G., 2013. Applied Clay Science Acid rock drainage treatment by clinoptilolite with slurry bubble column : Sustainable zinc removal with regeneration of clinoptilolite. *Applied Clay Science* [en línea], vol. 80-81, pp. 31-37. ISSN 0169-1317. DOI 10.1016/j.clay.2013.05.009. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2013.05.009>.
- YI, Y., TU, G., ZHAO, D., TSANG, P.E. y FANG, Z., 2019. Key role of FeO in the reduction of Cr(VI) by magnetic biochar synthesised using steel pickling waste liquor and sugarcane bagasse. *Journal of Cleaner Production* [en línea], no. Vi. ISSN 0959-6526. DOI 10.1016/j.jclepro.2019.118886. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118886>.
- YUE, Y., CUI, L., LIN, Q., LI, G. y ZHAO, X., 2017. Efficiency of sewage sludge biochar in improving urban soil properties and promoting grass growth. *Chemosphere* [en línea], vol. 173, no. February, pp. 551-556. ISSN 00456535. DOI 10.1016/j.chemosphere.2017.01.096. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653517301157>.
- ZEGARRA TORRES, S.E., 2015. *Uso del biocarbón obtenido de víceras de pescado y lodos de laguna de oxidación para mejoramiento de suelos áridos (Tesis de titulación)* [en línea]. Lima: UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO, 2015. Disponible en: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/119/zegarra_ts.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- ZHANG, M., WANG, J., HOSSEINI, S., ZHANG, Y., TENG, Y. y XU, Z., 2019. Assisted phytoremediation of a co-contaminated soil with biochar amendment : Contaminant removals and bacterial community properties. *Geoderma* [en línea], vol. 348, no. April, pp. 115-123. ISSN 0016-7061. DOI 10.1016/j.geoderma.2019.04.031. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.04.031>.
- ZHANG, W., MAO, S., CHEN, H., HUANG, L. y QIU, R., 2013. Pb(II) and Cr(VI) sorption by biochars pyrolyzed from the municipal wastewater sludge under different heating conditions. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 147, no. 41371315, pp. 545-552. ISSN 09608524. DOI 10.1016/j.biortech.2013.08.082. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.082>.
- ZHANG, Y., YANG, R., SI, X., DUAN, X. y QUAN, X., 2019. The adverse effect of biochar to aquatic algae- the role of free radicals. *Environmental*

Pollution, pp. 429-437. ISSN 18736424. DOI 10.1016/j.envpol.2019.02.055.

ZHENG, H., LIU, B., LIU, G., CAI, Z. y ZHANG, C., 2018. Potential Toxic Compounds in Biochar: Knowledge Gaps Between Biochar Research and Safety. *Biochar from Biomass and Waste* [en línea]. S.I.: Elsevier Inc., pp. 349-384. ISBN 9780128117293. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-811729-3.00019-4>.

ZHENG, W., GUO, M., CHOW, T., BENNETT, D.N. y RAJAGOPALAN, N., 2010. Sorption properties of greenwaste biochar for two triazine pesticides. *Journal of Hazardous Materials* [en línea], vol. 181, no. 1-3, pp. 121-126. ISSN 03043894. DOI 10.1016/j.jhazmat.2010.04.103. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.04.103>.

ANEXOS

ANEXO 1: Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES			
			VARIABLES INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDADES
GENERAL	GENERAL	GENERAL				
¿Cuál es la capacidad fitoremediadora de tres especies vegetales altoandinas asistidas con biochar en suelos contaminados por drenaje ácido de roca?	Evaluar la capacidad fitoremediadora de tres especies vegetales altoandinas asistidas con biochar en suelos contaminados por drenaje ácido de roca.	Las tres especies vegetales altoandinas mejoran su capacidad fitoremediadora tras la asistencia del biochar en suelos contaminados por drenaje ácido de roca.	Aplicación de biochar producido a partir de residuos de pino.	Parámetros físico - químicos y químicos del biochar	pH	-
					Materia orgánica	%
					Humedad	%
					CIC	meq/100g
					CE	dS/cm
					N, P, K	%
					CaO, MgO, Na	%
					Al, Cu, Fe, Mn, Zn	mg/kg
					C, H, O, N	%
					Capacidad de germinación de la enmienda	Indice de germinación
	Indice de germinación residual normalizado	-				
	Indice de elongación radical residual normalizado	-				
ESPECÍFICOS	ESPECÍFICOS	ESPECÍFICAS	DEPENDIENTES			
¿Qué concentraciones de Al, Cu, Fe, Mn y Zn presentan el suelo y el agua de una zona expuesta al drenaje ácido de roca y en un área adyacente sin contacto con el drenaje ácido de roca?	Analizar las concentraciones de Al, Cu, Fe, Mn y Zn en el suelo y agua de una zona expuesta al drenaje ácido de roca y una zona adyacente sin contacto con el drenaje ácido de roca.	Las muestras de suelo y agua de la zona expuesta al drenaje ácido de roca tienen mayores concentraciones de Al, Cu, Fe, Mn y Zn que las muestras de suelo y agua colectadas en una zona adyacente sin contacto al drenaje ácido de roca.	Capacidad de fitoremediación de tres especies de plantas nativas	Capacidad fitoremediadora de las plantas nativas	Concentración de metales en el sistema radicular	mg/kg
					Concentración de metales en la biomasa aérea	mg/kg
					Concentración de metales en el suelo	mg/kg
¿Qué especies vegetales altoandinas presentan potencial fitoremediador en la zona de estudio?	Identificar tres especies vegetales altoandinas en la zona de estudio y determinar su potencial fitoremediador.	Las tres especies vegetales altoandinas identificadas presentan un alto potencial fitoremediador en la zona de estudio.			Factor de bioconcentración	-
					Factor de bioacumulación	-
¿Cuál es la dosificación adecuada de biochar para asistir a la fitoremediación de tres especies vegetales altoandinas plantadas en macetas con suelos contaminados por drenaje ácido de roca?	Determinar la dosificación adecuada de biochar para asistir a la fitoremediación de tres especies vegetales altoandinas plantadas en macetas con suelos contaminados por drenaje ácido de roca.	La dosificación adecuada de biochar mejora la fitoremediación realizada por las tres especies vegetales altoandinas en los suelos contaminados por drenaje ácido de roca.		Desarrollo vegetativo de las plantas nativas	Altura de la planta	cm
					Longitud de raíz	cm

ANEXO 2: Base de datos

Tabla 50. Datos completos de concentración de metales en las muestras las muestras de suelo colectadas en el área impactada por DAR y el área visualmente menos impactada.

CÓDIGO	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Al (mg/kg)
SC1-QUI-M	105	2700	65.9	138	74.1
SC2-QUI-M	103	1230	65.4	231	48.3
SC3-QUI-M	1460	1480	896	3650	180
SNC1	96	107	19.6	157	68.1
SNC2	120	86	485	135	28.1
SNC3	107	194	13.3	140	67.6

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 51. Base de datos de número de semillas germinadas, longitud del hipocotilo y longitud de radícula del primer bioensayo de toxicidad del biochar producido a partir de residuos de pino.

DOSIFICACIÓN	0%				
REPETICIÓN 1	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETICIÓN 2	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	6			7	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	27.03	2.32	SEMILLA 1	15.16	18.68
SEMILLA 2	39.53	27.16	SEMILLA 2	29.08	25.37
SEMILLA 3	33.13	17.72	SEMILLA 3	31.48	26.04
SEMILLA 4	31.81	25.03	SEMILLA 4	30.66	18.83
SEMILLA 5	37.45	29.46	SEMILLA 5	34.52	22.59
SEMILLA 6	36.38	24.8	SEMILLA 6	32.56	23.37
SEMILLA 7	-	-	SEMILLA 7	34.95	20.01
SEMILLA 8	-	-	SEMILLA 8	-	-
REPETICIÓN 3	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETICIÓN 4	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	8			7	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	7.79	5.56	SEMILLA 1	33.43	16.23
SEMILLA 2	37.13	22.71	SEMILLA 2	35.91	21.23
SEMILLA 3	30.26	30.73	SEMILLA 3	33.36	19.17
SEMILLA 4	30.97	27.09	SEMILLA 4	11.45	9.37
SEMILLA 5	32.98	24.78	SEMILLA 5	26.73	17.31
SEMILLA 6	37.93	24.74	SEMILLA 6	32.74	17.72
SEMILLA 7	40.01	23.99	SEMILLA 7	36.67	29.22
SEMILLA 8	37.66	26.45	SEMILLA 8	-	-
DOSIFICACIÓN	5%				
REPETICIÓN 1	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETICIÓN 2	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	7			8	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	29.94	31.57	SEMILLA 1	32.3	17.61
SEMILLA 2	38.6	27.2	SEMILLA 2	33.78	24.31
SEMILLA 3	33.31	18.35	SEMILLA 3	28.67	15.66
SEMILLA 4	23.51	7	SEMILLA 4	32.81	18.67
SEMILLA 5	42.63	24.32	SEMILLA 5	19.22	17.38
SEMILLA 6	27.88	21.77	SEMILLA 6	31.44	22.4
SEMILLA 7	36.63	24.41	SEMILLA 7	27.69	15.87

SEMILLA 8	-	-	SEMILLA 8	34.63	25.48
REPETI- CIÓN 3	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETI- CIÓN 4	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	7			8	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	37.14	29.24	SEMILLA 1	28.1	22.49
SEMILLA 2	29.62	20.13	SEMILLA 2	33.51	31.53
SEMILLA 3	34.2	24.57	SEMILLA 3	27.71	18.02
SEMILLA 4	35.83	29.03	SEMILLA 4	30.23	27.42
SEMILLA 5	33.14	25.11	SEMILLA 5	27.31	19.77
SEMILLA 6	37.96	27.94	SEMILLA 6	31.57	28.03
SEMILLA 7	38.24	30.41	SEMILLA 7	29.14	24.06
SEMILLA 8	-	-	SEMILLA 8	32.38	26.78
DOSIFI- CACIÓN	10%				
REPETI- CIÓN 1	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETI- CIÓN 2	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	2			6	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	12.93	14.34	SEMILLA 1	13.38	5.64
SEMILLA 2	3.15	6.8	SEMILLA 2	7.95	3.3
SEMILLA 3	*	*	SEMILLA 3	6.05	7.72
SEMILLA 4	*	*	SEMILLA 4	5.6	5.09
SEMILLA 5	*	*	SEMILLA 5	3	3.42
SEMILLA 6	*	*	SEMILLA 6	4.31	3.95
SEMILLA 7	*	*	SEMILLA 7	*	*
SEMILLA 8	*	*	SEMILLA 8	*	*
REPETI- CIÓN 3	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETI- CIÓN 4	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	2			0	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	15.95	9.5	SEMILLA 1	*	*
SEMILLA 2	3.81	5.27	SEMILLA 2	*	*
SEMILLA 3	*	*	SEMILLA 3	*	*
SEMILLA 4	*	*	SEMILLA 4	*	*
SEMILLA 5	*	*	SEMILLA 5	*	*
SEMILLA 6	*	*	SEMILLA 6	*	*
SEMILLA 7	*	*	SEMILLA 7	*	*
SEMILLA 8	*	*	SEMILLA 8	*	*

*Semilla sin germinar

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 52. Base de datos de número de semillas germinadas, longitud del hipocotilo y longitud de radícula del segundo bioensayo de toxicidad del biochar producido a partir de residuos de pino.

DOSIFI- CACIÓN	0%				
REPETI- CIÓN 1	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETI- CIÓN 2	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	5			6	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	37.8	12.44	SEMILLA 1	22.02	12.14
SEMILLA 2	7.65	8.2	SEMILLA 2	31.3	12.04
SEMILLA 3	39.31	14.85	SEMILLA 3	37	13.81
SEMILLA 4	28.5	9.81	SEMILLA 4	34.26	20.66
SEMILLA 5	30.62	15.68	SEMILLA 5	32.54	15.69
SEMILLA 6	*	*	SEMILLA 6	26.64	18.54
SEMILLA 7	*	*	SEMILLA 7	*	*
SEMILLA 8	*	*	SEMILLA 8	*	*
REPETI- CIÓN 3	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETI- CIÓN 4	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	5			6	

	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	36.79	17.29	SEMILLA 1	41.69	16.45
SEMILLA 2	31.19	20.28	SEMILLA 2	37.89	12.92
SEMILLA 3	32.09	16.83	SEMILLA 3	35.44	7.22
SEMILLA 4	25.96	15.08	SEMILLA 4	29.46	12.05
SEMILLA 5	28.82	13.6	SEMILLA 5	26.21	13.17
SEMILLA 6	*	*	SEMILLA 6	*	*
SEMILLA 7	*	*	SEMILLA 7	*	*
SEMILLA 8	*	*	SEMILLA 8	*	*
DOSIFICACIÓN	1%				
REPETICIÓN 1	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETICIÓN 2	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	7			6	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	32.67	20.85	SEMILLA 1	12.67	10.98
SEMILLA 2	38.35	18.91	SEMILLA 2	22.78	5.54
SEMILLA 3	11.23	13.92	SEMILLA 3	33.37	14.6
SEMILLA 4	29.67	10.91	SEMILLA 4	33.04	17.05
SEMILLA 5	31.8	20.95	SEMILLA 5	34.87	13.78
SEMILLA 6	30.09	21.86	SEMILLA 6	43.22	26.66
SEMILLA 7	31.47	26.9	SEMILLA 7	*	*
SEMILLA 8	*	*	SEMILLA 8	*	*
REPETICIÓN 3	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETICIÓN 4	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	7			8	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	35.51	25.4	SEMILLA 1	33.34	13.78
SEMILLA 2	40.09	24.03	SEMILLA 2	21.46	13.63
SEMILLA 3	42.68	27.18	SEMILLA 3	8.46	17.1
SEMILLA 4	33.95	15.62	SEMILLA 4	6.27	25.93
SEMILLA 5	31.04	24.39	SEMILLA 5	29.65	16.99
SEMILLA 6	35.64	23.18	SEMILLA 6	24.63	16.01
SEMILLA 7	26.06	18.24	SEMILLA 7	35.43	22.65
SEMILLA 8	*	*	SEMILLA 8	34.17	15.63
DOSIFICACIÓN	3%				
REPETICIÓN 1	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETICIÓN 2	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	7			8	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	35.66	13.99	SEMILLA 1	41.2	13.7
SEMILLA 2	36.2	12.12	SEMILLA 2	38.83	25.22
SEMILLA 3	33.87	18.85	SEMILLA 3	39.94	14.83
SEMILLA 4	36.14	21	SEMILLA 4	45.19	31.47
SEMILLA 5	33.16	9.87	SEMILLA 5	39.21	26.65
SEMILLA 6	34.33	16.22	SEMILLA 6	35.18	17.01
SEMILLA 7	33.73	14.69	SEMILLA 7	34.89	9.42
SEMILLA 8	*	*	SEMILLA 8	39.2	19.61
REPETICIÓN 3	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETICIÓN 4	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	8			8	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	40.81	14.73	SEMILLA 1	8.89	9.63
SEMILLA 2	33.15	19.92	SEMILLA 2	14.44	13.95
SEMILLA 3	35.16	23.21	SEMILLA 3	33.49	18.89
SEMILLA 4	34.35	11.09	SEMILLA 4	39.07	15.44
SEMILLA 5	38.18	14.6	SEMILLA 5	32.5	19.14
SEMILLA 6	41.97	17.02	SEMILLA 6	31.14	11.57
SEMILLA 7	31.42	14.54	SEMILLA 7	21.53	10.61
SEMILLA 8	24.56	16.11	SEMILLA 8	32.1	19.7

DOSIFICACIÓN		5%			
REPETICIÓN 1	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETICIÓN 2	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	7			6	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	35.91	16.01	SEMILLA 1	38.03	12.4
SEMILLA 2	33.99	18.1	SEMILLA 2	33.56	18.52
SEMILLA 3	34.79	9.41	SEMILLA 3	42.05	20.36
SEMILLA 4	37.16	12.95	SEMILLA 4	25.04	3.38
SEMILLA 5	37.03	16.33	SEMILLA 5	35.5	11.79
SEMILLA 6	31.18	13.6	SEMILLA 6	23.92	13.3
SEMILLA 7	35.28	18.86	SEMILLA 7	*	*
SEMILLA 8	*	*	SEMILLA 8	*	*
REPETICIÓN 3	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETICIÓN 4	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	7			7	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	18.09	6.13	SEMILLA 1	13.31	3.86
SEMILLA 2	38.97	18.25	SEMILLA 2	31.66	10.3
SEMILLA 3	38.89	24.71	SEMILLA 3	28.05	24.15
SEMILLA 4	25.54	12.88	SEMILLA 4	33.39	14.64
SEMILLA 5	37.49	24.21	SEMILLA 5	30.81	13.83
SEMILLA 6	36.2	18.08	SEMILLA 6	31.51	12.41
SEMILLA 7	25.58	18.99	SEMILLA 7	29.86	21.34
SEMILLA 8	*	*	SEMILLA 8	*	*
DOSIFICACIÓN		7%			
REPETICIÓN 1	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETICIÓN 2	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	8			6	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	32.78	14.02	SEMILLA 1	7.01	5.38
SEMILLA 2	41.75	12.94	SEMILLA 2	36.18	14.04
SEMILLA 3	6.2	3.16	SEMILLA 3	26.76	3.2
SEMILLA 4	42.67	11.47	SEMILLA 4	33.67	13.42
SEMILLA 5	30.69	10.61	SEMILLA 5	17.49	8.73
SEMILLA 6	30.7	14.11	SEMILLA 6	29.81	11.83
SEMILLA 7	35.08	16.66	SEMILLA 7	*	*
SEMILLA 8	31.36	16.4	SEMILLA 8	*	*
REPETICIÓN 3	NRO. SEMILLAS GERMINADAS		REPETICIÓN 4	NRO. SEMILLAS GERMINADAS	
	7			6	
	LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA		LONGITUD HIPOCÓTILO	LONGITUD RADÍCULA
SEMILLA 1	33.98	11.22	SEMILLA 1	11.68	3.72
SEMILLA 2	20.4	3.45	SEMILLA 2	32.34	18.87
SEMILLA 3	16.9	9.65	SEMILLA 3	28.58	17.69
SEMILLA 4	28.28	17.99	SEMILLA 4	24.75	15.74
SEMILLA 5	26.9	16.99	SEMILLA 5	28.3	19.06
SEMILLA 6	34.49	24.73	SEMILLA 6	19.71	11.77
SEMILLA 7	28.3	4.21	SEMILLA 7	*	*
SEMILLA 8	*	*	SEMILLA 8	*	*

*Semilla sin germinar

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 53. Variación del número de raíces según el tratamiento aplicado en el experimento en invernadero.

DOSIFICACIÓN BIOCHAR	ESPECIE VEGETAL	VARIACIÓN DEL NRO. DE RAÍCES
0%	<i>Werneria nubigena</i>	0
0%	<i>Werneria nubigena</i>	1
0%	<i>Werneria nubigena</i>	3
0%	<i>Werneria nubigena</i>	3
0%	<i>Paranephelius ovatus</i>	8
0%	<i>Paranephelius ovatus</i>	5
0%	<i>Paranephelius ovatus</i>	9
0%	<i>Paranephelius ovatus</i>	6
1%	<i>Werneria nubigena</i>	4
1%	<i>Werneria nubigena</i>	8
1%	<i>Werneria nubigena</i>	0
1%	<i>Werneria nubigena</i>	13
1%	<i>Paranephelius ovatus</i>	8
1%	<i>Paranephelius ovatus</i>	4
1%	<i>Paranephelius ovatus</i>	11
1%	<i>Paranephelius ovatus</i>	5
3%	<i>Werneria nubigena</i>	4
3%	<i>Werneria nubigena</i>	1
3%	<i>Werneria nubigena</i>	8
3%	<i>Werneria nubigena</i>	8
3%	<i>Paranephelius ovatus</i>	10
3%	<i>Paranephelius ovatus</i>	10
3%	<i>Paranephelius ovatus</i>	10
3%	<i>Paranephelius ovatus</i>	4

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 54. Variación de la longitud de las raíces según el tratamiento aplicado en el experimento en invernadero.

DOSIFICACIÓN BIOCHAR	ESPECIE VEGETAL	VARIACIÓN DE LA LONGITUD DE LAS RAÍCES (cm)
0%	<i>Werneria nubigena</i>	2.800
0%	<i>Werneria nubigena</i>	0.000
0%	<i>Werneria nubigena</i>	3.590
0%	<i>Werneria nubigena</i>	4.700
0%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.000
0%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.944
0%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.189
0%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.811
1%	<i>Werneria nubigena</i>	0.833
1%	<i>Werneria nubigena</i>	1.300
1%	<i>Werneria nubigena</i>	4.650
1%	<i>Werneria nubigena</i>	2.400
1%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.000
1%	<i>Paranephelius ovatus</i>	3.411

1%	<i>Paranephelius ovatus</i>	4.722
1%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.544
3%	<i>Werneria nubigena</i>	2.367
3%	<i>Werneria nubigena</i>	3.283
3%	<i>Werneria nubigena</i>	0.000
3%	<i>Werneria nubigena</i>	0.000
3%	<i>Paranephelius ovatus</i>	5.033
3%	<i>Paranephelius ovatus</i>	1.044
3%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.000
3%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.967

Fuente: Elaboración propia

Tabla 55. Variación de la longitud de las plantas según el tratamiento aplicado en el experimento en invernadero.

DOSIFICACIÓN BIOCHAR	ESPECIE VEGETAL	VARIACIÓN LONGITUD DE PLANTAS (cm)	VARIACIÓN LONGITUD DE PLANTAS (RAÍZ CUADRADA)
0%	<i>Werneria nubigena</i>	3.050	1.746
0%	<i>Werneria nubigena</i>	0.367	0.606
0%	<i>Werneria nubigena</i>	1.300	1.140
0%	<i>Werneria nubigena</i>	0.550	0.742
0%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.733	0.856
0%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.117	0.342
0%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.233	0.483
0%	<i>Paranephelius ovatus</i>	2.950	1.718
0%	<i>Calamagrostis spp.</i>	1.000	1.000
0%	<i>Calamagrostis spp.</i>	11.000	3.317
0%	<i>Calamagrostis spp.</i>	0.000	0.000
0%	<i>Calamagrostis spp.</i>	18.000	4.243
1%	<i>Werneria nubigena</i>	0.883	0.940
1%	<i>Werneria nubigena</i>	0.617	0.785
1%	<i>Werneria nubigena</i>	0.867	0.931
1%	<i>Werneria nubigena</i>	0.550	0.742
1%	<i>Paranephelius ovatus</i>	3.617	1.902
1%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.100	0.316
1%	<i>Paranephelius ovatus</i>	2.850	1.688
1%	<i>Paranephelius ovatus</i>	0.350	0.592
1%	<i>Calamagrostis spp.</i>	9.000	3.000
1%	<i>Calamagrostis spp.</i>	7.500	2.739
1%	<i>Calamagrostis spp.</i>	2.200	1.483
1%	<i>Calamagrostis spp.</i>	0.500	0.707
3%	<i>Werneria nubigena</i>	1.050	1.025
3%	<i>Werneria nubigena</i>	0.833	0.913

3%	<i>Werneria nubigena</i>	2.350	1.533
3%	<i>Werneria nubigena</i>	0.017	0.130
3%	<i>Paranephelium ovatus</i>	1.067	1.033
3%	<i>Paranephelium ovatus</i>	1.950	1.396
3%	<i>Paranephelium ovatus</i>	1.533	1.238
3%	<i>Paranephelium ovatus</i>	4.400	2.098
3%	<i>Calamagrostis spp.</i>	0.000	0.000
3%	<i>Calamagrostis spp.</i>	3.500	1.871
3%	<i>Calamagrostis spp.</i>	25.000	5.000
3%	<i>Calamagrostis spp.</i>	0.000	0.000

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 56. Variación del pH en el sustrato de cada tratamiento aplicado en el experimento en invernadero.

DOSIFICACIÓN DE BIOCHAR	ESPECIE VEGETAL	VARIACIÓN DEL pH
0%	<i>Werneria nubigena</i>	1.215
0%	<i>Werneria nubigena</i>	1.485
0%	<i>Werneria nubigena</i>	1.220
0%	<i>Werneria nubigena</i>	1.725
0%	<i>Paranephelium ovatus</i>	1.370
0%	<i>Paranephelium ovatus</i>	1.145
0%	<i>Paranephelium ovatus</i>	1.290
0%	<i>Paranephelium ovatus</i>	1.385
0%	<i>Calamagrostis spp.</i>	0.985
0%	<i>Calamagrostis spp.</i>	1.185
0%	<i>Calamagrostis spp.</i>	1.130
0%	<i>Calamagrostis spp.</i>	1.240
1%	<i>Werneria nubigena</i>	1.770
1%	<i>Werneria nubigena</i>	2.155
1%	<i>Werneria nubigena</i>	1.720
1%	<i>Werneria nubigena</i>	1.765
1%	<i>Paranephelium ovatus</i>	2.050
1%	<i>Paranephelium ovatus</i>	2.155
1%	<i>Paranephelium ovatus</i>	2.545
1%	<i>Paranephelium ovatus</i>	1.955
1%	<i>Calamagrostis spp.</i>	1.750
1%	<i>Calamagrostis spp.</i>	2.470
1%	<i>Calamagrostis spp.</i>	1.675
1%	<i>Calamagrostis spp.</i>	2.665
3%	<i>Werneria nubigena</i>	2.905
3%	<i>Werneria nubigena</i>	2.855
3%	<i>Werneria nubigena</i>	2.810
3%	<i>Werneria nubigena</i>	2.900
3%	<i>Paranephelium ovatus</i>	2.690

3%	<i>Paranephelius ovatus</i>	2.735
3%	<i>Paranephelius ovatus</i>	3.380
3%	<i>Paranephelius ovatus</i>	3.110
3%	<i>Calamagrostis spp.</i>	3.015
3%	<i>Calamagrostis spp.</i>	3.040
3%	<i>Calamagrostis spp.</i>	2.795
3%	<i>Calamagrostis spp.</i>	3.485

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 57. Concentración de metales en suelo del experimento realizado en invernadero.

N°	TRATAMIENTO		Concentración (mg/kg)				
	ESPECIE VEGETAL	DOSIFICACIÓN DE BIOCHAR	Cu	Mn	Fe	Zn	Al
1	<i>Calamagrostis spp.</i>	0%	5480.00	1436.00	76.00	380.00	102.80
2	<i>Calamagrostis spp.</i>	0%	5800.00	1512.00	24.00	376.00	116.40
3	<i>Calamagrostis spp.</i>	0%	5760.00	2448.00	3840.00	3280.00	1304.00
4	<i>Calamagrostis spp.</i>	1%	7280.00	1512.00	68.00	424.00	119.20
5	<i>Calamagrostis spp.</i>	1%	5560.00	1976.00	3400.00	2560.00	1564.00
6	<i>Calamagrostis spp.</i>	1%	5480.00	2180.00	2960.00	3640.00	1160.00
7	<i>Calamagrostis spp.</i>	3%	5040.00	2144.00	3600.00	2120.00	1468.00
8	<i>Calamagrostis spp.</i>	3%	6800.00	1812.00	96.00	408.00	141.20
9	<i>Calamagrostis spp.</i>	3%	5080.00	2116.00	3880.00	3560.00	1388.00
10	<i>Paranephelius ovatus</i>	0%	2760.00	1456.00	40.00	244.00	85.60
11	<i>Paranephelius ovatus</i>	0%	3120.00	1504.00	20.00	432.00	102.40
12	<i>Paranephelius ovatus</i>	0%	6560.00	1364.00	3120.00	952.00	1180.00
13	<i>Paranephelius ovatus</i>	1%	2960.00	1516.00	12.00	288.00	148.00
14	<i>Paranephelius ovatus</i>	1%	6280.00	1576.00	20.00	204.00	128.40
15	<i>Paranephelius ovatus</i>	1%	4120.00	1492.00	44.00	228.00	123.60
16	<i>Paranephelius ovatus</i>	3%	4520.00	1288.00	224.00	280.00	103.20
17	<i>Paranephelius ovatus</i>	3%	6160.00	1388.00	284.00	288.00	103.60
18	<i>Paranephelius ovatus</i>	3%	5760.00	1504.00	108.00	468.00	111.20
19	<i>Werneria nubigena</i>	0%	5760.00	2204.00	4080.00	3240.00	1120.00
20	<i>Werneria nubigena</i>	0%	4880.00	1908.00	4560.00	2480.00	1348.00
21	<i>Werneria nubigena</i>	0%	4280.00	2328.00	3560.00	2160.00	1724.00
22	<i>Werneria nubigena</i>	1%	5480.00	2340.00	3680.00	2160.00	1776.00
23	<i>Werneria nubigena</i>	1%	5040.00	2028.00	4080.00	2880.00	1520.00
24	<i>Werneria nubigena</i>	1%	4880.00	2756.00	4680.00	2360.00	1220.00
25	<i>Werneria nubigena</i>	3%	6000.00	2060.00	3440.00	1840.00	1144.00
26	<i>Werneria nubigena</i>	3%	4080.00	1512.00	3360.00	1144.00	1324.00
27	<i>Werneria nubigena</i>	3%	5480.00	1420.00	48.00	316.00	101.60

Valores en rojo: Valores extremos mostrados en el diagrama de cajas y bigotes.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 58. Concentración de metales en la parte aérea de las especies vegetales altoandinas sometidas a suelo contaminado por drenaje ácido de roca y dosificaciones de biochar.

N°	TRATAMIENTO		Concentración (mg/kg)				
	ESPECIE VEGETAL	DOSIFICACIÓN DE BIOCHAR	Cu	Mn	Fe	Zn	Al
1	<i>Calamagrostis</i> spp.	0%	4333.33	997.44	1923.08	153.85	63.85
2	<i>Calamagrostis</i> spp.	0%	4512.82	812.82	25.64	489.74	188.97
3	<i>Calamagrostis</i> spp.	0%	5871.79	771.79	61.54	384.62	75.90
4	<i>Calamagrostis</i> spp.	1%	4820.51	974.36	5076.92	307.69	105.90
5	<i>Calamagrostis</i> spp.	1%	4641.03	1056.41	1717.95	358.97	50.00
6	<i>Calamagrostis</i> spp.	1%	4794.87	900.00	23.08	202.56	159.74
7	<i>Calamagrostis</i> spp.	3%	4205.13	838.46	23.08	92.31	100.77
8	<i>Calamagrostis</i> spp.	3%	5615.38	961.54	38.46	230.77	66.67
9	<i>Calamagrostis</i> spp.	3%	5000.00	933.33	156.41	358.97	500.00
10	<i>Paranephelius ovatus</i>	0%	4538.46	820.51	38.46	205.13	70.26
11	<i>Paranephelius ovatus</i>	0%	3923.08	838.46	35.90	256.41	64.36
12	<i>Paranephelius ovatus</i>	0%	3666.67	1007.69	4410.26	384.62	109.74
13	<i>Paranephelius ovatus</i>	1%	4769.23	843.59	25.64	410.26	76.67
14	<i>Paranephelius ovatus</i>	1%	5000.00	874.36	25.64	307.69	54.10
15	<i>Paranephelius ovatus</i>	1%	5179.49	2600.00	4461.54	1179.49	2671.79
16	<i>Paranephelius ovatus</i>	3%	3923.08	1215.38	3076.92	820.51	1238.46
17	<i>Paranephelius ovatus</i>	3%	4128.21	1105.13	2435.90	692.31	1400.00
18	<i>Paranephelius ovatus</i>	3%	2897.44	958.97	3256.41	692.31	1274.36
19	<i>Werneria nubigena</i>	0%	4307.69	1243.59	1435.90	666.67	1428.21
20	<i>Werneria nubigena</i>	0%	4641.03	876.92	58.97	282.05	49.74
21	<i>Werneria nubigena</i>	0%	4743.59	866.67	28.21	384.62	53.59
22	<i>Werneria nubigena</i>	1%	3692.31	920.51	30.77	282.05	87.44
23	<i>Werneria nubigena</i>	1%	4769.23	1284.62	1153.85	974.36	1264.10
24	<i>Werneria nubigena</i>	1%	6076.92	1261.54	46.15	692.31	54.36
25	<i>Werneria nubigena</i>	3%	4051.28	1117.95	2538.46	1974.36	87.18
26	<i>Werneria nubigena</i>	3%	1820.51	882.05	10.26	51.28	61.28
27	<i>Werneria nubigena</i>	3%	3692.31	938.46	6230.77	282.05	103.59

Valores en azul: Valores extremos mostrados en el diagrama de cajas y bigotes.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 59. Concentración de metales en la parte radicular de las especies vegetales altoandinas sometidas a suelo contaminado por drenaje ácido de roca y dosificaciones de biochar.

N°	TRATAMIENTO		Concentración (mg/kg)				
	ESPECIE VEGETAL	DOSIFICACIÓN DE BIOCHAR	Cu	Mn	Fe	Zn	Al
1	<i>Calamagrostis</i> spp.	0%	3461.54	887.18	15.38	161.54	83.59
2	<i>Calamagrostis</i> spp.	0%	2692.31	1094.87	2461.54	1153.85	1176.92
3	<i>Calamagrostis</i> spp.	0%	3230.77	1461.54	2589.74	1076.92	1153.85
4	<i>Calamagrostis</i> spp.	1%	6564.10	1071.79	51.28	1025.64	59.49
5	<i>Calamagrostis</i> spp.	1%	3230.77	1184.62	1717.95	846.15	1569.23
6	<i>Calamagrostis</i> spp.	1%	3230.77	1200.00	2179.49	1615.38	1253.85
7	<i>Calamagrostis</i> spp.	3%	4179.49	1225.64	2564.10	743.59	1351.28
8	<i>Calamagrostis</i> spp.	3%	2846.15	1187.18	2769.23	923.08	756.41
9	<i>Calamagrostis</i> spp.	3%	3230.77	848.72	51.28	128.21	96.15
10	<i>Paranephelius ovatus</i>	0%	4205.13	1023.08	3102.56	307.69	1015.38
11	<i>Paranephelius ovatus</i>	0%	5282.05	1048.72	2487.18	615.38	748.72
12	<i>Paranephelius ovatus</i>	0%	7256.41	600.00	538.46	641.03	60.00
13	<i>Paranephelius ovatus</i>	1%	4102.56	1182.05	2641.03	358.97	1271.79

14	<i>Paranephelius ovatus</i>	1%	5128.21	858.97	56.41	53.85	97.69
15	<i>Paranephelius ovatus</i>	1%	5871.79	984.62	46.15	187.18	80.26
16	<i>Paranephelius ovatus</i>	3%	4230.77	1400.00	2923.08	1076.92	1215.38
17	<i>Paranephelius ovatus</i>	3%	4153.85	1561.54	3051.28	1025.64	1074.36
18	<i>Paranephelius ovatus</i>	3%	4769.23	997.44	61.54	171.79	75.38
19	<i>Werneria nubigena</i>	0%	4948.72	1033.33	69.23	333.33	54.36
20	<i>Werneria nubigena</i>	0%	3179.49	900.00	97.44	512.82	70.26
21	<i>Werneria nubigena</i>	0%	4461.54	856.41	51.28	51.28	86.92
22	<i>Werneria nubigena</i>	1%	4333.33	1197.44	5282.05	923.08	139.74
23	<i>Werneria nubigena</i>	1%	5205.13	915.38	79.49	256.41	68.21
24	<i>Werneria nubigena</i>	1%	4487.18	1476.92	2846.15	1820.51	1074.36
25	<i>Werneria nubigena</i>	3%	2692.31	1315.38	2538.46	1179.49	1343.59
26	<i>Werneria nubigena</i>	3%	3256.41	1097.44	23.08	358.97	49.23
27	<i>Werneria nubigena</i>	3%	3205.13	1271.79	2717.95	1333.33	1302.56

Valores en rojo: Valores extremos mostrados en el diagrama de cajas y bigotes.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 60. Composición nutricional de diversas enmiendas orgánicas.

Parámetro determinado	Guano de broiler	Guano de pavo	Guano de pavo maduro	Bioestabilizado de cerdo	Purín de bovino	Estiércol de bovino	Lodo de piscicultura	
							en tierra	en mar
Humedad (%)	19 - 43	15 - 50	24 - 50	10 - 45	97	75.8	51.3	84.8
pH	6.9 - 9.1	5.3 - 7.4	5.6 - 8.2	6.8 - 8.6	7.3	8	6	7.2
CE (dS/m)	6 - 12	7.7 - 18.2	10 - 29.8	3.2 - 13.4	35.7	3	0.2	27.028
MO (%)	65 - 70	64 - 85	66 - 83	41 - 60	66.1	62	15.1	11.1
Relación C/N	6.6 - 16.7	9 - 12.8	8.1 - 16	8.8 - 20.6	0.9	16.6	15.3	17.9
C total (%)	43 - 44	36 - 47	31 - 41	26 - 41	4.3	34.4	8.4	6.2
N total (%)	2.1 - 3.7	3.3 - 4.4	2.3 - 4.5	1.5 - 3.5	8.23	2.16	0.57	0.41
N amoniacal (%)	0.31 - 0.65	0.6 - 1.3	0.4 - 1.5	0.7 - 1.3	2.96	0.42	0.28	S/inf
N nítrico (%)	0.3 - 0.65	0.05 - 0.15	0.06 - 0.5	0.01 - 0.05	0.08	S/inf	S/inf	S/inf
P total (%)	0.81 - 2.25	1.7 - 3.1	2.05 - 3.88	2.27 - 3.78	0.88	0.63	0.78	0.81
K total (%)	1.2 - 3.7	2.5 - 3.4	3.1 - 3.6	1 - 2	5	2.13	0.12	0.63
Ca total (%)	1.3 - 3.1	4.4 - 7.5	4.8 - 7.9	3.2 - 6.4	1.84	1.38	1.55	2.62
Mg total (%)	0.33 - 0.65	0.65 - 1.25	1 - 1.47	0.96 - 1.88	0.82	0.49	0.38	1.65
Na total (%)	0.23 - 0.78	0.18 - 0.28	0.18 - 0.78	0.13 - 0.65	1.21	0.28	0.09	11.8
S total (%)	0.2 - 0.4	0.3 - 0.6	0.3 - 0.6	0.18 - 0.98	0.56	0.38	S/inf	S/inf

S/inf: Sin información.

Fuente: (Hirzel y Salazar 2011)

ANEXO 3: Otros

Procesamientos estadísticos

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS: VARIACIÓN DEL NÚMERO DE RAÍCES:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO VARIACIÓN DEL NRO. DE RAÍCES	24	0	2.96	0.97	0.8709

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación del número de raíces, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.8709, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación del número de raíces tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Interacción de los factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS VARIACIÓN DEL NRO. DE RAÍCES	24	0.07	0	68.17	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4.08	2	2.04	0.75	0.4836
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	4.08	2	2.04	0.75	0.4836
Error	57	21	2.71		
Total	61.08	23			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación del número de raíces en función de la interacción de los factores, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : $\sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de los factores “dosificación de biochar” y “especie vegetal” es de 0.4836, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Dosificación biochar”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS VARIACIÓN DEL NRO. DE RAÍCES	24	0.26	0.19	60.57	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	16.08	2	8.04	3.75	0.0404
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	16.08	2	8.04	3.75	0.0404
Error	45	21	2.14		
Total	61.08	23			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación del número de raíces en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.0404, por lo que se rechaza la hipótesis nula, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos son homogéneos. Es decir, que el análisis de varianza en función a este factor no es válido, ya que no cumple el supuesto de homogeneidad de varianzas.³

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS VARIACIÓN DEL NRO. DE RAÍCES	24	0.04	0.00019	67.43	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.67	1	2.67	1	0.3272
ESPECIE VEGETAL	2.67	1	2.67	1	0.3272
Error	58.42	22	2.66		
Total	61.08	23			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación del número de raíces

en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.3272, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS: VARIACIÓN DE LA LONGITUD DE RAÍCES

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO VARIACIÓN DE LONGITUD DE RAÍCES	24	0	1.62	0.95	0.5534

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la longitud de raíces, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.5534, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación del número de raíces tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Interacción de los factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS VARIACIÓN DE LONGITUD DE RAÍCES	24	0.16	0.09	63.81	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.96	2	1.48	2.07	0.1510
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIE VEGETAL	2.96	2	1.48	2.07	0.1510
Error	15.02	21	0.72		
Total	17.99	23			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación del número de raíces

en función de la interacción de los factores, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para la interacción de los factores “dosificación de biochar” y “especie vegetal” es de 0.1510, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Dosificación biochar”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS VARIACIÓN DE LONGITUD DE RAÍCES	24	0.13	0.04	65.22	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.29	2	1.15	1.53	0.2388
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	2.29	2	1.15	1.53	0.2388
Error	15.7	21	0.75		
Total	17.99	23			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación del número de raíces en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.2388, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS VARIACIÓN DE LONGITUD DE RAÍCES	24	0.0004	0	68.21	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.01	1	0.01	0.01	0.9265
ESPECIE VEGETAL	0.01	1	0.01	0.01	0.9265
Error	17.98	22	0.82		
Total	17.99	23			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación del número de raíces en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.9265, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS: VARIACIÓN DE LA LONGITUD DE PLANTAS:

- Análisis de supuestos

Con los datos que corresponden a la variación de la longitud de las plantas (**Tabla 51**) no se lograba validar la normalidad de los residuos y tras aplicar la transformación de “raíz cuadrada” se corrigió dicho supuesto, por lo que las evaluaciones de los supuestos serán presentadas en “raíz cuadrada”.

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO_RAÍZ VARIACIÓN DE LONGITUD DE PLANTAS	36	0	1.03	0.96	0.5355

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la longitud de raíces, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \text{Tiene una distribución normal.}$
- $H_1: \text{No tiene una distribución normal.}$

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.5355, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación del número de raíces tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Interacción de los factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS_RAIZ VARIACIÓN LONGITUD DE PLANTAS	36	0.09	0	101.23	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1.59	4	0.4	0.74	0.5740
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	1.59	4	0.4	0.74	0.5740
Error	16.76	31	0.54		
Total	18.35	35			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación del número de raíces en función de la interacción de los factores, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de los factores “dosificación de biochar” y “especie vegetal” es de 0.5740, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Dosificación biochar”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS_RAIZ VARIACIÓN LONGITUD DE PLANTA	36	0.03	0	101.05	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.57	2	0.29	0.53	0.5922
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	0.57	2	0.29	0.53	0.5922
Error	17.78	33	0.54		
Total	18.35	35			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación del número de raíces en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.5922, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS_RAIZ VARIACIÓN LONGITUD DE PLANTA	36	0.48	0.45	74.21	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8.76	2	4.38	15.08	<0.0001
ESPECIE VEGETAL	8.76	2	4.38	15.08	<0.0001
Error	9.59	33	0.29		
Total	18.35	35			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación del número de raíces en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de <0.0001, por lo que se rechaza la hipótesis nula, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos son homogéneos. Es decir, que el análisis de varianza en función a este factor no es válido, ya que no cumple el supuesto de homogeneidad de varianzas.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS: VARIACIÓN DEL pH EN EL EXPERIMENTO

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO VARIACIÓN DEL pH	36	0	0.23	0.95	0.4250

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la longitud de raíces, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.4250, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación del número de raíces tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Interacción de los factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS VARIACIÓN DEL pH	36	0.35	0.26	69.71	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.26	4	0.07	4.15	0.0083
DOSIFICACIÓN DE BIOCHAR*ESPECIE VEGETAL	0.26	4	0.07	4.15	0.0083
Error	0.49	31	0.02		
Total	0.75	35			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación del número de raíces en función de la interacción de los factores, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de los factores “dosificación de biochar” y “especie vegetal” es de 0.0083, por lo que se rechaza la hipótesis nula, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos son homogéneos. Es decir, que el análisis de varianza en función a este factor no es válido, ya que no cumple el supuesto de homogeneidad de varianzas.

- Factor “Dosificación biochar”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS VARIACIÓN DEL pH	36	0.16	0.1	76.94	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.12	2	0.06	3.03	0.0618
DOSIFICACIÓN DE BIOCHAR	0.12	2	0.06	3.03	0.0618
Error	0.63	33	0.02		

Total	0.75	35			
-------	------	----	--	--	--

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación del número de raíces en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.0618, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS VARIACIÓN DEL pH	36	0.09	0.04	79.64	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.07	2	0.04	1.73	0.1928
ESPECIE VEGETAL	0.07	2	0.04	1.73	0.1928
Error	0.68	33	0.02		
Total	0.75	35			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación del número de raíces en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1928, por lo que se rechaza la hipótesis nula, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS Y ANÁLISIS DE VARIANZA: Concentración de metales en la parte aérea de las plantas de *Calamagrostis* spp. y dosificaciones de biochar posterior al experimento.

Concentración de cobre (Cu) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos:

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Cu	9	0	552	0.93	0.6006

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte aérea de *Calamagrostis* spp., dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.6006, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Cu	9	0.53	0.38	68.27	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	521362.4	2	260681.2	3.45	0.1006
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	521362.4	2	260681.2	3.45	0.1006
Error	453352.9	6	75558.81		
Total	974715.3	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de cobre en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1006, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales del factor, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	60193.26	2	30096.63	0.07	0.9293
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	60193.26	2	30096.63	0.07	0.9293
Error	2433909	6	405651.6		
Total	2494103	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.9293), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de cobre en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de manganeso (Mn) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Mn	9	0	78.6	0.91	0.4131

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte aérea de *Calamagrostis* spp., dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \text{Tiene una distribución normal.}$
- $H_1: \text{No tiene una distribución normal.}$

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.4131, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Mn	9	0.27	0.02	60.51	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3305	2	1652.5	1.1	0.3932
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	3305	2	1652.5	1.1	0.3932
Error	9054.09	6	1509.02		
Total	12359.1	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de manganeso en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.3932, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	20385.98	2	10192.99	1.24	0.3550
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	20385.98	2	10192.99	1.24	0.3550
Error	49452.15	6	8242.02		

Total	69838.13	8			
-------	----------	---	--	--	--

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.3550), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de manganeso en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de hierro (Fe) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Fe	9	0	1396	0.94	0.6555

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte aérea de *Calamagrostis* spp., dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.6555, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Fe	9	0.62	0.5	76.98	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4966551	2	2483276	4.95	0.0538
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	4966551	2	2483276	4.95	0.0538
Error	3010545	6	501757.4		
Total	7977096	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de hierro en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.0538, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- H_1 : al menos uno $(\alpha)_i \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7765140	2	3882570	1.49	0.2976
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	7765140	2	3882570	1.49	0.2976
Error	15598462	6	2599744		
Total	23363602	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.2976), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de hierro en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de zinc (Zn) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Zn	9	0	116	0.92	0.5518

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte aérea de *Calamagrostis* spp., dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.5518, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Zn	9	0.21	0	71.09	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6904.13	2	3452.06	0.82	0.4850
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	6904.13	2	3452.06	0.82	0.4850
Error	25309.93	6	4218.32		
Total	32214.06	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de zinc en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.4850, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- H_1 : al menos uno $(\alpha)_j \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	20015.24	2	10007.62	0.56	0.5987

DOSIFICACIÓN BIOCHAR	20015.24	2	10007.62	0.56	0.5987
Error	107329	6	17888.17		
Total	127344.3	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.5987), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de zinc en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de aluminio (Al) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Al	7	0	33.4	0.99	0.9801

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte aérea de *Calamagrostis* spp., dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.9801, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Al	7	0.38	0.07	98.9	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1216.37	2	608.18	1.24	0.3804
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	1216.37	2	608.18	1.24	0.3804
Error	1957.46	4	489.36		
Total	3173.83	6			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de aluminio en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.3804, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_j \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1575.9	2	787.95	0.47	0.6545
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	1575.9	2	787.95	0.47	0.6545
Error	6676.15	4	1669.04		
Total	8252.05	6			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.6545), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de aluminio en la parte aérea de *Calamagrostis* spp. es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS Y ANÁLISIS DE VARIANZA: Concentración de metales en la parte aérea de las plantas de *Paranephelius ovatus* y dosificaciones de biochar posterior al experimento.

Concentración de cobre (Cu) en la parte aérea:

- **Análisis de supuestos:**

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Cu	9	0	412	0.94	0.6788

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte aérea de *Paranephelius ovatus*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.6788, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Cu	9	0.48	0.3	57.99	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	193438.8	2	96719.4	2.73	0.1438
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	193438.8	2	96719.4	2.73	0.1438
Error	212872	6	35478.67		
Total	406310.8	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de cobre en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).

- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1438, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- H_0 : $\alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- H_1 : al menos uno $(\alpha)_i \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2816263	2	1408132	6.23	0.0343
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	2816263	2	1408132	6.23	0.0343
Error	1355684	6	225947.3		
Total	4171947	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor menor a 0.05 (0.0343), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de cobre en la parte aérea de *Paranephelium ovatus* es distinta a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta es significativamente distinta en al menos uno de los niveles del factor. Ante este resultado se procede a realizar una prueba de comparaciones múltiples mediante el Test LSD de Fisher.

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=949.67760					
Error: 225947.3154 gl: 6					
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	Medias	n	E.E.		
3%	3649.58	3	274.44	A	
0%	4042.74	3	274.44	A	B
1%	4982.91	3	274.44		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

A partir del Test LSD de Fisher se puede observar que la dosificación del 3% de biochar es significativamente distinta de la dosificación del 1% de biochar, mientras que la dosificación del 0% de biochar no es significativamente distinta a las demás.

Concentración de manganeso (Mn) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Mn	8	0	88.6	0.93	0.5885

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte aérea de *Paranephelium ovatus*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.5885, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte aérea de *Paranephelium ovatus* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS Mn	8	0.39	0.14	71.76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7288.18	2	3644.09	1.57	0.2954
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	7288.18	2	3644.09	1.57	0.2954
Error	11592.16	5	2318.43		
Total	18880.35	7			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de manganeso en la parte aérea de *Paranephelium ovatus* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.2954, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	88746.54	2	44373.27	4.04	0.0903
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	88746.54	2	44373.27	4.04	0.0903
Error	54893.81	5	10978.76		
Total	143640.4	7			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor menor a 0.05 (0.0903), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de manganeso en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta ninguno de los niveles del factor.

Concentración de hierro (Fe) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Fe	9	2E-12	1811	0.76	0.0063

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte aérea de *Paranephelius ovatus*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.0063, se procede a rechazar la hipótesis nula, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* en cada tratamiento, no tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Fe	9	0.65	0.53	49.44	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5333023	2	2666512	5.46	0.0446
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	5333023	2	2666512	5.46	0.0446
Error	2929819	6	488303.2		
Total	8262843	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de hierro en la parte aérea de *Paranephelium ovatus* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.0446, por lo que se rechaza la hipótesis nula, quedando demostrado que hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

Ante la verificación de que no se cumplen los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, se procedió a realizar la transformación de los valores, haciendo uso de la raíz cuadrada y logaritmo en base 10, sin obtener éxito alguno en ninguno de los supuestos por lo que el análisis de varianza las concentraciones de hierro en la parte aérea de *Paranephelium ovatus* no se consideró válido y se procedió a utilizar la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis con el fin de determinar diferencias significativas haciendo inferencia en la función a la mediana de los datos.

- Prueba de Kruskal Wallis

Una vez verificado que no se cumple con el supuesto de normalidad, se procede a evaluar la tabla de resultados de la prueba de Kruskal Wallis, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.

- H_1 : al menos uno $(\alpha)_i \neq 0$.

Variable	DOSIFICACIÓN DE BIOCHAR	N	D.E.	Medianas	H	p
Fe	0%	3	2524.8	38.46	0.8	0.7179
Fe	1%	3	2561.07	25.64		
Fe	3%	3	431.35	3076.92		

En la tabla se puede observar un p-valor mayor a 0.05 (0.7179), por lo que, se rechaza la hipótesis alterna, concluyendo que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de hierro en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de zinc (Zn) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Con los datos que corresponden a la concentración de zinc en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* no se lograba validar la homogeneidad de varianzas y tras aplicar el logaritmo en base 10 se corrigió dicho supuesto, por lo que las evaluaciones de los supuestos serán presentadas en logaritmo de base 10.

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO LOG10_Zn	9	0	0.17	0.94	0.7072

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte aérea de *Paranephelius ovatus*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.7072, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS LOG10_Zn	9	0.63	0.5	64.47	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.06	2	0.03	5.01	0.0525
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	0.06	2	0.03	5.01	0.0525
Error	0.04	6	0.01		
Total	0.1	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de zinc en la parte aérea de *Paranephelium ovatus* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.0525, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.29	2	0.14	3.74	0.0881
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	0.29	2	0.14	3.74	0.0881
Error	0.23	6	0.04		
Total	0.52	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor menor a 0.05 (0.0881), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de zinc en la parte aérea de *Paranephelium ovatus* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta ninguno de los niveles del factor.

Concentración de aluminio (Al) en la parte aérea:

En este caso, se retiró los datos obtenidos a partir del tratamiento de *Paranephelius ovatus* y 3% de biochar, ya que los resultados obtenidos en dicho análisis, fueron identificados como valores extremos en el diagrama de cajas y bigotes, por lo que, antes de realizar promedios o cualquier análisis estadístico, fueron retirados. Por lo tanto, el análisis de varianza en este caso está basado en dosificaciones del 0% y 1% de biochar en *Paranephelius ovatus*.

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Al	5	0	19.2	0.85	0.2306

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte aérea de *Paranephelius ovatus*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.2306, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS Al	5	0.31	0.08	44.79

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	68.82	1	68.82	1.37	0.3264	
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	68.82	1	68.82	1.37	0.3264	
Error	150.76	3	50.25			
Total	219.58	4				

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de aluminio en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.3264, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- H_1 : al menos uno $(\alpha)_j \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	309.83	1	309.83	0.63	0.4849
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	309.83	1	309.83	0.63	0.4849
Error	1472.31	3	490.77		
Total	1782.14	4			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor menor a 0.05 (0.4849), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de aluminio en la parte aérea de *Paranephelius ovatus* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta ninguno de los niveles del factor.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS Y ANÁLISIS DE VARIANZA: Concentración de metales en la parte aérea de las plantas de *Werneria nubigena* y dosificaciones de biochar posterior al experimento.

Concentración de cobre (Cu) en la parte aérea:

- **Análisis de supuestos:**

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Cu	8	0	657	0.94	0.6736

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte aérea de *Werneria nubigena*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.6736, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte aérea de *Werneria nubigena* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Cu	8	0.48	0.27	98.87	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	782922.8	2	391461.4	2.31	0.1951
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	782922.8	2	391461.4	2.31	0.1951
Error	848560	5	169712		
Total	1631483	7			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de cobre en la parte aérea de *Werneria nubigena* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1951, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales del factor, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1160995	2	580497.5	0.96	0.4435
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	1160995	2	580497.5	0.96	0.4435
Error	3020369	5	604073.8		
Total	4181364	7			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.4435), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de cobre en la parte aérea de *Werneria nubigena* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de manganeso (Mn) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Mn	9	0	160	0.92	0.5362

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte aérea de *Werneria nubigena*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \text{Tiene una distribución normal.}$
- $H_1: \text{No tiene una distribución normal.}$

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.5362, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte aérea de *Werneria nubigena* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Mn	9	0.28	0.04	46.33	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9538.21	2	4769.1	1.17	0.3736
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	9538.21	2	4769.1	1.17	0.3736
Error	24552.46	6	4092.08		
Total	34090.67	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de manganeso en la parte aérea de *Werneria nubigena* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.3736, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	56810.01	2	28405.01	0.83	0.4811
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	56810.01	2	28405.01	0.83	0.4811
Error	205692.8	6	34282.14		

Total	262502.8	8			
-------	----------	---	--	--	--

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.4811), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de manganeso en la parte aérea de *Werneria nubigena* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de hierro (Fe) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Fe	9	0	1647	0.91	0.423

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte aérea de *Werneria nubigena*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.4230, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte aérea de *Werneria nubigena* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Fe	9	0.51	0.34	84.61	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5438603	2	2719302	3.11	0.1186
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	5438603	2	2719302	3.11	0.1186
Error	5251942	6	875323.7		
Total	10690546	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de hierro en la

parte aérea de *Werneria nubigena* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1168, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- H_1 : al menos uno $(\alpha)_j \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12191567	2	6095784	1.69	0.2624
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	12191567	2	6095784	1.69	0.2624
Error	21695570	6	3615928		
Total	33887138	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.2624), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de hierro en la parte aérea de *Werneria nubigena* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de zinc (Zn) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Zn	8	0	223	0.98	0.962

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de

zinc en la parte aérea de *Werneria nubigena*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.9620, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte aérea de *Werneria nubigena* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Zn	8	0.24	0	69.84	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	23964.21	2	11982.11	0.79	0.5031
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	23964.21	2	11982.11	0.79	0.5031
Error	75779.17	5	15155.83		
Total	99743.38	7			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de zinc en la parte aérea de *Werneria nubigena* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.5031, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- H_1 : al menos uno $(\alpha)_j \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	280108.9	2	140054.5	2.01	0.2287
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	280108.9	2	140054.5	2.01	0.2287
Error	348348.7	5	69669.74		
Total	628457.6	7			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.2287), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de zinc en la parte aérea de *Werneria nubigena* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte aérea de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de aluminio (Al) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Al	8	0	425	0.8	0.0397

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte aérea de *Werneria nubigena*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.0397, se procede a rechazar la hipótesis nula, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte aérea de *Werneria nubigena* en cada tratamiento, no tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R²	R² Aj	CV
RABS Al	8	0.83	0.76	70.09

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	666227	2	333113.5	11.85	0.0127
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	666227	2	333113.5	11.85	0.0127

Error	140589.4	5	28117.88		
Total	806816.4	7			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de aluminio en la parte aérea de *Werneria nubigena* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1270, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

Al observar que no se cumple ninguno de los supuesto, se procedió a realizar la transformación de los datos, utilizando el logaritmo en base 10 y la raíz cuadrada, sin obtener resultado exitoso para ambos, por lo que, al no cumplir con dicho supuesto de normalidad se utilizó la prueba de Kruskal Wallis para determinar diferencias significativas entre los niveles del factor haciendo inferencia en la mediana de los resultados.

- Prueba de Kruskal Wallis

Una vez verificado que no se cumple con el supuesto de normalidad, se procede a evaluar la tabla de resultados de la prueba de Kruskal Wallis, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_j \neq 0.$

Variable	DOSIFICACIÓN DE BIOCHAR	N	D.E.	Medianas	H	p
Al	0%	2	2.72	51.67	3.93	0.1810
Al	1%	2	23.39	70.9		
Al	3%	3	21.33	87.18		

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.1810), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de aluminio en la parte aérea de *Werneria nubigena* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS Y ANÁLISIS DE VARIANZA: Concentración de metales en la parte aérea de las tres especies vegetales altoandinas y dosificaciones de biochar posterior al experimento.

Concentración de cobre (Cu) en la parte aérea:

- **Análisis de supuestos:**

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Cu	26	0	656	0.97	0.8765

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.8765, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS Cu	26	0.22	0.07	81.84

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	953477.9	4	238369.5	1.45	0.2516
ESPECIE VEGETAL* DOSIFICACIÓN BIOCHAR	953477.9	4	238369.5	1.45	0.2516
Error	3443124	21	163958.3		
Total	4396602	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de cobre en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : $\sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.2516, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1948379	4	487094.8	0.95	0.4547
ESPECIE VEGETAL* DOSIFICACIÓN BIOCHAR	1948379	4	487094.8	0.95	0.4547
Error	10761311	21	512443.4		
Total	12709690	25			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.4547), concluyendo que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual a cero, es decir, que la acumulación de cobre analizado en la parte aérea de las especies vegetales no depende de la combinación de la dosificación del biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente.

Concentración de manganeso (Mn) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Con los datos que corresponden a la concentración de manganeso en la parte aérea de la interacción entre las especies vegetales y dosificación de biochar no se lograba validar la normalidad de los residuos, y tras aplicar el logaritmo en base 10 se corrigió dicho supuesto, por lo que las evaluaciones de los supuestos serán presentadas en logaritmo de base 10.

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO LOG10_Mn	26	0	0.06	0.91	0.1012

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.1012, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS LOG10_Mn	26	0.11	0	75.29	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.003	4	0.00075	0.67	0.6229
ESPECIE VEGETAL* DOSIFICACIÓN BIOCHAR	0.003	4	0.00075	0.67	0.6229
Error	0.02	21	0.0011		
Total	0.03	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de manganeso en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_t^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.6229, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.02	4	0.01	1.48	0.2445
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIE VEGETAL	0.02	4	0.01	1.48	0.2445
Error	0.08	21	0.0037		
Total	0.1	25			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.2445), concluyendo que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual a cero, es decir, que la acumulación de manganeso analizado en la parte aérea de las especies vegetales no depende de la combinación de la dosificación del biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente.

Concentración de hierro (Fe) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Con los datos que corresponden a la concentración de hierro en la parte aérea de la interacción entre las especies vegetales y dosificación de biochar no se lograba validar la normalidad de los residuos, y tras aplicar el logaritmo en base 10 se corrigió dicho supuesto, por lo que las evaluaciones de los supuestos serán presentadas en logaritmo de base 10.

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO LOG10_Fe	27	0	0.9	0.93	0.2336

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.2336, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS LOG10_Fe	27	0.28	0.15	48.9	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1.29	4	0.32	2.19	0.1039
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	1.29	4	0.32	2.19	0.1039
Error	3.23	22	0.15		
Total	4.52	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de hierro en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.1039, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3)$.
- H_1 : al menos uno $(\alpha\beta)_{ij} \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor

Modelo	4.69	4	1.17	1.22	0.3302
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	4.69	4	1.17	1.22	0.3302
Error	21.11	22	0.96		
Total	25.8	26			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.3302), concluyendo que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual a cero, es decir, que la acumulación de hierro analizado en la parte aérea de las especies vegetales no depende de la combinación de la dosificación del biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente.

Concentración de zinc (Zn) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Zn	26	0	237	0.91	0.0981

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.0981, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Zn	26	0.18	0.03	101.91	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	131126.1	4	32781.52	1.19	0.3438
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	131126.1	4	32781.52	1.19	0.3438

Error	578050	21	27526.19		
Total	709176.1	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de zinc en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.3438, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	496270.7	4	124067.7	1.86	0.1545
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	496270.7	4	124067.7	1.86	0.1545
Error	1398330	21	66587.13		
Total	1894600	25			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.1545), concluyendo que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual a cero, es decir, que la acumulación de zinc analizado en la parte aérea de las especies vegetales no depende de la combinación de la dosificación del biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente.

Concentración de aluminio (Al) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Al	19	0	25.3	0.96	0.7506

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.7506, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Al	19	0.39	0.22	70.56	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1707.05	4	426.76	2.26	0.1141
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	1707.05	4	426.76	2.26	0.1141
Error	2638.78	14	188.48		
Total	4345.82	18			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de aluminio en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : $\sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.1141, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay

evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2435.87	4	608.97	0.74	0.5809
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	2435.87	4	608.97	0.74	0.5809
Error	11537.84	14	824.13		
Total	13973.71	18			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.5809), concluyendo que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual a cero, es decir, que la acumulación de aluminio analizado en la parte aérea de las especies vegetales no depende de la combinación de la dosificación del biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS Y ANÁLISIS DE VARIANZA: Variación de la concentración de metales en la parte aérea de las tres especies vegetales altoandinas y dosificaciones de biochar posterior al experimento.

Concentración de cobre (Cu) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos:

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Cu	26	0	522	0.98	0.9569

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la concentración de cobre en la parte aérea de las especies vegetales en

interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.9569, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Cu	26	0.49	0.39	71.6	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1500450	4	375112.4	5.07	0.0051
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACIÓN BIOCHAR	1500450	4	375112.4	5.07	0.0051
Error	1554884	21	74042.1		
Total	3055334	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de cobre en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.0051, por lo que se rechaza la hipótesis nula, quedando demostrado que hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor "Dosificación biochar":

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Cu	26	0.01	0	95.57	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	21385	2	10692.5	0.08	0.9224
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	21385	2	10692.5	0.08	0.9224

Error	3033949	23	131910.8		
Total	3055334	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de cobre en la parte aérea de las especies vegetales en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.9224, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Cu	26	0.01	0	95.24	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	42813.4	2	21406.7	0.16	0.8502
ESPECIE VEGETAL	42813.4	2	21406.7	0.16	0.8502
Error	3012520	23	130979.1		
Total	3055334	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de cobre en la parte aérea de las especies vegetales en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “especie vegetal” es de 0.8502, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19015855	8	2376982	5.93	0.001
ESPECIE VEGETAL	15742450	2	7871225	19.65	<0.0001
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	2078943	2	1039471	2.59	0.1039
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	2087476	4	521868.9	1.3	0.3085
Error	6809993	17	400587.9		
Total	25825848	25			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.3085), sin embargo, este resultado queda invalidado debido a que la interacción de los factores no cumplió con el supuesto de homogeneidad de la varianza. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especies vegetales)

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\beta)_i \neq 0.$

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.1039), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la variación de la concentración de cobre en la parte aérea de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de cobre en la parte aérea de las plantas no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor especies vegetal presenta un p-valor menor a 0.05 (<0.0001), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el efecto de la especie vegetal en la variación de la concentración de cobre en la parte aérea de las plantas es distinto de cero,

es decir, que la variación de la concentración de cobre en la parte aérea de las plantas es significativamente distinta en al menos dos de los niveles del factor. Por lo que se procede analizar el test de LSD de Fisher para el factor especies vegetales.

- Test LSD de Fisher

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=642.46798					
Error: 400587.8486 gl: 17					
ESPECIE VEGETAL	Medias	n	E.E.		
<i>Werneria nubigena</i>	222.22	8	227.88	A	
<i>Paranephelius ovatus</i>	1019.94	9	210.97		B
<i>Calamagrostis spp.</i>	2148.15	9	210.97		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

En la **tabla del Test LSD de Fisher** se puede observar que la variación de la concentración de cobre en la parte aérea de las plantas es significativamente distinto en todas las especies vegetales, donde *Calamagrostis spp.* obtuvo una mayor media con 2148 mg/kg.

Concentración de manganeso (Mn) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos:

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Mn	26	0	111	0.97	0.8252

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la concentración de manganeso en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.8252, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS Mn	26	0.12	0	70.23

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	11167.83	4	2791.96	0.69	0.6079
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	11167.83	4	2791.96	0.69	0.6079
Error	85145.89	21	4054.57		
Total	96313.72	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de manganeso en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.6079, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Dosificación biochar”:

Variable	N	R²	R² Aj	CV
RABS Mn	26	0.07	0	68.99

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6330.19	2	3165.1	0.81	0.4576
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	6330.19	2	3165.1	0.81	0.4576
Error	89983.52	23	3912.33		
Total	96313.72	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de manganeso en la parte aérea de las especies vegetales en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.4576, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Mn	26	0.32	0.26	58.78	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	30984.54	2	15492.27	5.45	0.0115
ESPECIE VEGETAL	30984.54	2	15492.27	5.45	0.0115
Error	65329.18	23	2840.4		
Total	96313.72	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de manganeso en la parte aérea de las especies vegetales en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.0115, por lo que se rechaza la hipótesis nula, quedando demostrado que hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3542094	8	442761.7	24.28	<0.0001
ESPECIE VEGETAL	3387586	2	1693793	92.88	<0.0001
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	38097.63	2	19048.82	1.04	0.3734
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	118907.4	4	29726.85	1.63	0.2125
Error	310032.9	17	18237.23		
Total	3852127	25			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.2125), y se concluye que el efecto de la interacción de los factores en la variación de la concentración de manganeso en la parte aérea de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de manganeso en la parte aérea de las plantas no es significativamente distinta en ninguna de las interacciones posibles. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especies vegetales)

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\beta)_i \neq 0.$

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.3734), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la variación de la concentración de manganeso en la parte aérea de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de manganeso en la parte aérea de las plantas no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor especies vegetal presenta un p-valor menor a 0.05 (<0.0001), sin embargo, este valor queda invalidado ya que no cumplió con el supuesto de homogeneidad de varianza.

Concentración de hierro (Fe) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos:

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Fe	27	0	1563	0.91	0.0522

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la concentración de hierro en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.0522, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Fe	27	0.51	0.42	69.2	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	14198597	4	3549649	5.64	0.0028
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	14198597	4	3549649	5.64	0.0028
Error	13848227	22	629464.9		
Total	28046824	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de hierro en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.0028, por lo que se rechaza la hipótesis nula, quedando demostrado que hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor "Dosificación biochar":

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Fe	27	0.05	0	91.67	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1539584	2	769792.1	0.7	0.5079
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	1539584	2	769792.1	0.7	0.5079
Error	26507240	24	1104468		
Total	28046824	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de hierro en la parte aérea de las especies vegetales en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.5079, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Fe	27	0.04	0	92.4	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1116323	2	558161.4	0.5	0.6142
ESPECIE VEGETAL	1116323	2	558161.4	0.5	0.6142
Error	26930502	24	1122104		
Total	28046824	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de hierro en la parte aérea de las especies vegetales en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.6142, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	39964269	8	4995534	1.42	0.256
ESPECIE VEGETAL	15954702	2	7977351	2.26	0.1331
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	5287966	2	2643983	0.75	0.487
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	18721601	4	4680400	1.33	0.2983
Error	63533513	18	3529640		
Total	1.03E+08	26			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.2938), y se concluye que el efecto de la interacción de los factores en la variación de la concentración de hierro en la parte aérea de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de hierro en la parte aérea de las plantas no es significativamente distinta en ninguna de las interacciones posibles. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especies vegetales)

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\beta)_i \neq 0.$

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.4870), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la variación de la concentración de hierro en la parte aérea de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de hierro en la parte aérea de las plantas no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor especies vegetal presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.1331), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de las especies vegetales en la variación de la concentración de hierro en la parte aérea de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de hierro en la parte aérea de las plantas no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de zinc (Zn) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos:

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Zn	26	0	194	0.97	0.884

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la concentración de zinc en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.8840, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Zn	26	0.3	0.17	81.93	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	124667.99	4	31167	2.29	0.0937
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	124668	4	31167	2.29	0.0937
Error	285880.7	21	13613.37		
Total	410548.7	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de zinc en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.0937, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay

evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Dosificación biochar”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Zn	26	0.23	0.16	82.59	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	92382.36	2	46191.18	3.34	0.0533
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	92382.36	2	46191.18	3.34	0.0533
Error	318166.4	23	13833.32		
Total	410548.7	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de zinc en la parte aérea de las especies vegetales en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.0533, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Zn	26	0.09	0.01	89.54	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	36578.91	2	18289.46	1.12	0.3419
ESPECIE VEGETAL	36578.91	2	18289.46	1.12	0.3419
Error	373969.8	23	16259.56		
Total	410548.7	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de zinc en la parte aérea de las especies vegetales en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.3419, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3800994	8	475124.2	8.61	0.0001
ESPECIE VEGETAL	3013750	2	1506875	27.32	<0.0001
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	148277.9	2	74138.94	1.34	0.2872
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	505601.58	4	126400.39	2.29	0.1018
Error	937817.2	17	55165.72		
Total	4738811	25			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.1018), y se concluye que el efecto de la interacción de los factores en la variación de la concentración de zinc en la parte aérea de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de zinc en la parte aérea de las plantas no es significativamente distinta en ninguna de las interacciones posibles. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especies vegetales)

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\beta)_i \neq 0.$

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.2872), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la variación de la concentración de zinc en la parte aérea de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de zinc en la parte aérea de las plantas no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor especies vegetal presenta un p-valor menor a 0.05 (<0.0001), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el efecto de la especie vegetal en la variación de la concentración de zinc en la parte aérea de las plantas es distinto de cero, es decir, que la variación de la concentración de zinc en la parte aérea de las plantas es significativamente distinta en al menos dos de los niveles del factor. Por lo que se procede analizar el test de LSD de Fisher para el factor especies vegetales.

- Test LSD de Fisher

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=238.41701					
Error: 55165.7192 gl: 17					
ESPECIE VEGETAL	Medias	n	E.E.		
<i>Paranephelium ovatus</i>	-527.07	9	78.29	A	
<i>Werneria nubigena</i>	189.46	8	84.56		B
<i>Calamagrostis spp.</i>	191.74	9	78.29		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

En la **tabla del Test LSD de Fisher** se puede observar que la variación de la concentración de zinc en la parte aérea de las plantas es significativamente distinto en *Paranephelium ovatus* con respecto a las demás especies, obteniendo una media de -527.07 mg/kg.

Concentración de aluminio (Al) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos:

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Al	19	0	23.1	0.98	0.9864

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la concentración de aluminio en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.

- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.9864, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS AI	19	0.26	0.05	90	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1108.26	4	277.06	1.22	0.3463
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	1108.26	4	277.06	1.22	0.3463
Error	3178.96	14	227.07		
Total	4287.22	18			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de aluminio en la parte aérea de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.3463, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor "Dosificación biochar":

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS AI	19	0.15	0.04	90.29	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	630.3	2	315.15	1.38	0.2802
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	630.3	2	315.15	1.38	0.2802
Error	3656.92	16	228.56		
Total	4287.22	18			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de aluminio en la parte aérea de las especies vegetales en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.2802, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS AI	19	0.09	0	93.11	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	398.8	2	199.4	0.82	0.4579
ESPECIE VEGETAL	398.8	2	199.4	0.82	0.4579
Error	3888.42	16	243.03		
Total	4287.22	18			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de aluminio en la parte aérea de las especies vegetales en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.4579, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3606342	7	515191.8	589.49	<0.0001
ESPECIE VEGETAL	3603200	2	1801600	2061.43	<0.0001
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	844.18	2	422.09	0.48	0.6294
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	2297.78	3	765.93	0.88	0.4828
Error	9613.54	11	873.96		
Total	3615956	18			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.4828), y se concluye que el efecto de la interacción de los factores en la variación de la concentración de aluminio en la parte aérea de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de aluminio en la parte aérea de las plantas no es significativamente distinta en ninguna de las interacciones posibles. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especies vegetales)

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\beta)_i \neq 0.$

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.6294), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la variación de la concentración de aluminio en la parte aérea de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de aluminio en la parte aérea de las plantas no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor especies vegetal presenta un p-valor menor a 0.05 (<0.0001), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la especie vegetal en la variación de la concentración de aluminio en la parte aérea de las plantas es distinto de cero, es decir, que la variación de la concentración de aluminio en la parte aérea de las plantas es significativamente distinta en al menos dos de los niveles del

factor. Por lo que se procede analizar el test de LSD de Fisher para el factor especies vegetales.

- Test LSD de Fisher

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=37.02604						
Error: 873.9585 gl: 11						
ESPECIE VEGETAL	Medias	n	E.E.			
<i>Paranephelium ovatus</i>	-980.43	5	13.49	A		
<i>Werneria nubigena</i>	-10.88	7	11.38		B	
<i>Calamagrostis spp.</i>	24.99	7	11.38			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

En la **tabla del Test LSD de Fisher** se puede observar que las variaciones de las concentraciones de aluminio en las partes aéreas de las plantas son significativamente distintas entre sí. *Calamagrostis spp.* obtuvo la mayor media con 24.99 mg/kg.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS Y ANÁLISIS DE VARIANZA: Concentración de metales en la parte radicular de las plantas de *Calamagrostis spp.* y dosificaciones de biochar posterior al experimento.

Concentración de cobre (Cu) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos:

Con los datos que corresponden a la concentración de cobre en la parte radicular de *Calamagrostis spp.* no se lograba validar la normalidad de los residuos, y tras aplicar el logaritmo en base 10 se corrigió dicho supuesto, por lo que las evaluaciones de los supuestos serán presentadas en logaritmo de base 10.

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO LOG10_Cu	9	0	0.1	0.89	0.3145

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte radicular de *Calamagrostis spp.*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.3145, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte radicular de *Calamagrostis spp.* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS LOG10_Cu	9	0.58	0.43	53.58	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.02	2	0.01	4.07	0.0764
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	0.02	2	0.01	4.07	0.0764
Error	0.01	6	0.0018		
Total	0.03	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de cobre en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.0764, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales del factor, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_j \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.02	2	0.01	0.8	0.4918
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	0.02	2	0.01	0.8	0.4918
Error	0.08	6	0.01		
Total	0.11	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.4918), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de cobre en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de manganeso (Mn) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Mn	9	0	182	0.95	0.8105

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte radicular de *Calamagrostis* spp., dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.8105, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Mn	9	0.43	0.24	64.54	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	37822.34	2	18911.17	2.3	0.1816
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	37822.34	2	18911.17	2.3	0.1816
Error	49377.39	6	8229.57		
Total	87199.73	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de manganeso en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1816, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- H_1 : al menos uno $(\alpha)_j \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7920.1	2	3960.05	0.09	0.9154
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	7920.1	2	3960.05	0.09	0.9154
Error	264993.1	6	44165.52		
Total	272913.2	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.9154), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de manganeso en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de hierro (Fe) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Fe	9	0	1188	0.71	0.0011

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte radicular de *Calamagrostis* spp., dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.0011, se procede a rechazar la hipótesis nula, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. en cada tratamiento, no tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Fe	9	0.11	0	46.03	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	178181.7	2	89090.83	0.39	0.694
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	178181.7	2	89090.83	0.39	0.694
Error	1375909	6	229318.1		
Total	1554090	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de hierro en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.6940, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

Ante la validación del supuesto de homogeneidad de varianzas y al observar que no se cumple con el supuesto de normalidad e los residuos, se procedió a realizar la transformación de los datos, utilizando el logaritmo en base 10 y la raíz cuadrada, sin obtener resultado exitoso en cuando la normalidad de los residuos, por lo que, al no cumplir con el supuesto de normalidad se utilizó la prueba de Kruskal Wallis para determinar diferencias significativas entre los niveles del factor haciendo inferencia en la mediana de los resultados.

- Prueba de Kruskal Wallis

Una vez verificado que no se cumple con el supuesto de normalidad, se procede a evaluar la tabla de resultados de la prueba de Kruskal Wallis, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0$.

Variable	DOSIFICACIÓN DE BIOCHAR	N	D.E.	Medianas	H	p
Fe	0%	3	1450.72	2461.54	1.09	0.625
Fe	1%	3	1119.53	1717.95		
Fe	3%	3	1513.47	2564.1		

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.6250), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de hierro en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de zinc (Zn) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Zn	9	0	400	0.87	0.2055

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte radicular de *Calamagrostis* spp., dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.2055, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Zn	9	0.14	0	49.1	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor

Modelo	27218.26	2	13609.13	0.47	0.646
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	27218.26	2	13609.13	0.47	0.646
Error	173599.6	6	28933.26		
Total	200817.8	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de zinc en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.6460, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_j \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	491054.1	2	245527	1.15	0.3778
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	491054.1	2	245527	1.15	0.3778
Error	1280990	6	213498.3		
Total	1772044	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.3778), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de zinc en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de aluminio (Al) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Al	9	0	596	0.82	0.0516

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte radicular de *Calamagrostis* spp., dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.0516, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS Al	9	0.09	0	58.42

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	48188.53	2	24094.27	0.28	0.7654
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	48188.53	2	24094.27	0.28	0.7654
Error	516970.5	6	86161.76		
Total	565159.1	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de aluminio en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : $\sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.7654, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	80468.19	2	40234.09	0.09	0.9195
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	80468.19	2	40234.09	0.09	0.9195
Error	2837266	6	472877.7		
Total	2917735	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.9195), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de aluminio en la parte radicular de *Calamagrostis* spp. es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS Y ANÁLISIS DE VARIANZA: Concentración de metales en la parte radicular de las plantas de *Calamagrostis* spp. y dosificaciones de biochar posterior al experimento.

Concentración de cobre (Cu) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos:

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Cu	9	0	908	0.98	0.9499

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte radicular de *Paranephelius ovatus*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.9499, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Cu	9	0.43	0.24	75.12	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1119019	2	559509.6	2.24	0.1873
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	1119019	2	559509.6	2.24	0.1873
Error	1496325	6	249387.5		
Total	2615344	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de cobre en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1873, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2152965	2	1076482	0.98	0.4284
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	2152965	2	1076482	0.98	0.4284

Error	6592585	6	1098764		
Total	8745550	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor menor a 0.05 (0.4284), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de cobre en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* es distinta a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta es significativamente distinta en al menos uno de los niveles del factor.

Concentración de manganeso (Mn) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Mn	9	0	209	0.86	0.1682

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte radicular de *Paranephelius ovatus*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.1682, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Mn	9	0.22	0	56.1	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	16368.04	2	8184.02	0.85	0.4726
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	16368.04	2	8184.02	0.85	0.4726
Error	57666.5	6	9611.08		
Total	74034.55	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de manganeso en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.4726, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	294795.4	2	147397.7	2.54	0.1592
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	294795.4	2	147397.7	2.54	0.1592
Error	348836.5	6	58139.42		
Total	643631.9	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor menor a 0.05 (0.1592), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de manganeso en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta ninguno de los niveles del factor.

Concentración de hierro (Fe) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Fe	9	0	1312	0.89	0.273

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte radicular de *Paranephelius ovatus*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.2730, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Fe	9	0.07	0	46.31	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	132702.5	2	66351.25	0.23	0.7987
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	132702.5	2	66351.25	0.23	0.7987
Error	1705584	6	284264		
Total	1838286	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de hierro en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).

- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.7987, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- H_0 : $\alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- H_1 : al menos uno $(\alpha)_i \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2478157	2	1239078	0.54	0.6087
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	2478157	2	1239078	0.54	0.6087
Error	13769324	6	2294887		
Total	16247480	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor menor a 0.05 (0.6087), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de hierro en la parte radicular de *Paranephelium ovatus* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta ninguno de los niveles del factor.

Concentración de zinc (Zn) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos

Con los datos que corresponden a la concentración de zinc en la parte radicular de *Paranephelium ovatus* no se lograba validar la homogeneidad de varianzas. y tras aplicar el logaritmo en base 10 se corrigió dicho supuesto, por lo que las evaluaciones de los supuestos serán presentadas en logaritmo de base 10.

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO LOG10_Zn	9	0	0.32	0.86	0.1527

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte radicular de *Paranephelius ovatus*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.1527, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS LOG10_Zn	9	0.37	0.16	55.38	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.07	2	0.04	1.75	0.2524
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	0.07	2	0.04	1.75	0.2524
Error	0.13	6	0.02		
Total	0.2	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de zinc en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : $\sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.2524, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.59	2	0.3	2.14	0.1983
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	0.59	2	0.3	2.14	0.1983
Error	0.83	6	0.14		
Total	1.42	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor menor a 0.05 (0.1983), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de zinc en la parte radicular de *Paranephelium ovatus* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta ninguno de los niveles del factor.

Concentración de aluminio (Al) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Al	9	0	523	0.9	0.3766

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte radicular de *Paranephelium ovatus*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.3766, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte radicular de *Paranephelium ovatus* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R²	R² Aj	CV
RABS Al	9	0.12	0	47.77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	40339.85	2	20169.93	0.43	0.6714
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	40339.85	2	20169.93	0.43	0.6714
Error	284065.8	6	47344.29		
Total	324405.6	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de aluminio en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.6714, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	141196.5	2	70598.26	0.19	0.8292
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	141196.5	2	70598.26	0.19	0.8292
Error	2191400	6	365233.3		
Total	2332596	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor menor a 0.05 (0.8292), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de aluminio en la parte radicular de *Paranephelius ovatus* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta ninguno de los niveles del factor.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS Y ANÁLISIS DE VARIANZA: Concentración de metales en la parte radicular de las plantas de *Werneria nubigena* y dosificaciones de biochar posterior al experimento.

Concentración de cobre (Cu) en la parte radicular:

- **Análisis de supuestos:**

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Cu	9	0	536	0.96	0.8500

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte radicular de *Werneria nubigena*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.8500, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte radicular de *Werneria nubigena* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- ***Dosificación de biochar:***

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Cu	9	0.45	0.27	58.83	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	310971	2	155485.5	2.5	0.1619
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	310971	2	155485.5	2.5	0.1619
Error	372514	6	62085.66		
Total	683484.9	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de cobre en la parte radicular de *Werneria nubigena* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : $\sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1619, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales del factor, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4177947	2	2088974	5.45	0.0447
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	4177947	2	2088974	5.45	0.0447
Error	2298050	6	383008.4		
Total	6475998	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.045), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de cobre en la parte radicular de *Werneria nubigena* es distinto de cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta es significativamente distinta en al menos uno de los niveles del factor, por lo que se procede a realizar una prueba de comparaciones múltiples mediante el Test LSD de Fisher.

- Test LSD de Fisher

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1236.45057					
Error: 383008.4119 gl: 6					
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	Medias	n	E.E.		
3%	3051.28	3	357.31	A	
0%	4196.58	3	357.31	A	B
1%	4675.21	3	357.31		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

A partir del Test LSD de Fisher se puede observar que la dosificación del 3% de biochar es significativamente distinta de la dosificación del 1% de biochar,

mientras que la dosificación del 0% de biochar no es significativamente distinta a las demás.

Concentración de manganeso (Mn) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Mn	9	0	159	0.99	>0.9999

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte radicular de *Werneria nubigena*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es > 0.9999 , se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte radicular de *Werneria nubigena* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS Mn	9	0.29	0.06	86.41

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	24438.2	2	12219.1	1.25	0.3523
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	24438.2	2	12219.1	1.25	0.3523
Error	58765.87	6	9794.31		
Total	83204.07	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de manganeso en la parte radicular de *Werneria nubigena* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : $\sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.3523, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	161088.1	2	80544.04	2.4	0.1713
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	161088.1	2	80544.04	2.4	0.1713
Error	201255.9	6	33542.64		
Total	362343.9	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.1713), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de manganeso en la parte radicular de *Werneria nubigena* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de hierro (Fe) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Fe	9	0	1504	0.94	0.712

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte radicular de *Werneria nubigena*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \text{Tiene una distribución normal.}$
- $H_1: \text{No tiene una distribución normal.}$

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.7120, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte radicular de *Werneria nubigena* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Fe	9	0.51	0.34	89.78	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4756436	2	2378218	3.06	0.1213
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	4756436	2	2378218	3.06	0.1213
Error	4661976	6	776996		
Total	9418412	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de hierro en la parte radicular de *Werneria nubigena* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1213, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10892165	2	5446083	1.81	0.2432
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	10892165	2	5446083	1.81	0.2432

Error	18093191	6	3015532		
Total	28985356	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.2432), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de hierro en la parte radicular de *Werneria nubigena* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de zinc (Zn) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Zn	9	0	486	0.97	0.9013

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte radicular de *Werneria nubigena*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.9013, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte radicular de *Werneria nubigena* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Zn	9	0.34	0.12	72.47	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	222269.2	2	111134.6	1.54	0.288
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	222269.2	2	111134.6	1.54	0.288
Error	432270.8	6	72045.13		
Total	654540	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de zinc en la parte radicular de *Werneria nubigena* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.2880, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_j \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	926148.4	2	463074.2	1.47	0.3021
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	926148.4	2	463074.2	1.47	0.3021
Error	1889108	6	314851.3		
Total	2815256	8			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.3021), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la concentración de zinc en la parte radicular de *Werneria nubigena* es igual a cero, es decir, que la concentración del metal en la parte radicular de la planta no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

Concentración de aluminio (Al) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Al	9	0	463	0.95	0.8022

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte radicular de *Werneria nubigena*, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.8022, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte radicular de *Werneria nubigena* en cada tratamiento, tienen una distribución normal.

homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Dosificación de biochar:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Al	9	0.72	0.63	53.43	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	503144	2	251572	7.8	0.0214
DOSIFICACIÓN BIOCHAR	503144	2	251572	7.8	0.0214
Error	193521.5	6	32253.58		
Total	696665.5	8			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de aluminio en la parte radicular de *Werneria nubigena* en función al factor “dosificación de biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : $\sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.024, por lo que se rechaza la hipótesis nula, quedando demostrado que hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

Ante la verificación de que no se cumple el supuesto de homogeneidad de varianza, se procedió a realizar la transformación de los valores, haciendo uso de la raíz cuadrada y logaritmo en base 10, sin obtener éxito alguno con dicho supuesto, por lo que el análisis de varianza las concentraciones de aluminio en la parte radicular de *Werneria nubigena* no se consideró válido y la alternativa de utilizar estadística no paramétrica mediante la prueba de Kruskal Wallis quedó descartada al cumplir la normalidad de los residuos.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS Y ANÁLISIS DE VARIANZA: Concentración de metales en la parte radicular de las tres especies vegetales altoandinas y dosificaciones de biochar posterior al experimento.

Concentración de cobre (Cu) en la parte aérea:

- **Análisis de supuestos:**

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Cu	27	0	1108	0.92	0.1522

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de cobre en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.1522, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Cu	27	0.29	0.16	75.19	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3670712	4	917678.1	2.26	0.0949
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIE VEGETAL	3670712	4	917678.1	2.26	0.0949
Error	8917362	22	405334.7		
Total	12588075	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de cobre en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.0949, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3494578	4	873644.5	0.6	0.6654
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	3494578	4	873644.5	0.6	0.6654
Error	31943522	22	1451978		
Total	35438100	26			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.6654), concluyendo que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual a cero, es decir, que la acumulación de cobre analizado en la parte radicular de las especies vegetales no depende de la combinación de la dosificación del biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente.

Concentración de manganeso (Mn) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Mn	27	0	201	0.95	0.4609

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de manganeso en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.4609, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Mn	27	0.19	0.05	70.51	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	68380.62	4	17095.15	1.32	0.293
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	68380.62	4	17095.15	1.32	0.293
Error	284562.6	22	12934.66		
Total	352943.2	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de manganeso en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.2930, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3)$.
- H_1 : al menos uno $(\alpha\beta)_{ij} \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	239523.9	4	59880.98	1.25	0.3199
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	239523.9	4	59880.98	1.25	0.3199
Error	1055322	22	47969.19		
Total	1294846	26			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.3199), concluyendo que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual a cero, es decir, que la acumulación de manganeso analizado en la parte radicular de las especies vegetales no depende de la combinación de la dosificación del biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente.

Concentración de hierro (Fe) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Fe	27	0	1313	0.95	0.5505

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de hierro en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.5505, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R²	R² Aj	CV
RABS Fe	27	0.17	0.01	60.67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1970616	4	492653.9	1.1	0.3833

DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	1970616	4	492653.9	1.1	0.3833
Error	9892148	22	449643.1		
Total	11862764	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de hierro en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.3833, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12143771	4	3035943	1.49	0.2396
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	12143771	4	3035943	1.49	0.2396
Error	44846289	22	2038468		
Total	56990060	26			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.2396), concluyendo que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual a cero, es decir, que la acumulación de hierro analizado en la parte radicular de las especies vegetales no depende de la combinación de la

dosificación del biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente.

Concentración de zinc (Zn) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Zn	27	0	428	0.96	0.7116

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de zinc en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.7116, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Zn	27	0.2	0.05	67.96	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	301773.6	4	75443.39	1.36	0.2802
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	301773.6	4	75443.39	1.36	0.2802
Error	1221350	22	55515.9		
Total	1523123	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de zinc en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.2802, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1541156	4	385288.9	1.78	0.1694
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	1541156	4	385288.9	1.78	0.1694
Error	4768927	22	216769.4		
Total	6310082	26			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.1694), concluyendo que el efecto de la interacción entre ambos factores es igual a cero, es decir, que la acumulación de zinc analizado en la parte radicular de las especies vegetales no depende de la combinación de la dosificación del biochar y especie vegetal, sino que podría depender de uno de los factores específicamente.

Concentración de aluminio (Al) en la parte aérea:

- Análisis de supuestos

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Al	27	0	548	0.89	0.0140

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la concentración de aluminio en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.0140, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, no tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

- Interacción de factores:

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	37753.67	4	9438.42	0.19	0.942
DOSIFICACIÓN BIOCHAR*ESPECIES VEGETALES	37753.67	4	9438.42	0.19	0.942
Error	1103531	22	50160.49		
Total	1141284	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la concentración de aluminio en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.9420, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

Ante la verificación de que no se cumplen el supuesto de normalidad, se procedió a realizar la transformación de los valores, haciendo uso de la raíz cuadrada y logaritmo en base 10, sin obtener éxito alguno en ninguno de los casos para las concentraciones de aluminio en la interacción de los factores, por lo que, el análisis de varianza obtenido es inválido.

VALIDACIÓN DE SUPUESTOS Y ANÁLISIS DE VARIANZA: Variación de la concentración de metales en la parte radicular de las tres especies vegetales altoandinas y dosificaciones de biochar posterior al experimento.

Concentración de cobre (Cu) en la parte radicular:

- **Análisis de supuestos:**

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Cu	26	0	637	0.98	0.979

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la concentración de cobre en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.979, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Cu	26	0.21	0.06	87.17	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	923964.7	4	230991.2	1.38	0.2737
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	923964.7	4	230991.2	1.38	0.2737
Error	3506847	21	166992.7		
Total	4430812	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de cobre en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.2737, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Dosificación biochar”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Cu	26	0.16	0.09	85.81	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	709547.5	2	354773.8	2.19	0.1344
DOSIFICACION BIOCHAR	709547.5	2	354773.8	2.19	0.1344
Error	3721264	23	161794.1		
Total	4430812	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de cobre en la parte radicular de las especies vegetales en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1344, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Cu	26	0.13	0.06	87.13	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	594317.1	2	297158.6	1.78	0.1908
ESPECIE VEGETAL	594317.1	2	297158.6	1.78	0.1908
Error	3836495	23	166804.1		
Total	4430812	25			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de cobre en la parte radicular de las especies vegetales en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “especie vegetal” es de 0.1908, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0$; ($i = 1, 2, 3$; $j = 1, 2, 3$).
- H_1 : al menos uno $(\alpha\beta)_{ij} \neq 0$.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	45094152	8	5636769	9.45	0.0001
ESPECIE VEGETAL	38004383	2	19002192	31.84	<0.0001
DOSIFICACION BIOCHAR	2777822	2	1388911	2.33	0.1278
ESPECIE VEGETAL * DOSIFICACION BIOCHAR	3523001	4	880750.3	1.48	0.2532
Error	10144203	17	596717.9		
Total	55238355	25			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.2535), y se concluye que el efecto de la interacción de los factores en la variación de la concentración de cobre en la parte radicular de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de manganeso en la parte radicular de las plantas no es significativamente distinta en ninguna de las interacciones posibles. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- H_1 : al menos uno $(\alpha)_i \neq 0$.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especies vegetales)

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\beta)_i \neq 0.$

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.1278), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la variación de la concentración de cobre en la parte radicular de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de cobre en la parte radicular de las plantas no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor especies vegetal presenta un p-valor menor a 0.05 (<0.0001), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el efecto de la especie vegetal en la variación de la concentración de cobre en la parte radicular de las plantas es distinto de cero, es decir, que la variación de la concentración de cobre en la parte radicular de las plantas es significativamente distinta en al menos dos de los niveles del factor. Por lo que se procede analizar el test de LSD de Fisher para el factor especies vegetales.

- Test LSD de Fisher

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=784.12827					
Error: 596717.8455 gl: 17					
ESPECIE VEGETAL	Medias	n	E.E.		
<i>Calamagrostis spp.</i>	-381.77	8	278.12	A	
<i>Werneria nubigena</i>	1153.85	9	257.49		B
<i>Paranephelius ovatus</i>	2641.03	9	257.49		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

En la **tabla del Test LSD de Fisher** se puede observar que la variación de la concentración de cobre en la parte radicular de las plantas es significativamente distinta en todas las especies vegetales, donde *Paranephelius ovatus* obtuvo una mayor media con 2641.03 mg/kg.

Concentración de manganeso (Mn) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos:

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Mn	27	0	177	0.94	0.2935

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la concentración de manganeso en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.2935, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Mn	27	0.27	0.14	64.92	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	70548.56	4	17637.14	2.04	0.1239
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	70548.56	4	17637.14	2.04	0.1239
Error	190303.4	22	8650.16		
Total	260852	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de manganeso en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.1239, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Dosificación biochar”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Mn	27	0.03	0	71.63	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8079.37	2	4039.69	0.38	0.6855
DOSIFICACION BIOCHAR	8079.37	2	4039.69	0.38	0.6855
Error	252772.6	24	10532.19		
Total	260852	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de manganeso en la parte radicular de las especies vegetales en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.6855, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Mn	27	0.06	0	70.44	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	16413.07	2	8206.54	0.81	0.4585
ESPECIE VEGETAL	16413.07	2	8206.54	0.81	0.4585
Error	244438.9	24	10184.96		
Total	260852	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de manganeso en la parte radicular de las especies vegetales en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “especie vegetal” es de 0.4585, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4535518	8	566939.8	12.52	<0.0001
ESPECIE VEGETAL	4071715	2	2035858	44.96	<0.0001
DOSIFICACION BIOCHAR	224279.8	2	112139.9	2.48	0.1122
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	239523.22	4	59880.8	1.32	0.2995
Error	815086.6	18	45282.59		
Total	5350605	26			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.2995), y se concluye que el efecto de la interacción de los factores en la variación de la concentración de manganeso en la parte radicular de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de manganeso en la parte radicular de las plantas no es significativamente distinta en ninguna de las interacciones posibles. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especies vegetales)

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\beta)_i \neq 0.$

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.1122), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la

variación de la concentración de manganeso en la parte radicular de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de manganeso en la parte radicular de las plantas no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor especies vegetal presenta un p-valor menor a 0.05 (<0.0001), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el efecto de la especie vegetal en la variación de la concentración de manganeso en la parte radicular de las plantas es distinto de cero, es decir, que la variación de la concentración de manganeso en la parte radicular de las plantas es significativamente distinta en al menos dos de los niveles del factor. Por lo que se procede analizar el test de LSD de Fisher para el factor especies vegetales.

- Test LSD de Fisher

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=210.75081					
Error: 45282.5870 gl: 18					
ESPECIE VEGETAL	Medias	n	E.E.		
<i>Calamagrostis spp.</i>	-642.74	9	70.93	A	
<i>Paranephelius ovatus</i>	144.73	9	70.93		B
<i>Werneria nubigena</i>	213.11	9	70.93		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

En la **tabla del Test LSD de Fisher** se puede observar que la variación de la concentración de manganeso en la parte radicular de *Calamagrostis spp.* fue significativamente menor a las otras dos especies, con una media de -642.74 mg/kg.

Concentración de hierro (Fe) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos:

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Fe	27	0	1288	0.92	0.1329

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la concentración de hierro en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.1329, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Fe	27	0.27	0.13	62.14	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3438976	4	859744.1	1.99	0.1313
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	3438976.42	4	859744.1	1.99	0.1313
Error	9505384	22	432062.9		
Total	12944361	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de hierro en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.1313, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor "Dosificación biochar":

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Fe	27	0.13	0.05	64.91	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1628373	2	814186.4	1.73	0.1992
DOSIFICACION BIOCHAR	1628373	2	814186.4	1.73	0.1992
Error	11315988	24	471499.5		
Total	12944361	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de

hierro en la parte radicular de las especies vegetales en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1992, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Fe	27	0.01	0	69.06	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	133547.2	2	66773.59	0.13	0.883
ESPECIE VEGETAL	133547.2	2	66773.59	0.13	0.883
Error	12810814	24	533783.9		
Total	12944361	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de hierro en la parte radicular de las especies vegetales en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “especie vegetal” es de 0.8830, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor

Modelo	72713129.27	8	9089141.16	3.79	0.009
ESPECIE VEGETAL	58963607.76	2	29481803.9	12.3	0.0004
DOSIFICACION BIOCHAR	1605729.17	2	802864.59	0.33	0.7198
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	12143792.34	4	3035948.08	1.27	0.3196
Error	43159557.3	18	2397753.18		
Total	115872686.6	26			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.3196), y se concluye que el efecto de la interacción de los factores en la variación de la concentración de hierro en la parte radicular de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de hierro en la parte radicular de las plantas no es significativamente distinta en ninguna de las interacciones posibles. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especies vegetales)

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\beta)_i \neq 0.$

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.7198), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la variación de la concentración de hierro en la parte radicular de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de hierro en la parte radicular de las plantas no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor especies vegetal presenta un p-valor menor a 0.05 (0.0004), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el efecto de la especie vegetal en la variación de la concentración de hierro en la parte radicular de las plantas es distinto de cero, es decir, que la variación de la concentración de hierro en la parte radicular de las plantas es significativamente distinta en al menos dos de los niveles del factor. Por lo que se procede a analizar el test de LSD de Fisher para el factor especies vegetales.

- Test LSD de Fisher

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1533.57805					
Error: 2397753.1836 gl: 18					
ESPECIE VEGETAL	Medias	n	E.E.		
<i>Calamagrostis spp.</i>	-1579.49	9	516.16	A	
<i>Werneria nubigena</i>	1474.07	9	516.16		B
<i>Paranephelium ovatus</i>	1630.77	9	516.16		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

En la **tabla del Test LSD de Fisher** se puede observar que la variación de la concentración de hierro en la parte radicular de *Calamagrostis spp.* fue significativamente menor a las otras dos especies, con una media de -1579.49 mg/kg.

Concentración de zinc (Zn) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos:

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Zn	27	0	382	0.95	0.4765

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la concentración de zinc en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.4765, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Interacción de factores:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Zn	27	0.27	0.13	64.69	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	323753.22	4	80938.3	2.01	0.1278
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	323753.22	4	80938.3	2.01	0.1278

Error	884719.28	22	40214.51		
Total	1208472.5	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de zinc en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar aplicadas, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para la interacción de factores es de 0.1278 y evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Dosificación biochar”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Zn	27	0.06	0	70.27	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	69952.68	2	34976.34	0.74	0.4889
DOSIFICACION BIOCHAR	69952.68	2	34976.34	0.74	0.4889
Error	1138519.82	24	47438.33		
Total	1208472.5	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de zinc en la parte radicular de las especies vegetales en función del factor “dosificación biochar”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.4889, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Zn	27	0.11	0.03	68.41	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	129248.3	2	64624.15	1.44	0.2573

ESPECIE VEGETAL	129248.3	2	64624.15	1.44	0.2573
Error	1079224.19	24	44967.67		
Total	1208472.5	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de zinc en la parte radicular de las especies vegetales en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “especie vegetal” es de 0.2573, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Análisis de varianza

Una vez validados los supuestos se procede a evaluar la tabla de análisis de varianza, es decir, se proceden a evaluar los efectos simples (interacción), planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis de efectos simples: (interacción de factores)

- $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0; (i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3).$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0.$

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7456549.54	8	932068.69	4.41	0.0043
ESPECIE VEGETAL	5568513.89	2	2784256.95	13.18	0.0003
DOSIFICACION BIOCHAR	346868.78	2	173434.39	0.82	0.4558
ESPECIE VEGETAL*DOSIFICACION BIOCHAR	1541166.87	4	385291.72	1.82	0.1682
Error	3802695.59	18	211260.87		
Total	11259245.14	26			

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que la interacción de factores dosificación biochar y especie vegetal presentaron un p-valor mayor a 0.05 (0.1682), y se concluye que el efecto de la interacción de los factores en la variación de la concentración de zinc en la parte radicular de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de zinc en la parte radicular de las plantas no es significativamente distinta en ninguna de las interacciones

posibles. Por lo que se procede a evaluar los efectos principales, planteando las siguientes hipótesis.

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0.$

- Prueba de hipótesis de efectos principales: (factor especies vegetales)

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\beta)_i \neq 0.$

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.4558), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que el efecto de la dosificación del biochar en la variación de la concentración de zinc en la parte radicular de las plantas es igual a cero, es decir, que la variación de la concentración de zinc en la parte radicular de las plantas no es significativamente distinta en ninguno de los niveles del factor.

En la **tabla de análisis de varianza** se puede observar que el factor especies vegetal presenta un p-valor menor a 0.05 (0.0003), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el efecto de la especie vegetal en la variación de la concentración de zinc en la parte radicular de las plantas es distinto de cero, es decir, que la variación de la concentración de zinc en la parte radicular de las plantas es significativamente distinta en al menos dos de los niveles del factor. Por lo que se procede analizar el test de LSD de Fisher para el factor especies vegetales.

- Test LSD de Fisher

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=455.21145					
Error: 211260.8664 gl: 18					
ESPECIE VEGETAL	Medias	n	E.E.		
<i>Calamagrostis spp.</i>	-583.19	9	153.21	A	
<i>Paranephelius ovatus</i>	318.8	9	153.21		B
<i>Werneria nubigena</i>	431.62	9	153.21		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

En la **tabla del Test LSD de Fisher** se puede observar que la variación de la concentración de zinc en la parte radicular de *Calamagrostis spp.* fue significativamente menor a las otras dos especies, con una media de -583.19 mg/kg.

Concentración de aluminio (Al) en la parte radicular:

- Análisis de supuestos:

Prueba de normalidad: Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Al	27	0	509	0.9	0.0402

En la tabla se puede observar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks realizada con los residuos obtenidos a partir de los datos de la variación de la concentración de aluminio en la parte radicular de las especies vegetales en interacción con las dosificaciones de biochar, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : Tiene una distribución normal.
- H_1 : No tiene una distribución normal.

Al observar que el p-valor de dicha prueba es 0.0402, se procede a rechazar la hipótesis alterna, quedando demostrado que los residuos obtenidos a partir de los datos del experimento, no tienen una distribución normal.

Homogeneidad de las varianzas: Test de Levene

Debido a que en este caso no se cumple con el supuesto de normalidad, se procedió a evaluar la homogeneidad de varianzas de cada factor para luego aplicar la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

- Factor "Dosificación biochar":

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Al	27	0.17	0.1	56.55	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	290497.09	2	145248.54	2.44	0.1084
DOSIFICACION BIOCHAR	290497.09	2	145248.54	2.44	0.1084
Error	1428075.5	24	59503.15		
Total	1718572.58	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de aluminio en la parte radicular de las especies vegetales en función del factor "dosificación biochar", dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- H_0 : $\sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- H_1 : Al menos una σ^2 difiere de las demás.

Se puede observar que el p-valor para el factor “dosificación de biochar” es de 0.1048, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Factor “Especie vegetal”:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
RABS Al	27	0.08	8.90E-05	59.6	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	132338.55	2	66169.28	1	0.3823
ESPECIE VEGETAL	132338.55	2	66169.28	1	0.3823
Error	1586234.03	24	66093.08		
Total	1718572.58	26			

En la tabla se puede observar el Test de Levene, realizado a partir de los residuos absolutos obtenidos de los datos de la variación de la concentración de aluminio en la parte radicular de las especies vegetales en función del factor “especie vegetal”, dicha prueba contempla las siguientes hipótesis:

- $H_0: \sigma_i^2 = \sigma^2$ (homogeneidad de varianzas).
- $H_1: \text{Al menos una } \sigma^2 \text{ difiere de las demás.}$

Se puede observar que el p-valor para el factor “especie vegetal” es de 0.3823, por lo que se rechaza la hipótesis alterna, quedando demostrado que no hay evidencias suficientes para afirmar que los residuos absolutos no son homogéneos.

- Prueba de Kruskal Wallis

Una vez verificado que no se cumple con el supuesto de normalidad, se procede a evaluar la tabla de resultados de la prueba de Kruskal Wallis, planteando las siguientes hipótesis.

Prueba de hipótesis: (factor especies vegetales)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3.$
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_j \neq 0.$

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor dosificación biochar presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.6929), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que la variación de aluminio en la parte radicular de las plantas no depende de la dosificación del biochar.

Prueba de hipótesis: (factor dosificación de biochar)

- $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$.
- $H_1: \text{al menos uno } (\alpha)_i \neq 0$.

Variable	ESPECIE VEGETAL	N	D.E.	Medianas	H	p
Al	Calamagrostis spp.	9	603.92	207.69	2.65	0.2659
Al	Paranephelium ovatus	9	539.98	666.41		
Al	Werneria nubigena	9	586.11	15.64		

En la tabla de análisis de varianza se puede observar que el factor especie vegetal presenta un p-valor mayor a 0.05 (0.2659), por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se concluye que la variación de aluminio en la parte radicular de las plantas no depende del factor especies vegetales.

Reportes de análisis en laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA LABORATORIO DE ENERGÍAS RENOVABLES Unidad de Biomasa Energética

REPORTE DE ANÁLISIS ELEMENTAL (C, H, N, O, S) LER – BIOMASA 015 - 2020

Solicitante : Instituto Nacional de Investigación en Glaciares y Ecosistemas de Montaña - INAIGEM
Atención : Srta. Rosaríá Osorio Flores
Muestra : Biochar de Residuos de Pino
Procedente de : Huaraz-Ancash, Perú
Fecha Recepción : 02/03/2020
Norma: : ASTM D5291

N. LABORATORIO	CÓDIGO DE CAMPO	C (%)	H (%)	N (%)	S (%)	O (%)
UBE-(03/2020)-0012	Biochar de Residuos de Pino	38.97	1.29	0.80	0.38	19.22

Nota:
La muestra presenta bajo contenido de Carbono.



Laboratorio de
Energías Renovables

José Calle Maraví, Ph. D.
Jefe del Laboratorio de
Energías Renovables
V^B



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



INFORME DE ANALISIS DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN GLACIARES Y ECOSISTEMAS DE MONTAÑA
PROCEDENCIA : ANCASH/ HUARAZ
MUESTRA DE : CARBÓN
REFERENCIA : H.R. 72688
FACTURA : 6814
FECHA : 07/10/2020

N° LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	M.O. %	N %	P ₂ O ₅ %	K ₂ O %
396	-	8.81	12.70	12.07	0.90	1.59	1.58

N° LAB	CLAVES	CaO %	MgO %	Hd %	Na %	CIC meq/100g
396	-	12.81	1.22	6.86	0.68	4.00



B. La Torre
Braulio La Torre Martínez
Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
Celular: 946-505-254
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
 FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN GLACIARES Y ECOSISTEMAS DE MONTAÑA

Departamento : ANCASH

Distrito :

Referencia : H.R. 72687-078C-20

Fact.: 6814

Provincia : HUARAZ

Predio :

Fecha : 02/10/2020

Lab	Número de Muestra Claves	pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat. De Bases
								Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺³ + H ⁺			
5268	SC-DAR-C	3.84	0.57	0.00	15.72	5.6	70	77	16	7	Fr.A.	21.12	1.27	0.52	0.27	0.10	0.55	2.71	2.16	10

A = Arena ; A.Fr. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso ;
 Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso



Br. Braulio La Torre Martínez
 Ing. Braulio La Torre Martínez
 Jefe del Laboratorio

