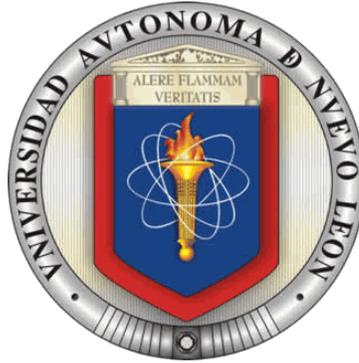


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL**



*“Análisis y caracterización de dos especies nativas del área metropolitana de Monterrey para su uso como bioindicadores de sitios contaminados por plomo”*

**T E S I S**

Para la obtención del grado de:  
Maestro en Ciencias con orientación en Ingeniería Ambiental

*Presenta:*

Ing. José Alfredo Mendez Tamez

*Director de tesis:*

Dr. Arquímedes Cruz López

San Nicolás de los Garza, N.L.

Julio de 2018



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FIC



FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL  
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL DE LA UANL  
DR. CÉSAR ANTONIO JUÁREZ ALVARADO  
SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Presente:

Estimado Dr. Juárez:

Por medio de la presente hago de su conocimiento que finalicé la revisión de (Tesis) con título **“Análisis y caracterización de dos especies nativas del área metropolitana de Monterrey para su uso como bioindicadores de sitios contaminados por plomo”** que presenta el Ing. José Alfredo Méndez Tamez, como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias con Orientación en Ingeniería Ambiental, me permito informar a Usted que después de haber leído y evaluado la calidad del documento, dictamino que el mismo es **APROBADO** y la fecha del examen de grado será el (15/06/2018).

Sin otro particular por el momento, estoy a sus órdenes para cualquier duda o aclaración que consideren pertinente.

Atentamente  
“ALERE FLAMMAM VERITATIS”  
Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. a 18 de mayo de 2018

**DR. ARQUÍMEDES CRUZ LÓPEZ**  
Asesor



SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO



“Educación de clase mundial,  
un compromiso social”

Código: FOR-SEP-01; Revisión: 01

Av. Universidad S/N Cd. Universitaria Apdo. Postal 17  
San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, C.P. 66455  
Tels.: (81) 1442 4400 ext. 4447 y 4448, 8329 4000 ext. 7216 y 7234  
<http://www.fic.uanl.mx>  
Correo: [subpos@uanl.mx](mailto:subpos@uanl.mx)



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FIC



FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL  
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL DE LA UANL  
DR. CÉSAR ANTONIO JUÁREZ ALVARADO  
SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Presente:

Estimado Dr. Juárez:

Por medio de la presente hago de su conocimiento que finalicé la revisión de (Tesis) con título **“Análisis y caracterización de dos especies nativas del área metropolitana de Monterrey para su uso como bioindicadores de sitios contaminados por plomo”** que presenta el **Ing. José Alfredo Méndez Tamez**, como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias con Orientación en Ingeniería Ambiental, me permito informar a Usted que después de haber leído y evaluado la calidad del documento, dictamino que el mismo es **APROBADO** y la fecha del examen de grado será el (15/06/2018).

Sin otro particular por el momento, estoy a sus órdenes para cualquier duda o aclaración que consideren pertinente.

Atentamente  
“ALERE FLAMMAM VERITATIS”  
Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. a 18 de mayo de 2018.

**DR. SANTIAGO IVÁN SUÁREZ VÁZQUEZ**  
Evaluador



SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO



“Educación de clase mundial,  
un compromiso social”

Código: FOR-SEP-01; Revisión: 01

Av. Universidad S/N Cd. Universitaria Apdo. Postal 17  
San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, C.P. 66455  
Tels.: (81) 1442 4400 ext. 4447 y 4448, 8329 4000 ext. 7216 y 7234  
<http://www.fic.uanl.mx>  
Correo: subpos@uanl.mx



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FIC



FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL  
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL DE LA UANL  
DR. CÉSAR ANTONIO JUÁREZ ALVARADO  
SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Presente:

Estimado Dr. Juárez:

Por medio de la presente hago de su conocimiento que finalicé la revisión de (Tesis) con título **“Análisis y caracterización de dos especies nativas del área metropolitana de Monterrey para su uso como bioindicadores de sitios contaminados por plomo”** que presenta el Ing. **José Alfredo Méndez Tamez**, como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias con Orientación en Ingeniería Ambiental, me permito informar a Usted que después de haber leído y evaluado la calidad del documento, dictamino que el mismo es **APROBADO** y la fecha del examen de grado será el (15/06/2018).

Sin otro particular por el momento, estoy a sus órdenes para cualquier duda o aclaración que consideren pertinente.

Atentamente  
“ALERE FLAMMAM VERITATIS”  
Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. a 18 de mayo de 2018

**DR. RENE ALBERTO DÁVILA PORCEL**  
Evaluador



SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO



“Educación de clase mundial,  
un compromiso social”

Código: FOR-SEP-01; Revisión: 01

Av. Universidad S/N Cd. Universitaria Apdo. Postal 17  
San Nicolás de los Garza, Nuevo León. México, C.P. 66455  
Tels.: (81) 1442 4400 ext. 4447 y 4448, 8329 4000 ext. 7216 y 7234  
<http://www.fic.uanl.mx>  
Correo: subpos@uanl.mx

## RESUMEN

En este estudio se analiza el efecto del plomo (Pb) en el crecimiento y la bioquímica de dos especies de plantas, con la finalidad de ser utilizadas como especies bio-indicadoras de contaminación en el área metropolitana de Monterrey. Una especie, *Helianthus annuus* (girasol) como individuo ya estudiado por otros autores y *Caesalpinia mexicana* (hierba del potro) como especie nativa de la región y que no cuenta con ninguna documentación para este tipo de estudios. Las plantas fueron tratadas con una solución de  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  a diferentes concentraciones de 0, 10, 100 y 400 ppm durante 15 y 30 días. En la duración del experimento se observó los efectos visuales que tiene el plomo sobre las plantas en las diferentes concentraciones. Por otra parte, se analizó la cantidad de compuesto que se acumuló dentro de las especies, separando el tallo y raíz para determinar en qué parte se acumula la mayor concentración del metal mediante absorción atómica resultando que en la parte inferior es donde existe la mayor cantidad acumulada del contaminante. En la parte bioquímica se determinó la actividad específica de Ureasa, dado que algunos autores citan que las plantas expuestas a contaminantes como metales pesados aumentan la actividad de esa enzima como respuesta a la absorción del metal y acelerando su metabolismo como parte del mismo.

Durante el tiempo de exposición al contaminante, se llevó un control sobre los cambios físicos que fueran sufriendo cada individuo, como coloración, pudrición, y tomando nota del mismo. Al momento de terminar el experimento se tomó el peso húmedo de los individuos, para pasarlos a la estufa a  $105^\circ \text{C}$  constantes, durante 24 horas para el secado y obtención de la materia seca. Para la parte de absorción atómica se realizó una digestión de las muestras utilizando 10 ml de Ácido Nítrico en vasos de precipitados y aplicando calor para acelerar el proceso, al terminar esto se pasó al equipo de medición Varian SpectrAA 50, para tomar las lecturas correspondientes, utilizando el método marcado por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Para la parte bioquímica se realizó un ensayo de indofenol (método de Berthelot) para determinar la actividad específica de la ureasa en las plantas. Utilizando muestras de extracto del tejido vegetal (3g aproximadamente) extrayéndolo mediante un mortero, agregando etanol para

después pasar a incubar en la estufa a 37°C durante 30 min, para después pasar a la medición de la actividad.

Los efectos nocivos del plomo se vieron reflejados en las diferentes concentraciones de la solución a la que estuvieron expuestos, viéndose más claramente en la *Caesalpinia mexicana*, los cambios morfológicos que sufrieron los individuos a medida que fueron aumentando las concentraciones, en comparación a las plantas de control las que contenían solución se vieron afectadas en el crecimiento de las hojas y tallo. El *Hellianthus annuus* sufrió alteraciones en su crecimiento en las concentraciones más bajas, en las más altas al contrario se notó que los individuos crecían con mayor rapidez y presentado un peso seco más alto que en las demás. Como argumentan otros autores el girasol mostro ser una especie acumuladora, al absorber casi el 90% del plomo en cualquiera de las concentraciones a 30 días, 60% en 15 días de exposición siendo una excelente especie biocumuladora de este metal. Mientras tanto la *Caesalpinia mexicana* absorbió alrededor de un 60% en las concentraciones a la que se estuvo expuesta, indicándonos que es una especie que no soporta altas concentraciones del metal. Cada uno de los métodos utilizados nos muestra que a medida que aumenta la concentración del metal la planta acelera su metabolismo para contrarrestar

Hemos demostrado que la *Caesalpinia mexicana* puede ser utilizada como un bio-indicador debido a su susceptibilidad a altas concentraciones de plomo, debido a esto se puede considerar continuar con el análisis de esta especie para fines de detección de contaminantes en zonas específicas que sufran contaminación por este elemento. Por su parte el *Hellianthus annuus* demostró ser una especie acumuladora y resistente a las condiciones de contaminación altas que puedan presentarse.

## DEDICATORIA

*“Amo la montaña y las raíces de la flor divina”*

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a mi madre por el esfuerzo y la dedicación para formarme como la persona que soy, infinitas gracias por ser lo que eres, mi padre y madre mi ejemplo de vida.

A mi familia por darme su apoyo y por brindarme su cariño y su amor incondicional, Sandra, Rosangela y Alberto, los amo.

A mis compañeros de maestría, gracias por el aprendizaje y los buenos ratos que pasamos, se les aprecia y estima. Gracias mi buen Toño, Daniel, Oscar, Christian, excelentes profesionistas y compañeros.

A Mario Rodríguez el “May”, hermano, gracias por todo tu apoyo y por las noches de fina charla, nunca tendré las palabras con las que pueda agradecerte por todo lo que haces y por tu amistad, espero que siga así.

Carla Padilla, muchísimas gracias por inculcarme todos los valores tan necesarios para poder crecer como persona y como profesional, gracias por empujarme y motivarme para poder terminar todo este proyecto, infinitas gracias.

Al Dr. Arquímedes por la paciencia, el tiempo y por todo su apoyo durante este proceso que se volvió tan largo, muchísimas gracias.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
<b>I.1 INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
<b>I.2 JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>12</b>
<b>I.3 HIPOTESIS. ....</b>	<b>14</b>
<b>I.4 OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
<b>I.4.1 Objetivo general. ....</b>	<b>14</b>
<b>I.4.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>14</b>
CAPÍTULO II .....	16
ANTECEDENTES .....	16
<b>II.1 El Plomo.....</b>	<b>17</b>
<b>II.1.1 Fuentes de plomo.....</b>	<b>19</b>
<b>II.1.2 Respuesta, transporte y localización de metales en aire y suelo .....</b>	<b>21</b>
<b>II.1.3 Efectos en la salud.....</b>	<b>24</b>
<b>II.1.4 Actividad Enzimática.....</b>	<b>28</b>
<b>II.2 Exposición Ambiental (de aire proveniente de fuentes de combustión) .....</b>	<b>31</b>
<b>II.3 Técnicas fisicoquímicas de determinación de Pb.....</b>	<b>34</b>
<b>II.4 Indicadores biológicos .....</b>	<b>37</b>
<b>II.4.1 Características y Taxonomía de especies .....</b>	<b>40</b>
<b>II.4.2 Análisis de bioindicadores .....</b>	<b>44</b>
CAPÍTULO III .....	48
MATERIALES Y MÉTODOS .....	48
<b>III.1 Selección de especies.....</b>	<b>49</b>
<b>III.2 Parte Experimental.....</b>	<b>51</b>
<b>III.2.1 Germinación y traspaso de plántulas.....</b>	<b>51</b>
<b>III.2.2 Exposición de Plomo en medio acuosos .....</b>	<b>52</b>
<b>III.3 Caracterización Física de especies .....</b>	<b>54</b>
<b>III.4 Caracterización Química y bioquímica de especies .....</b>	<b>55</b>
<b>III.4.1 Espectroscopía de Absorción Atómica.....</b>	<b>55</b>

---

<b>III.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido</b> .....	56
<b>III.5 Caracterización bioquímica de enzima</b> .....	57
<b>III.5.1 Determinación de ureasa</b> .....	57
CAPÍTULO IV.....	59
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
<b>IV.1 <i>Helianthus annuus</i></b> .....	60
<b>IV.1.1 Caracterización física</b> .....	60
<b>IV.1.2 Caracterización bioquímica</b> .....	65
<b>IV.1.3 Análisis de la absorción de Pb por espectrometría atómica</b> .....	66
<b>IV.1.4 Análisis elemental de Pb por Microscopía Electrónica de Barrido</b> .....	69
<b>IV.2 <i>Caesalpinia mexicana</i></b> .....	71
<b>IV.2.1 Caracterización física</b> .....	71
<b>IV.2.2 Caracterización bioquímica</b> .....	76
<b>IV.2.3 Análisis de la absorción del Pb por espectrometría atómica.</b> .....	78
<b>IV.1.4 Análisis elemental de Pb adsorbido vía metabólica por Microscopía Electrónica de Barrido</b> .....	80
<b>IV.3 Discusión de resultados</b> .....	82
CAPÍTULO V .....	85
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	85
<b>V.1 Conclusiones y recomendaciones</b> .....	86
<b>V.1.2 Recomendaciones</b> .....	88
BIBLIOGRAFÍA.....	90

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura I.1.</b> Emisiones de contaminantes atmosféricos por actividades humanas en México. Fuente: SEMARNAT. Informe de situación del medio ambiente en México 2010. ....	3
<b>Figura I.2</b> Estudio comparativo de la concentración de partículas en México con respecto a países desarrollados en 24 horas. a) PM <sub>10</sub> , b) PM <sub>2.5</sub> .....	5
<b>Figura II.2</b> Descripción de los distintos tipos de movilización de metales en el suelo. ....	22
<b>Figura II.3</b> Modelo biológico del plomo. (Imagen de Sanín L., <i>et al</i> ; 1988).....	26
<b>Figura II.4</b> Niveles sanguíneos de plomo asociados con efectos adversos a la salud. ....	27
<b>Figura II.5</b> Fotografía de la planta <i>Helianthus annuus</i> (Girasol). ....	41
<b>Figura II.7</b> Fotografía de <i>Caesalpinia mexicana</i> (hierba del potro) especie nativa de la región noreste de México. ....	43
<b>Figura III.1</b> Germinación de las especies <i>Helianthus annuus</i> y <i>Caesalpinia mexicana</i> sobre base de papel filtro. ....	51
<b>Figura III.2</b> Exposición de la raíz a la solución de plomo.....	53
<b>Figura IV.1</b> Tamaño promedio de las características físicas del <i>Helianthus annuus</i> expuesto a diferentes niveles de concentración de Plomo en 8, 15 y 30 días. ....	61
<b>Figura IV.2</b> Porcentaje de material seco a diferentes concentraciones y días de exposición en <i>Helianthus annuus</i> .....	63
<b>Figura IV.3</b> Pudrición en cotiledón de <i>Helianthus annuus</i> . ....	64
<b>Figura IV.4.</b> Concentración de ureasa en <i>Helianthus annuus</i> .....	66
<b>Figura IV.5.</b> Absorción de Pb del <i>Helianthus annuus</i> expuesto a 10 ppm (a), 100 ppm (b) y 400 ppm (c) en 8, 15 y 30 días. (Azul) raíz y (rojo) tallo.....	68
<b>Figura IV.6</b> Cortes de raíz de <i>Helianthus annuus</i> con Pb.....	70
<b>Figura IV.7</b> Tamaño promedio de las características físicas del <i>Caesalpinia mexicana</i> expuesto a diferentes niveles de concentración de Plomo en 8, 15 y 30 días. ....	72

<b>Figura IV.8</b> Porcentaje de material seco a diferentes concentraciones y días de exposición en <i>Caesalpinia mexicana</i> . .....	73
<b>Figura IV.9</b> Crecimiento de hojas en <i>Caesalpinia mexicana</i> de control a) y expuesta a 400 ppm b). .....	74
<b>Figura IV.10</b> a) Raíz principal de <i>Caesalpinia mexicana</i> a 400 ppm. b) Raíz de <i>Caesalpinia mexicana</i> con raíces secundarias bien desarrolladas. ....	75
<b>Figura IV.11</b> Concentración de ureasa en <i>Caesalpinia mexicana</i> . .....	77
<b>Figura IV.12</b> Absorción de Pb en raíz y tallo de <i>Caesalpinia mexicana</i> de 10 ppm (a), 100 ppm (b) y 400 ppm (c) en 8, 15 y 30 días. ....	79
<b>Figura 4.13</b> Cortes de raíz de <i>Caesalpinia mexicana</i> con Pb. ....	81

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla II.1.</b> Principales fuentes de exposición al plomo de acuerdo con la OMS. ...	20
<b>Tabla III.1</b> Resumen de crecimiento de especies sometidas a diferentes concentraciones de Pb después de 8 días de germinación. ....	50
<b>Tabla IV.1.</b> Efecto del contenido de plomo en raíz y tallo del <i>Helianthus annuus</i> expuesto a diferentes niveles de concentración de Plomo en 8, 15 y 30 días. ....	60
<b>Tabla IV.2.</b> Resultados de análisis elemental por Microscopía Electrónica de Barrido de Pb adsorbido vía metabólica en raíz de <i>Helianthus annuus</i> expuesta a 400 mg.L-1 a 8, 15 y 30 días. ....	69
<b>Tabla IV.3.</b> Efecto del contenido de plomo en raíz y tallo del <i>Caesalpinia mexicana</i> expuesto a diferentes niveles de concentración de Plomo en 8, 15 y 30 días. ....	72
<b>Tabla IV.4</b> Resultados de análisis elemental de Pb adsorbido vía metabólica en <i>Caesalpinia mexicana</i> determinado por Microscopía Electrónica de Barrido en muestra expuesta a 8, 15 y 30 días. ....	80

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

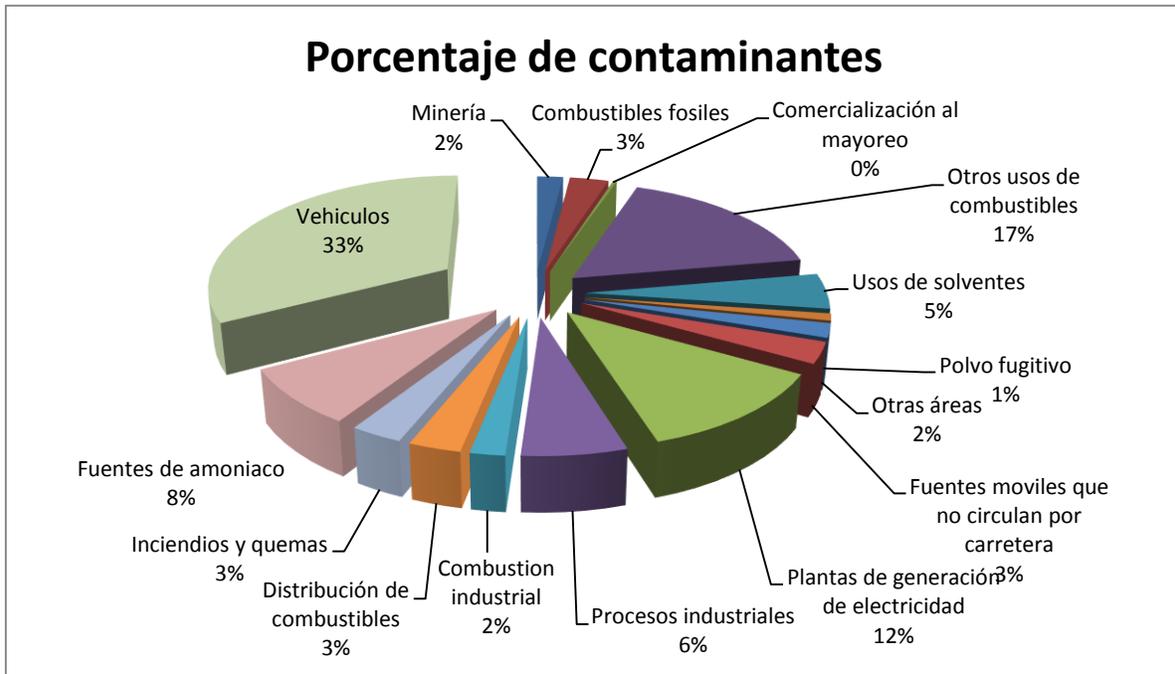


## I.1 INTRODUCCIÓN

A medida que la expansión del hombre aumenta dentro de nuestro planeta, aparecen nuevas necesidades que ocasionan que el medio ambiente que lo rodea se deteriore aún más. El desarrollo tecnológico y el acelerado crecimiento demográfico ocasionan que se rompa ese equilibrio biológico que tiene la Tierra.

La contaminación es un problema ambiental que afecta al planeta y ocurre cuando se produce ese desequilibrio, cuando se adhiere alguna sustancia al medio ambiente que no pueda ser procesada por el mismo y esto sumado a las cantidades que se emiten constantemente afectan directamente al hombre, animales y plantas.

Las fuentes que generan contaminación de origen antropogénico más importantes son: industria (metalúrgica, minera, petrolera etc.), comerciales (envolturas y empaques), agrícolas (agroquímicos), domiciliarias (basura, desechos, etc.) y fuentes móviles (gases de combustión de vehículos). Este último sector, es señalado por la contribución más importante (33%) como consecuencia del alto parque vehicular en ciudades altamente urbanizadas; ocasionando tráfico intenso, embotellamiento o proceso de combustión ineficiente que conllevan a la emisión de sustancias nocivas (NO<sub>x</sub>, metales pesados, etc.) a la atmósfera (Oliva y Espinoza; 2007) como se muestra en la **Figura I.1**.



**Figura I.1.** Emisiones de contaminantes atmosféricos por actividades humanas en México. Fuente: SEMARNAT. Informe de situación del medio ambiente en México 2010.

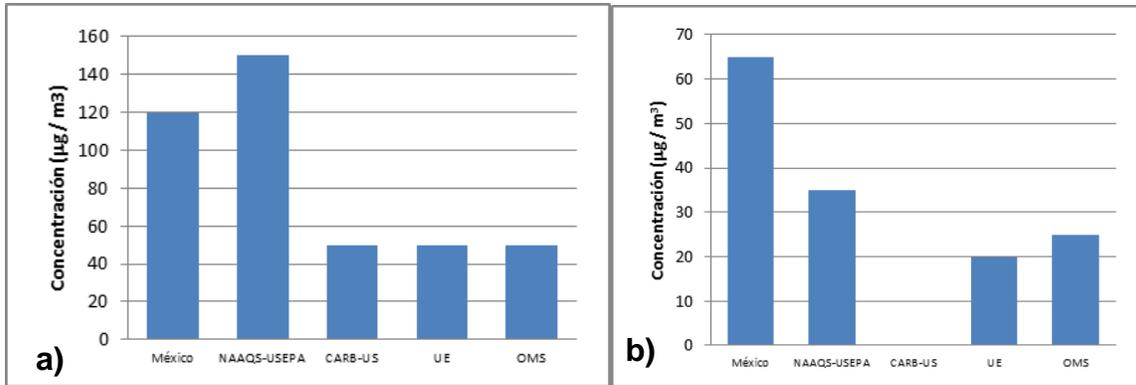
Los metales pesados representan uno de los principales problemas ecológicos que inducen efectos perjudiciales sobre la salud humana y del medio ambiente. Un metal pesado se define como los metales con una densidad superior a  $5 \text{ g/cm}^3$  (Punz y Sheghart; 1993). En las últimas décadas se ha desarrollado una preocupación creciente por los efectos en la salud de este tipo de sustancias xenobióticas presentes en el aire. De hecho, hoy en día existe una fuerte presión social que demanda una legislación ambiental más rigurosa que garantice la calidad del aire (Molina; 2001).

Por ejemplo, desde 1990 se llevan a cabo convenciones el clima mundial donde se realizan acuerdos como el Protocolo de Montreal en 1990 para reducir la emisión de gases de efecto invernadero o el Protocolo de Kioto 1997, donde se busca

implementar medidas para un mejor manejo en el control de las emisiones en países industrializados, primeras potencias y/o países en vías de desarrollo. De hecho, en la actual convención de Bonn se mencionó la necesidad de implementar políticas más drásticas y, por ejemplo, Francia, Gran Bretaña entre otros países se comprometieron a reducir a 0% el uso de carbón para 2030.

México por su parte después de la presión ejercida por las potencias mundiales y ser uno de los 15 países que más contribuyen a la contaminación atmosférica inicio los planes para las medidas que se necesitarían para adaptarse a los condicionamientos marcados por dichos protocolos, concluyendo en la creación y la reforma de normas y leyes que marquen los límites permisibles para las emisiones de cada uno de los contaminantes (OMS 2005).

Un ejemplo para lo antes mencionado, son los límites de las concentraciones, en los casos específicos para partículas menores a 10 micras ( $PM_{10}$ ) y partículas menores a 2.5 micras ( $PM_{2.5}$ ) cada 24 horas en México, comparados con los que recomienda la OMS, Estados Unidos (NAAQS-USEPA), California (CARB-US) y la Unión Europea (UE) como se muestra en la **Figura I.2 (a y b)**. Con esto indicadores se crea una controversia sobre el verdadero efecto que puede influir sobre la calidad del aire que se desea conseguir (Martínez y Fernández, 2004).



**Figura I.2** Estudio comparativo de la concentración de partículas en México con respecto a países desarrollados en 24 horas. a) PM<sub>10</sub>, b) PM<sub>2.5</sub>.

La Zona Metropolitana del Valle de México, la Zona Metropolitana de Guadalajara y la Zona Metropolitana de Monterrey, son consideradas las principales metrópolis de México ya que cuentan con más de tres millones de habitantes y ahí se concentran la mayoría de las actividades que generan ingresos económicos, pero también son un considerable emisor de contaminantes del porcentaje total de las emisiones a nivel nacional (INEGI 2010).

Dentro de los principales factores que generan un mayor aporte de emisiones dentro de estas ciudades, se encuentran las del sector transporte, y dependiendo de las características específicas para cada ciudad la industria u otros servicios tienen un menor o mayor aporte a estas emisiones (INE 2000).

Para el caso de Monterrey, esto se creó el Sistema Integral de Monitoreo Ambiental (SIMA) por parte del departamento de la Agencia de Protección al Medio Ambiente y Recursos Naturales (APMARN) que inició sus operaciones el 20 de noviembre de 1992. El objetivo fundamental de este sistema es determinar las concentraciones de contaminantes del aire a las que la población que habita dentro del área

metropolitana y de esta manera prevenir y advertir sobre los posibles eventos que pudiesen presentarse por los altos índices de contaminación atmosférica (Proaire 2008).

El caso particular de Monterrey, por ser una de las principales ciudades productoras del país se encuentra en constante crecimiento, tanto demográfico como industrial, esto crea una constante contaminación por emisiones de gases producidos por fuentes móviles y fijas. Con diferentes grupos industriales los principales contaminantes son óxidos de nitrógeno (NOx), óxidos de azufre (SOx), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), PM<sub>10</sub>, PM<sub>2.5</sub>, entre otros.

Estos y otros contaminantes son los llamados contaminantes criterio, se llaman así por ser los que se encuentran mayormente en la atmosfera y son perjudiciales para la salud, y en base a estudios enfocados a ellos es como se establecen los límites permisibles de emisiones en los distintos organismos gubernamentales alrededor del mundo (INE, 2013).

Dentro de estos contaminantes criterio se encuentra el plomo (Pb), este metal en especial es altamente peligroso para el organismo cuando se expone a él, debido a que es difícil que se remueva del mismo y por lo tanto se acumula y puede dañar diversos órganos y hasta el sistema nervioso central (INE, 2013).

En el caso de penetrar por vía respiratoria se combina con proteínas o con el CO<sub>2</sub> espirado, formándose (PbCO<sub>3</sub>) soluble, de esta manera se llega a absorber el 40 %

del plomo y parte de este se fija en la saliva y se traga. Por lo cual la vía respiratoria está considerada como la más peligrosa (Rubio et al, 2004).

Debido a que el Área Metropolitana de Monterrey es un punto con un alto desarrollo industrial, se encuentra sujeta a una alta cantidad de emisiones de contaminantes atmosféricos. Teniendo una población de 4, 689, 601 habitantes y contando con un parque vehicular de 1, 890,000 unidades es considerada la tercera metrópoli más grande de México (INEGI, 2015).

Con lo anterior queda claro que por contener una relación importante entre habitantes y vehículos (490 vehículos por cada mil habitantes) se concentra una alta cantidad de emisiones de contaminantes siendo lo más comunes CO, NOx, SOx y PTS.

Como efecto de este proceso de contaminación atmosférica se tiene la necesidad de realizar mediciones de la calidad del aire para llevar un control de las emisiones que afectan directa o indirectamente a la población que ahí se encuentra establecida.

La Secretaría de Salud, es el organismo encargado de medir los impactos de la contaminación atmosférica en la salud y establecer los límites permisibles de concentración de los contaminantes en la atmósfera. Mientras que el gobierno federal se encarga del diseño de criterios ambientales (NOMS), para establecer límites permisibles de emisiones máximas, además de fijar los valores máximos de

exposición a contaminantes críticos. Se instaló la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA), que realiza actividades de inspección para vigilar que las industrias de competencia federal cumplan con la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LGEEPA) y otra normatividad aplicable.

A partir de 1993 se implementaron las primeras redes de monitoreo en las zonas metropolitanas del Valle de México, Monterrey, Guadalajara y del Valle de Toluca. Estas miden las concentraciones de contaminantes críticos como son el bióxido de azufre (SO<sub>2</sub>), bióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), ozono (O<sub>3</sub>), partículas suspendidas totales (PST), plomo (Pb<sup>2+</sup>) y monóxido de carbono (CO), entre otros, variando debido a la ciudad y el equipo (INE, 2008).

Las técnicas de análisis fisicoquímicos para la medición de contaminantes atmosféricos incluyen diversos métodos que de acuerdo con sus principios pueden ser pasivo, activo, automático o por el método óptico de percepción remota (INE 2008).

Aunque bien estos métodos son importantes y nos ayudan a analizar cuantitativamente los contaminantes, no permiten obtener conclusiones sobre los efectos que las concentraciones de contaminantes tienen en los seres vivos. Para ello, se utilizan los llamados bioindicadores, que complementan a los citados métodos fisicoquímicos, y aportan información más tangible sobre los efectos de la contaminación sobre los organismos, incluyendo el ser humano (Anze et al, 2007).

El utilizar vegetación para muestreos de contaminantes tiene la gran ventaja de mostrarnos más a detalle elementos que no pueden otros métodos de muestreo. Los árboles se pueden utilizar para detectar bajas concentraciones de metales en el suelo y en la atmosfera (Oliva y Espinoza 2007).

A pesar de que los árboles no son los mejores indicadores de contaminación en comparación con especies inferiores (líquenes, musgos o algas), tienen una distribución más amplia en todo el mundo y los podemos encontrar en zonas que se encuentran muy urbanizadas. Y además de esto, el hecho de tener una vida más longeva nos ayuda a repetir el estudio décadas después y realizar la comparación (Wittig, 1993).

Estos métodos no son algo nuevo, los indicadores biológicos se han utilizado durante muchos años para detectar la deposición, la acumulación y la distribución de la contaminación por metales pesados (Zurayk 2001).

Uno de los primeros intentos de evaluación de la contaminación en el medio ambiente procedente de los gases que se producen por la combustión en el motor de automóviles, para esto se implementó un análisis de diferentes árboles, hierbas y verduras que crecen cerca de carreteras y ciudades, que fue utilizado como un método común a principios de 1960 (Aksoy y Demerizen, 2011).

Las plantas y otros organismos pueden servir como indicadores de la actividad biológica de los contaminantes atmosféricos porque no solo son sensibles, sino también proveen respuestas características a contaminantes atmosféricos frecuentes, esto debido a que responden de diferentes maneras a estos estímulos (Anze et al 2007).

El uso de la vegetación como monitor pasivo de vigilancia biológica tiene la ventaja de alta resolución espacial y temporal, debido a la excelente disponibilidad de las plantas y los bajos costos de muestreo (Aksoy y Demerizen 2005, Petrova 2011). La vegetación puede llegar a ser tolerante al acumular metales en sus tejidos aéreos, incluso cuando las concentraciones en suelo son muy bajas (Alcala 2013).

Lötschert en 1984 consideró que la corteza de los árboles era un indicador para metales pesados y desarrollo mapas de la contaminación de una ciudad basándose en esa investigación, considerándose pionero dentro de estos estudios (Sawidis et al, 2011).

De todas las especies biológicas utilizadas en la vigilancia biológica, líquenes y musgos son los más comunes, estos representan una importante base para el monitoreo de los contaminantes, creando de esta manera sistemas de observación a larga distancia como lo es en la ciudad de Polonia, Austria y la mayor parte de Europa (Szczeniak y Biziak 2003, Klos et al, 2010).

Debido a esto, el estudiar la calidad del aire mediante plantas en la zona metropolitana de Monterrey es una excelente oportunidad debido al hecho de que la mayoría de las investigaciones se realizan en zonas con climas templados, la geografía y la topografía de nuestra región nos permite abrir un tema de estudio en zonas que áridas como lo es esta.

## **I.2 JUSTIFICACIÓN**

El problema de toxicidad de metales pesados adquiere una nueva dimensión en la era Moderna o industrial, si bien es cierto que se ha logrado una cantidad importante de satisfactores en la sociedad, la explotación del plomo tiene efectos destructivos sobre el entorno, con repercusiones desastrosas sobre los sistemas biológicos. Como se ha mencionado previamente, los metales pesados tienen dos orígenes, el natural (volcanes y polvo continental) y el segundo resultado de las actividades antropogénicas (operación de minas, combustión de combustibles fósiles, industrias de trabajo en metales, vertederos domésticos, utilización de fertilizantes etc.) conllevando a la acumulación en ecosistemas. Sin embargo, la disipación del Plomo en la atmósfera en concentraciones de nivel de trazas se asocia con el sin número de productos cotidianos donde se encuentra contenido.

Actualmente las zonas metropolitanas de las grandes ciudades en México tienen como uno de los problemas sociales más preocupantes la contaminación atmosférica. De ahí que se hallan implementado mecanismos de monitoreo frecuentes estandarizados con normas internacionales para conocer la calidad del aire.

La calidad del aire en las ciudades se mide constantemente por métodos químicos en estaciones automatizadas para valorar el cumplimiento de la normativa de medio ambiente, pero estas medidas, no dicen nada acerca de las consecuencias en los habitantes, flora y fauna de estas ciudades.

A partir de lo anterior se ha considerado la posibilidad de emplear la dasonomía urbana del Área Metropolitana de Monterrey como un medio para indicar la calidad del aire. Sin embargo, esto no es fácil ya que cada especie tiene un tiempo de respuesta. Pero estan reportadas importantes alteraciones en la estructura, bioquímica y fisiología de las células de las plantas con exceso de plomo. El *Helianthus annuss L.*,  $Pb^{2+}$  mostró una alta fitotoxicidad comparativamente con otros aniones como  $Al^{3+}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{4+}$  y  $Zn^{2+}$ . Este metal altera el proceso transcripcional (proceso que permite que las células se diferencien) y desnaturalización de proteínas. Esto causa una modificación en la composición de lípidos y modifica la permeabilidad de las membranas. La elongación de raíz, el crecimiento de la planta, la germinación de semilla, la transpiración, la fotosíntesis, la nutrición mineral, el estado de agua en la planta y la actividad enzimática pueden ser también negativamente bajo la influencia del tratamiento de plomo.

### **I.3 HIPOTESIS.**

Es posible que las especies de plantas arbustivas de rápido crecimiento, nativas en el noreste de Nuevo León, puedan ser empleadas como bio-indicadores de contaminación atmosférica en zonas áridas altamente urbanizadas

### **I.4 OBJETIVOS.**

#### **I.4.1 Objetivo general.**

Identificar y caracterizar diferentes especies nativas que sean capaces de proyectar los niveles de contaminación por metales pesados (Pb), en diferentes estratos en la Zona Metropolitana de Monterrey.

#### **I.4.2 Objetivos específicos.**

1. Revisar la taxonomía de las diferentes especies identificadas en el área de muestreo.
2. Realizar a partir del análisis de literatura una correlación de especies identificadas como bioindicadores con especies locales.
3. Analizar la cantidad de contaminante mediante un biomonitoreo activo (acumulación de metales pesados) por Absorción Atómica y Microscopía Electrónica de Barrido.
4. Caracterizar las especies conforme a sus cambios morfológicos.

5. Determinar la cantidad de Biomasa (materia seca) que produce cada especie a diferentes concentraciones.
6. Realizar un análisis sobre la concentración de ureasa dentro de la planta por medio de la técnica de Berteloth.
7. Correlacionar los tipos y niveles de contaminación y los cambios fisiológicos en la planta.

# CAPÍTULO II

## ANTECEDENTES



## II.1 El Plomo

El plomo identificado con el símbolo químico Pb, es un metal pesado que se encuentra extensamente distribuido en la Tierra (NOM-199-SSA1-2000). Su peso molecular es de  $298 \text{ g.mol}^{-1}$  y se encuentra dentro de la familia de metales pesados. La naturaleza tóxica del Pb es reconocida milenariamente (Fewtrell LJ., *et al* 2004). Por sus propiedades fisicoquímicas es atractivo como insumo en diferentes actividades económicas facilitando al contacto con el hombre. El Pb es un metal que no realiza ningún cometido en el proceso biológico dentro del organismo humano, es por esto que la ingesta o el contacto con este, representa riesgos para la salud.

El problema global del Plomo en relación con la contaminación del medio ambiente está derivado del proceso natural de erosión del suelo y de las actividades antropogénicas donde se encuentra involucrado (Sharma P. y Shanker R. 2005).

El plomo es el más común de los metales pesados que contamina los ecosistemas acuáticos y terrestres teniendo varias fuentes naturales y antropogénicas (Liu, D., *et al* 2009; Liu D., *et al* 2009). En la naturaleza se encuentra en pequeñas cantidades en la corteza de la tierra y a nivel industrial en gran parte se utiliza en la manufactura de los contenedores de productos de alimentación, imágenes fijas, pilas, pinturas, y cueros. Las actividades primarias como el transporte, la minería, y la industria son el principal emisor de plomo. Su empleo como aditivos (tetra-etil de plomo y tetra-metilo de plomo) en la gasolina para aumentar el octanaje ha transformado el plomo en uno de los metales de alto riesgo tóxico. De 1965 a 1990 - el consumo de plomo

aumentó a  $5.6 \times 10^6$  toneladas en el mundo (OECD, 1993), su concentración en la biosfera pasó de 1,000 - 100,000 veces mayor que el nivel natural (World Health Organization, 1995). Desafortunadamente su vida media en los sistemas biológicos se encuentra entre los más largo entre los metales (de 150 a 5000 años) con la consecuencia de que la contaminación por plomo puede ser devastadora.

A pesar de las medidas regulatorias adaptadas en muchos países industrializados para limitar las emisiones del plomo en el ambiente, este metal continúa siendo el más serio peligro ambiental para la civilización. (Nedelkoska and Doran, 2000; Mercier et al, 2002). Como varios de los productos que contienen plomo son indispensables en nuestra vida cotidiana, la contaminación de este elemento difícilmente disminuirá en el mediano plazo.

La mayoría de los contaminantes ambientales son subproductos químicos y metales pesados como el Pb. El plomo que se libera en el medio ambiente realiza su trayecto desde el aire, el suelo y agua (Paz-Alberto et al, 2007). Este metal pesado es un elemento acumulativo que cuando está presente en dosis más altas provoca daños irreversibles en el cerebro humano, los riñones, el sistema nervioso, además de contribuir al deterioro de la salud mental, cognitiva y física. (Skipton et al, 2008). En 2014, México contribuyó con 184 261 toneladas a la producción mundial de plomo contenido en concentrados de acuerdo con reportes de INEGI. (INEGI, 2015).

### II.1.1 Fuentes de plomo

El plomo es el principal contaminante en los ecosistemas terrestre y acuático. Para el primer caso, el plomo es un elemento que se encuentra de manera natural en los suelos, rocas, y normalmente, varía entre 2 y 200 ppm. Algunos suelos pueden tener una concentración de plomo elevada en comparación con otros sitios, esto debido a que las rocas subyacentes son ricas en dicho metal (Orozco, 2006).

Generalmente el contenido de plomo en las aguas suele ser bajo, caso contrario, el aire contiene más plomo, ya que se transporta por medio de las corrientes de viento producidas por huracanes entre otros fenómenos. En cualquier caso, estas emisiones de origen natural son pequeñas comparadas con las que tienen su origen en la actividad humana (Orozco, 2006).

Además de los procesos naturales de exposición del plomo, El plomo que se encuentra en muchas aplicaciones como la fabricación de baterías, municiones, productos metálicos y en dispositivos para evitar irradiación con Rayos X (Jiménez, 2001) (Véase **Tabla II.1**).

**Tabla II.1.** Principales fuentes de exposición al plomo de acuerdo con la OMS.

Procesos industriales	Tabaquismo/alimentación	Agua potable	Fuentes domesticas
Baterías plomo-acido, materiales de plomería, cables de revestimiento, pinturas, esmaltes y municiones, gasolina y sus aditivos, exposición ocupacional.	Fumadores activos. Alimentos contaminados con polvo, hortalizas en suelos contaminados (como minas o fundiciones).	Sistemas de plomería que contienen tuberías de plomo, soldaduras, accesorios o agua con el plomo durante un periodo prolongado.	Juguetes, medicinas tradicionales, cosméticos, pintura de las paredes de casas antiguas con plomo.

Fuente: World Health Organization. Preventing disease through healthy environments, exposure to lead: a mayor public health concern, 2010.

La minería, la metalurgia y la transformación del plomo han sido causa, en tiempos pasados, de importantes emisiones, la mayor parte de ellas en forma de residuos sólidos, pero también se han producido emisiones apreciables a las aguas y a la atmósfera. Las técnicas modernas, y el uso de las mejores tecnologías disponibles, han minimizado esas emisiones, hasta reducirlas a los límites establecidos (Delince, et al, 2015).

En el caso de emisiones atmosféricas, Las fuentes principales de contaminación de plomo son las fuentes móviles, por ejemplo, vehículos que utilizan gasolina con plomo además de las fuentes fijas (chimeneas de industrias donde se emplea plomo). En el caso de los automóviles, estos siguen siendo la principal fuente de emisión y de contaminación de aire, agua y suelo en muchos países, mientras que, en otros en los que la gasolina con plomo ha sido prohibida, aún existen suelos contaminados por el uso anterior de aquella (Jiménez, 2001). Según Paivoke, debido al alto parque vehicular que existe al día de hoy en las grandes ciudades,

esté sector contribuye sustancialmente a la contaminación atmosférica. De hecho, las plantas que crecen sobre los bordes de autopistas son más susceptibles de estar expuestas a la contaminación del metal pesado que otros puntos. (Paivoke, A. E. A., 2002).

Las emisiones de Plomo se pueden producirse durante los procesos de recuperación y tratamiento de los residuos, pero se trata siempre de emisiones modestas dado el buen equipamiento y tecnología de las modernas instalaciones, que se ajustan a los niveles permitidos por la legislación en vigor. Muchos de los productos que contienen plomo (soldaduras, vidrios, PVC y pequeños artículos) terminan su vida útil en el vertedero (Skinner y Salin, 2013).

### **II.1.2 Respuesta, transporte y localización de metales en aire y suelo**

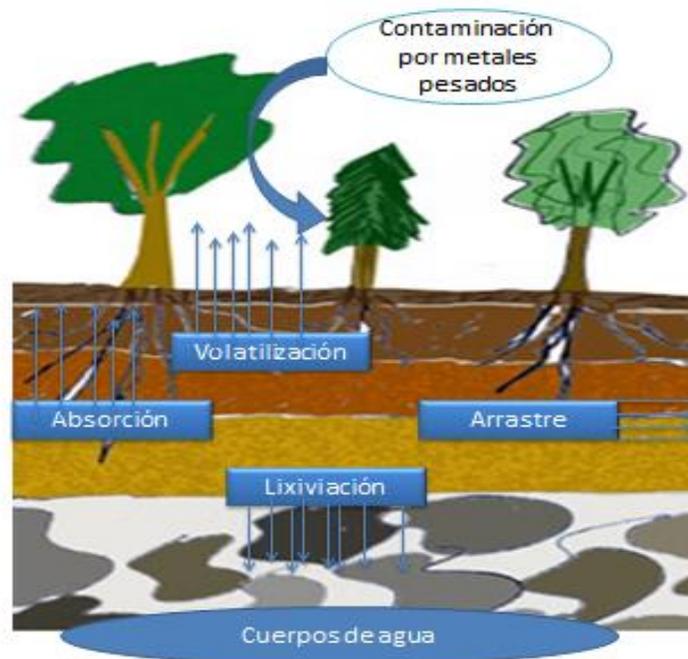
La exposición al Plomo en plantas, tiene lugar mediante dos rutas que son el suelo y los aerosoles. Para el primer caso, estudios sobre los efectos del plomo en maíz, pastos, etc. se ha demostrado que las raíces tienen la mayor habilidad de tomar importantes cantidades del metal comparado con la difusión simultánea del Pb en el subsuelo, la cual está más restringida (Paivoke, A. E. A., 2002).

Los metales pesados generalmente pueden incorporarse al suelo por diferentes vías como por ejemplo (García, I. y Dorransoro, C., 2005) (Véase **Figura II.2**):

- Disueltos en la fase acuosa del suelo, en sitios de intercambio o específicamente adsorbidos sobre componente inorgánicos del suelo,

asociados con la materia orgánica del suelo y/o precipitados como sólidos puros o mixtos (Pagnanelli et al., 2004).

- Absorbidos por las plantas y de esta manera ser incorporados a las cadenas tróficas.
- Por volatilización.
- Por medio de aguas superficiales o subterráneas.



**Figura II.2.** Descripción de los distintos tipos de movilización de metales en el suelo.

Sin embargo, es importante mencionar que en este medio existen diversos factores como morfología de la raíz, el tipo de suelo, la composición química, microorganismos presentes, que influyen el transporte del catión (García, J.S., et al., 2006).

En lo referente a la dispersión, es decir, el transporte de los contaminantes en el aire, este fenómeno depende de las condiciones meteorológicas (turbulencias atmosféricas, velocidad y dirección del viento, radiaciones solares, etc.).

Con respecto a las condiciones atmosféricas, el fenómeno de transporte de la contaminación es causado por diferentes procesos antrópicos y naturales. Entre los contaminantes de mayor interés pueden citarse a las partículas, el dióxido de nitrógeno y el monóxido de carbono, constituyendo un problema ambiental resultante de las actividades del hombre o contaminación antrópica (ICLAM 2004).

Dentro de este contexto, existe preocupación a nivel mundial con relación a la contaminación por transporte atmosférico de metales pesados a gran escala debido a su capacidad de asociación a masas de aire; por efectos de la recirculación de los vientos, ya que dichos metales tienden a depositarse en áreas alejadas a su fuente de origen (Imperato et al. 2003) incrementando los riesgos de exposición a seres vivos. Sin embargo, habrá que remarcar que la actividad industrial y el tráfico automotor donde el uso de combustibles es necesario, provocando la formación de partículas en el aire, las cuales participan directa e indirectamente en la formación de aerosoles secundarios; en consecuencia, la concentración de partículas en áreas urbanas es alta comparada con áreas rurales (Saskia 1998, Fernández et al. 2000).

El uso de gasolinas con plomo se restringió en Japón desde 1975 y desde 1995 en los Estados Unidos de América además de otros países de Europa; en virtud de ello, las concentraciones de este elemento han disminuido drásticamente en zonas urbanas (Hung 1994). En nuestro país, la prohibición de este tipo de combustible se

remonta a la década de los 90's del siglo pasado. Sin embargo, algunos países de la región han implementado reglamentación ambiental más recientemente, como es el caso de Venezuela, donde el principal elemento presente en las emisiones vehiculares –hasta el año 2005– fue el Pb, debido a que hasta esa fecha fue introducida la gasolina con plomo.

A partir de lo anterior nos queda claro que la difusión de la contaminación (aire-suelo) está estrechamente relacionada, de ahí que la evaluación del nivel de contaminación generado por este metal a través del tiempo es necesario el estudio en sedimentos viales y en el suelo. El metal, una vez presente en suelo, puede ser poco móvil o acumularse en su superficie, siguiendo diferentes vías de transporte para quedar retenido, ser disuelto en la solución del suelo o ser fijado por adsorción o finalmente por precipitación (Machado, *et al*, 2008).

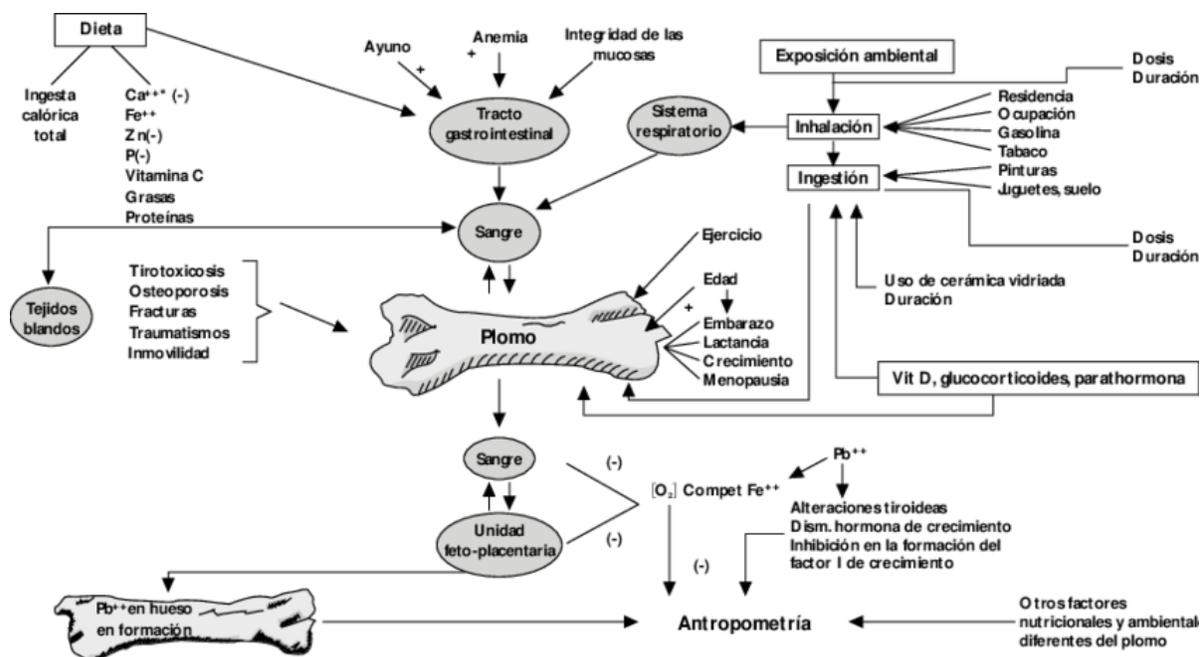
El trabajo realizado por Fernández *et al.* (2000) concluye que los metales Pb, Cu, Ni, Cr, Cd y Fe, encontrados en las muestras de partículas suspendidas totales son atribuidos principalmente al tráfico vehicular, mientras que metales como Fe, Al, Pb, Cu y Cr aparecen en diferentes tipos de fuentes como suelo, tráfico vehicular e industrias.

### **II.1.3 Efectos en la salud**

El plomo inorgánico no puede ser metabolizado por el organismo, en consecuencia, es inhalado, donde es absorbido por completo. Una vez en la sangre es distribuido

en tres compartimentos: la sangre, los tejidos blandos (riñón, médula ósea, hígado y cerebro) y el tejido mineralizado (huesos y dientes). Este último contiene el 95% de la carga corporal de plomo en los adultos y 70% en niños, por su bioacumulación (Pájaro Castro, N. P, *et al* 2013).

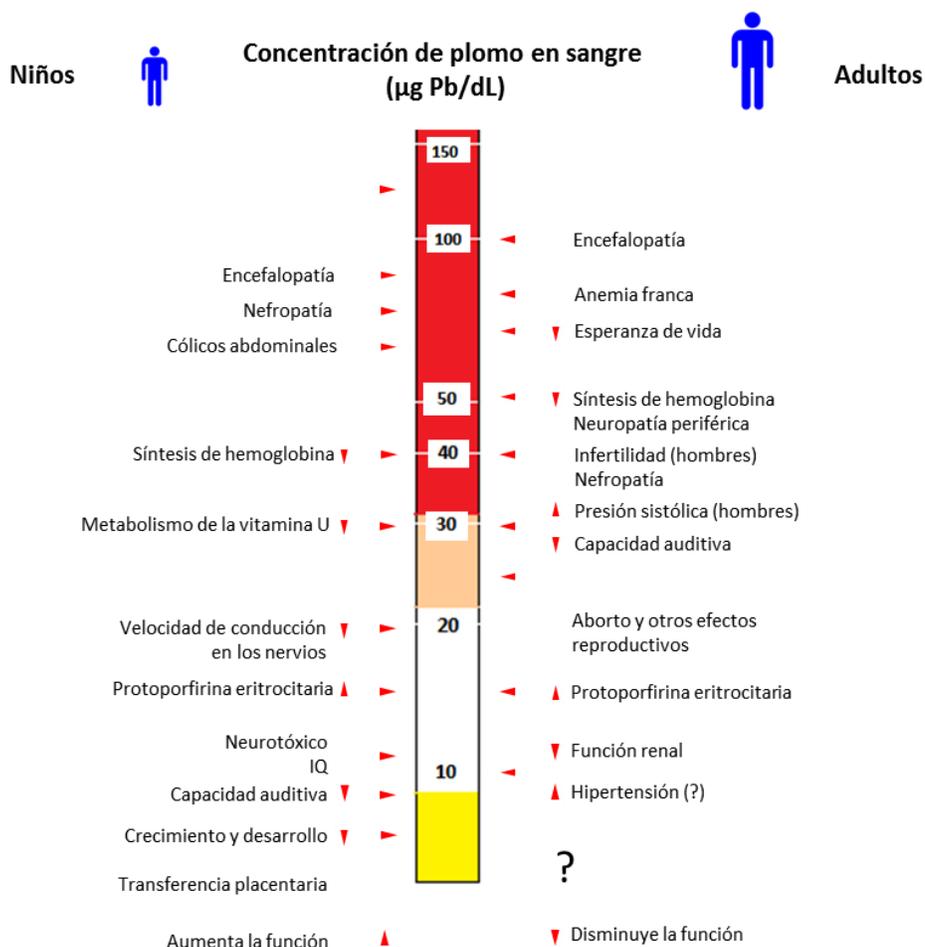
Se han realizado diversos estudios a nivel nacional e internacional a través de los cuales se han tratado de identificar los niveles de toxicidad para el plomo y sus compuestos. Sin embargo, debido a los numerosos factores que tienen influencia, resulta complicado, estos factores pueden ser las características individuales de la persona expuesta (edad, peso, tipo de alimentación, estado de salud, estilo de vida, etc.), el tipo de compuesto, el tiempo de exposición, dosis de exposición, vías de exposición (contacto dérmico, ingestión e inhalación) (Gisbert, *et al*, 1998). Dependiendo de estos factores será el tiempo con el que el cuerpo pueda eliminar la mayor cantidad posible del contaminante (Véase **Figura II.3**).



**Figura II.3.** Modelo biológico del plomo. (Imagen de Sanín L., *et al*; 1988)

El comportamiento del plomo en el ambiente, los niveles de contaminación habituales en las grandes ciudades y la toxicocinética del plomo en el organismo humano, no indica que los niños son los más afectados, especialmente los menores de 6 años, convirtiéndose en uno de los grupos de mayor riesgo (Corey y Galvao, 2010).

La exposición al plomo puede afectar negativamente al sistema nervioso, inmunológico, reproductivo y cardiovascular (Needleman, 2004) (Véase Figura II.4). La absorción del plomo puede variar dependiendo de tránsito gastrointestinal, estado nutricional y edad; es mayor en personas que sufren deficiencias de hierro y calcio debido a que el contaminante sustituye a estos elementos ya que cuentan con el mismo número de valencia (Tukker et al, 2006).



**Figura II.4.** Niveles sanguíneos de plomo asociados con efectos adversos a la salud.

Fuente: Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2006).

Existen tres vías por las que el plomo puede ingresar en el organismo de una persona: respiratoria, digestiva y cutánea, siendo ésta última de escasa entidad (ARTSDR, 1993). El plomo puede ser absorbido por la piel través de los folículos pilosos y glándulas sebáceas y sudoríparas directamente al torrente circulatorio. En comparación con la absorción de plomo por ingesta, la vía respiratoria resulta mínima su absorción al organismo (Goyer, 1996). Respecto a la absorción digestiva, mientras los adultos absorben el 10%, los niños pueden absorben hasta el 50% del Pb ingerido (Wittmers y Aufderheide, 1988) (Gerhardsson, et al, 1995). Por otra

parte, los niños tienden a retener mayor concentración del plomo absorbido que los adultos, en porcentaje se puede cuantificar en un 30% y 5% respectivamente (Treble, 1997).

Cuando una gran cantidad de plomo es acumulada en los huesos, se puede observar radiológicamente en casos avanzados de saturnismo, que las metafisis de los huesos largos han aumentado de espesor y de densidad, apareciendo unas bandas radiopacas en los huesos de los antebrazos, rodillas, piernas y en el borde del omoplato de personas que no han finalizado su crecimiento.

El destino final del plomo en el ser humano es el hígado, el cual es el encargado de realizar el metabolismo de los compuestos que a él llegan, y eliminando una parte de ellos por la bilis. Existiendo una insuficiencia hepática o cuando la concentración del metal es excesiva estos contaminantes se eliminan por medio del sudor, la saliva, el páncreas y por la orina. La semivida del plomo circulante es de unos 25 días, la del plomo de los tejidos blandos de unos 40 días y la del plomo depositado en los huesos puede ser de hasta 30 años. Por lo tanto, el plomo dentro de los huesos puede ser utilizado para detallar, en el tiempo, el contenido del mismo (Drashc, et al, 1997).

#### **II.1.4 Actividad Enzimática**

La mayoría de los mecanismos de toxicidad del plomo han sido estudiados en diferentes procesos bioquímicos; los aspectos más importantes de estos mecanismos son detallados a partir de la perturbación enzimática en procesos

celulares. Este metal tóxico se une a proteínas, particularmente a los grupos sulfidrilo, de tal manera que puede alterar su estructura y su función, o bien competir con otros metales esenciales en los sitios activos de éstas (Pájaro Castro N. P., *et al* 2013). Al ser el plomo químicamente similar al calcio, interfiere con diversos procesos dependientes de éste (Matte T., 2003). Activa la proteína C quinasa (PCQ), enzima dependiente del calcio vinculado con el crecimiento y la diferenciación celular, la conservación de la barrera hematoencefálica; y se piensa que la potenciación a largo plazo está relacionada con la memoria. De hecho, la proteína PCQ tiene una mayor afinidad con el plomo que el calcio, y la interferencia dependiente de la dosis del plomo con la PCQ carece de un umbral evidente (Matte T., 2003).

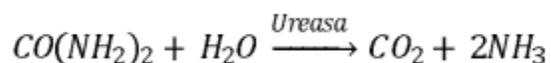
En cuanto a las anormalidades lipídicas, un posible mecanismo por el cual la exposición al plomo puede causar alteraciones en el perfil lipídico en personas crónicamente expuestas, incluyendo la activación de síntesis de lípidos, cambio en el metabolismo de ácidos grasos poliinsaturados, inducción de peroxidación, mutaciones en células de las arterias e inhibición de la enzima antioxidante. Sin embargo, el plomo no induce la peroxidación directamente, los iones aceleran el proceso promoviendo la producción de lípidos superóxidados y la generación de especies de oxígeno libres (Pajaro Castro N. P. *et al* 2013).

La ureasa es una enzima que participa en el proceso de hidrólisis de la urea adicionada al suelo o nativa, es un factor crítico en la regulación de nitrógeno en el ecosistema forestal, debido a que existe una correlación significativa entre el

nitrógeno de biomasa microbiana con respecto al nitrógeno mineralizable y la actividad ureasa (Zantua et al., 1997, Hassett y Zak, 2005).

La principal función de esta enzima es actuar sobre enlaces C-N, en enlaces no peptídicos y en amidas lineales, rompiendo dicho enlace en secuencias de dos, donde el carbamato es el compuesto intermedio en la reacción, de manera que éste es el sustrato obligado para el segundo paso de la reacción hidrolítica total (Tabatabai, 1994; Pascual et al., 2002).

La reacción se produce de la siguiente manera:



La hidrólisis de urea se produce  $10^{14}$  veces más rápido en presencia de la ureasa.

La presencia de metales pesados inhibe la enzima lo que conduce a una disminución en la actividad enzimática y como consecuencia, una menor cantidad de amonio es liberado (Lakard, et al, 2004). El efecto inhibitor del plomo en la actividad de la ureasa se debe a su unión a los grupos sulfhidrilo que habitualmente se forman en el centro activo de la enzima.

El plomo, así como algunos metales suelen ser inhibidores de ciertas enzimas. La Ureasa es la enzima más empleada para medir el efecto inhibitor de los metales

pesados en diferentes matrices, es una enzima importante en los sistemas biológicos ya que cataliza la conversión de la urea en dióxido de carbono y amónico (Rodríguez, et al, 2011).

## **II.2 Exposición Ambiental (de aire proveniente de fuentes de combustión)**

El plomo puede presentarse en el ambiente por diferentes fuentes naturales y antropogénicas, esta última incluyendo la minería y el procesamiento de plomo, metales no ferrosos (Zinc y cobre) motores de vehículos industriales, producción de baterías y hasta hace poco, como antidetonante para aumentar el octanaje de la gasolina (Poreba R., 2010).

Este último elemento puede estar presente en el aire, sedimentos, suelo y agua, lo cual conduce su acumulación y distribución en diferentes ecosistemas, hasta en agua para consumo humano y alimentos. Las principales fuentes de emisión en la atmósfera son: el transporte por carretera, la producción de energía y combustión de residuos (Pizzol M., *et al* 2010) y otras fuentes importantes de emisión por actividades antropogénicas incluyen la producción de recubrimiento de cable, pinturas, barnices, esmaltes, vidrio y cristales, fundiciones de hierro y acero. La producción tecnológica de cemento y fertilizantes también tienen una participación significativa en la contaminación por plomo.

Los niveles permisibles de plomo en aire –según la EPA- es,  $0.15 \text{ g.m}^{-3}$ , sin embargo, un estudio realizado en Australia reportó niveles de plomo superiores a los permitidos (Taylor, M. P., *et al*/2013). Para el agua, las concentraciones de plomo en Estados Unidos exceden los límites permitidos por la OMS ( $10 \mu\text{g-L}^{-1}$ ); y más de un tercio de los niños en la Unión Europea viven en hogares con niveles de plomo en el agua del grifo por encima del límite propuesto (Watt, G., 2000).

En México no se dispone aún de información para este indicador debido a que la presentación de informes al Registro de Emisiones y Transferencia de Contaminantes todavía es voluntaria y el porcentaje de empresas o compañías registradas es muy reducida. En 2001 se promulgó la legislación por la que se estableció un RETC obligatorio y público, y en junio de 2004 se aprobaron los reglamentos para su instrumentación.

El Área Metropolitana de Monterrey (AMM) se caracteriza por su alta actividad industrial. En 2013, 348 establecimientos industriales, reportaron al Registro de Emisiones y Transferencia de Contaminantes de competencia federal, siendo el sector químico y el metalúrgico los de mayor representación (58 y 50 empresas, respectivamente) [RECT, 2015]. Por otra parte, el PROAIRE 2008-2012, menciona que las principales industrias en la región son la siderúrgica, la fabricación de maquinaria, artículos metálicos, automotriz, celulosa y papel, vidrio, barro, loza, cerámica, textil, cemento, eléctrica, electrónica, entre otras.

En cuanto a lo que corresponde al parque vehicular, el AMM tiene registrados un poco más de dos millones de vehículos de motor en circulación, de los cuales, el 73.4% corresponden a automóviles tanto de uso oficial, público y particular, seguido por el 23% de camiones y camionetas de carga. En menos proporción se encuentran los camiones de pasajeros (0.8%) y las motocicletas (2.6%). (INEGI, 2014).

El AMM cuenta con un inventario de emisiones de contaminantes criterio. De acuerdo a este inventario, de enero a junio de 2015 se emitieron 910, 461.5 ton de estos contaminantes, de las cuales 56% corresponden al CO, seguido por el material particulado con el 17%, los compuestos orgánicos totales (COT) con el 13% y finalmente el SO<sub>2</sub> y los NO<sub>x</sub> con un 7% cada uno. Dentro del porcentaje correspondiente al material particulado más del 10% corresponde a metales pesados incluidos el plomo.

En México, las concentraciones de referencia máximas por tipos de usos de suelo para el plomo según la **NOM-147-SEMARNAT/SSA-2004**; establece que para uso agrícola/residencial las concentraciones límites permisibles es de 400 mg.Kg<sup>-1</sup>, mientras que para uso industrial la concentración máxima permisible es de 750 mg.Kg<sup>-1</sup>; el orden jurídico (2009) establece un máximo de 700 mg.Kg<sup>-1</sup>.

El nivel máximo en lo Estados Unidos según la Agencia de protección al Ambiente es de 500 mg.Kg<sup>-1</sup>

La **NOM-127-SSA1-1994**, para medir los límites permisibles de metales en agua. Se refieren a su concentración total en el agua, el límite máximo permisible del Pb en agua es de  $0.025 \text{ ml.L}^{-1}$ , As (arsénico) es de  $0.05 \text{ ml.L}^{-1}$ .

La **NOM-004-SSA-1999**, para sangre en los humanos. Esta norma establece los límites máximos permisibles para plomo en la sangre que es de  $10 \mu\text{dL}$  ( $0.1 \text{ mg.Kg}^{-1}$ )<sup>1)</sup>

### **II.3 Técnicas fisicoquímicas de determinación de Pb.**

La medición de los atributos o estado que guarda el aire ambiente se conoce como medición de la calidad del aire. Dicha medición se puede llevar a cabo por medio del muestreo, análisis y el monitoreo de dicho aire ambiente (INE-SEMARNAT, 2003).

En lo que a calidad del aire se refiere, el muestreo se define como la medición de la contaminación del aire por medio de la toma de muestras, de forma discontinua. En México ya existe un manual para la medición de los contaminantes atmosféricos emitido por el Instituto Nacional de Ecología (INE) y estas mediciones se pueden lograr a través de diversos métodos que se agrupan de acuerdo con sus principios de medición en:

### *Muestreo pasivo*

Este método de muestreo colecta un contaminante específico por medio de su adsorción y/o absorción en un sustrato químico seleccionado.

Las ventajas de este método comprenden la simplicidad en la operación y bajo costo (no requiere energía eléctrica). Pero por otro lado no está desarrollado para todos los contaminantes, sólo proporcionan valores promedios con resoluciones típicas semanales o mensuales; no tienen gran exactitud (sirven solo como valor referencial), en general requieren de análisis de laboratorio (DOF, 2012).

### *Muestreo activo*

Requiere de energía eléctrica para succionar el aire a muestrear a través de un medio de colección físico o químico.

A pesar de ser fácil de operar, muy confiables y costo relativamente bajo (requieren energía eléctrica) no se aprecian los valores mínimos y máximos durante el día, sólo promedios generalmente de 24 horas; requieren de análisis de laboratorio (DOF, 2012).

### *Método automático*

Estos métodos son los mejores en términos de la alta resolución de sus mediciones, permitiendo llevar a cabo mediciones de forma continua para concentraciones horarias y menores.

Se obtienen valores en tiempo real, alta resolución; concentraciones máximas y mínimas; permite por la detección de valores máximos en tiempo real establecer situaciones de alerta para implantar las respectivas medidas de contingencia. Pero su desventaja es un costo elevado de adquisición y operación además requieren personal capacitado para su manejo y requieren mantenimiento y calibración constantes (DOF, 2012).

#### *Método óptico de percepción remota*

Los métodos ópticos de percepción remota se basan en técnicas espectroscópicas. A pesar de ser útiles para mediciones de emisiones de fuentes específicas, de multicomponentes y para mediciones verticales en la atmósfera, tienen un costo de adquisición muy elevado; requieren personal altamente capacitado para su operación y calibración; no son siempre comparables con los analizadores automáticos convencionales.

Para el análisis de suelo se realizan utilizando la metodología que se marca en la normativa mexicana. Todos los análisis comprenden aspectos fisicoquímicos para la determinación de contaminantes, dentro de los cuales se miden, color de suelo, textura, densidad real, densidad aparente, pH, % de materia orgánica, conductividad eléctrica.

Para la determinación de metales se utilizan técnicas de espectroscopia de fluorescencia, atómica, rayos X, espectrómetro de plasma de inducción acoplada, entre otros instrumentos (DOF, 2004).

Debido al alto costo o a lo complicado en la utilización de estos métodos para la determinación de contaminantes resulta en ocasiones complicado llevar a cabo este tipo de estudios.

Para ello, se utilizan los llamados bioindicadores, que complementan a los citados métodos fisicoquímicos, y aportan información más tangible sobre los efectos de la contaminación sobre los organismos, incluyendo el ser humano.

Este método implica el uso de especies vivas generalmente vegetales, como árboles y plantas, donde su superficie funge como receptora de contaminantes. Se ha mostrado gran interés en el uso de bioindicadores para estimar algunos factores ambientales entre los que se incluye la calidad del aire, particularmente en la investigación de sus efectos. Tal es el caso del uso de la capacidad de la planta para acumular contaminantes o la estimación de los efectos de los contaminantes en el metabolismo de la planta, o en la apariencia de esta, entre otros (CARB, 2005).

## **II.4 Indicadores biológicos**

Las plantas, además de otros organismos, responden de diferentes maneras a estímulos externos como contaminantes atmosféricos. Pueden servir como indicadores de la actividad biológica de los contaminantes atmosféricos porque no solo son sensibles, pero también proveen respuestas características a contaminantes atmosféricos frecuentes (Guderian 1985).

Un bioindicador es un ser vivo que manifiesta una respuesta clara frente a una determinada sustancia y a una determinada concentración de esa sustancia. Los bioindicadores miden los efectos de la contaminación en seres vivos, por lo tanto, ofrecen información sobre los riesgos para otros organismos, ecosistemas y el hombre (Pignata 2003).

Los primeros estudios que utilizaron los bioindicadores para evaluar la calidad ambiental iniciaron en Alemania, utilizando comunidades de macroinvertebrados y peces (Rosenberg y Resh, 1993). Los esfuerzos por determinar el daño ecológico causado por los residuos domésticos e industriales en los cuerpos de agua fueron realizados en el siglo XIX por Kolenati (1848) y Cohn (1853), quienes encontraron relaciones entre ciertas especies y el grado de calidad del agua.

El concepto de bioindicación fue utilizado en Estados Unidos a partir de los años cincuenta. En Latinoamérica, los primeros trabajos utilizaron métodos biológicos de evaluación del ambiente se iniciaron en Colombia con estudios acuáticos en los años setenta. (Karr, 1981, Roldán et al, 1973).

Ahora, es bien aceptado que las plantas pueden ser utilizadas eficazmente como biomonitores de la contaminación del medio ambiente. El análisis elemental de muestras de plantas ha sido durante muchos años una alternativa, fácil y eficaz de llevar a cabo la investigación ecológica en las zonas urbanas (Markert, 1995; Aksoy et al, 2000). El uso de la vegetación como muestreador pasivo de vigilancia biológica tiene la ventaja de tener una alta resolución espacial y temporal, debido a la

excelente disponibilidad de las plantas y los bajos costos de muestreo (Wagner y Müller, 1979).

Los árboles como organismos de largo tiempo de vida reflejan los efectos acumulativos de la contaminación ambiental tanto desde el suelo como de la atmósfera. Se sabe que los árboles no son los mejores indicadores para el seguimiento de la contaminación en comparación con plantas inferiores (hongos, algas, líquenes, musgos) pero se distribuyen ampliamente en todo el mundo y en áreas urbanas. La principal ventaja en el uso de especies de árboles es que son de larga vida, de modo que en una investigación pueden realizarse repeticiones durante años, décadas o más tiempo (Sawidis et al, 1995, Celik et al, 1995)

## II.4.1 Características y Taxonomía de especies

### II.4.1.1 Helianthus annuus (Girasol)

**CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:****Reino:** Plantae**División:** Magnoliophyta**Clase:** Magnoliopsida**Orden:** Asterales**Familia:** Asteraceae**Subfamilia:** Asteroideae**Tribu:** Heliantheae**Género:** *Helianthus***Especie:** *Helianthus annuus*

El girasol es una angiosperma dicotiledónea que pertenece a la familia de las *Asteraceae*, es una planta herbácea de 2 a 3 m de altura; tallos ásperos, a menudo moteados; hojas simples, opuestas, largamente pecioladas, ovadas, agudas o acuminadas, de unos 35 cm de largo, base cordada, borde aserrado. El tallo es robusto, circular, tiene apariencia leñosa, pero por dentro es hueco o está lleno de una médula esponjosa (**Figura II.5**).

Por lo general, no presenta ramificaciones.; flores dispuestas en cabezuelas; brácteas involúcras ovadas u ovado-lanceoladas, acuminado-caudadas en el ápice, fuertemente ciliadas; corola amarilla, el número de las flores liguladas, su color, así como el tamaño de las cabezuelas varía en las diferentes formas hortícolas que existen, llegando a medir hasta 35 cm de diámetro; semillas de unos 10 mm, oleaginosas, comestibles. El sistema radicular no es abundante, aunque la raíz principal puede profundizar mucho.

El girasol es uno de los principales cultivos anuales utilizados para la extracción de aceite en el mundo. Es una planta anual originaria del continente americano, específicamente de la parte centro y norte de México, parte sur y oeste de los

Estados Unidos de América, aunque también se encuentra en Canadá, Ecuador, Colombia y Perú, donde aún es posible encontrarlo en forma silvestre; en la actualidad se cultiva en casi todo el mundo, principalmente en países de clima templado como Argentina, Rumania y Rusia (INIA, 2009).



**Figura II.5.** Fotografía de la planta *Helianthus annuus* (Girasol).

El girasol puede crecer bien entre 20 y 25°C. Temperaturas constantes de 25°C reducen el rendimiento en semillas como en aceite. Se le considera resistente a la sequía y puede producir un rendimiento moderado con 300 mm de precipitación; el ideal es entre los 700 – 800 mm.

Como se menciona a lo largo de este trabajo, no se conoce una función biológica del Plomo, algunas investigaciones muestran que las plantas pueden acumular plomo vía raíces y hojas (Olteanu, Z., L., *et al* 2011).

#### II.4.1.2 *Caesalpinia mexicana* (Hierba del Potro)

**CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:****Reino:** Plantae**División:** Magnoliophyta**Clase:** Magnoliopsida**Orden:** Fabales**Familia:** Fabaceae**Subfamilia:** Caesalpinioideae**Género:** *Caesalpinia***Especie:** *Caesalpinia mexicana*

Su nombre común es hierba del potro o comalillo y es un arbusto nativo del noreste de México, se le encuentra dentro de la vegetación secundaria del bosque caducifolio espinoso, selva baja caducifolia espinosa y matorral alto subinermes, perteneciente a la familia Leguminosae (véase Figura II.6).



**Figura II.6.** Fotografía de *Caesalpinia mexicana* (hierba del potro) especie nativa de la región noreste de México.

Arbusto de 1 hasta 10 m de alto, inerme, esencialmente glabro; estípulas pequeñas, ovadas, escariosas, caducas, pecíolo de 2 a 6 cm de largo; lámina foliar bipinnada e imparipinnada, de 15 a 25 cm de largo, con 2 a 4 pares de pinnas además de la pinna terminal, de 4 a 8 cm de largo, folíolos opuestos, 2 a 4 pares, cortamente peciolados, soborbiculares a elípticos, de 1 a 3 cm de largo por 0.8 a 1.5 cm de ancho, ápice redondeado a subagudo; inflorescencias terminales paniculiformes, de 10 a 20 cm de largo; corola vistosa, amarilla, de 1 a 1.6 cm de largo, con 5 pétalos separados; fruto una vaina, de 5 a 8 cm de largo por 1 a 1.9 cm de ancho, semillas de 3 a 5 por fruto, ovoides, de 7 a 10 mm de diámetro, comprimidas, de color obscuro.

## II.4.2 Análisis de bioindicadores

Un organismo vivo se considera bioindicador cuando presenta alguna reacción que pueda ser identificada frente a diferentes grados de alteración del medio, por ejemplo, frente a la contaminación del aire. Muchas especies son incapaces de adaptarse ecológica o genéticamente a la condición ambiental alterada, de modo que su ausencia es, de hecho, un indicio del problema. Su comportamiento ante dichas condiciones difiere del natural en aspectos tales como hábitos, fisiología, demografía y relaciones con otros microorganismos (Lijteroff, R., *et al* 2009).

Se conocen números organismos que pueden ser utilizados como bioindicadores; se incluyen especies de plantas vasculares, algas, líquenes, hongos, etc. En el caso de la contaminación atmosférica, se consideran buenos bioindicadores aquellos organismos que presentan sensibilidad a los contaminantes presentes en el aire (Lijteroff R., L. Lima, B. Prieri, 2009). Sin embargo, el sensible balance entre los simbiontes (algas: Clorofitaso Cianofitas; y hongos: Ascomycetes, Basidiomycetes o Phycomycetes) pueden ser fácilmente alterados. Esto los vuelve vulnerables a variaciones ambientales, como es el caso de la contaminación (Santori, C. S. y R. LiJteroff, 2006).

Durante los últimos años, numerosos estudios han utilizado líquenes epifitos para estimar los niveles de contaminación atmosférica creada principalmente por el SO<sub>2</sub>. La naturaleza tóxica del SO<sub>2</sub> es probablemente el principal factor que afecta a las especies de líquenes y a la corteza de los arboles produciendo su acidificación.

Debido a que los organismos epífitos reciben la mayor parte de los nutrientes a partir de la atmósfera, son más susceptibles a los factores atmosféricos y, por lo tanto, constituyen sustratos ideales para ser utilizados como bioindicadores (Hawksworth, D., *et al* 2005).

Muchos bioindicadores pueden responder a la contaminación por alteración fisiológica su capacidad para acumular elementos o sustancias. La respuesta de cada organismo está fuertemente influenciada por las condiciones físicas de la atmósfera (temperatura, humedad, radiación, etc.) así como condiciones fisiológicas y nutricionales (M. Marcelli y M. Seaward, 1998). Muchas especies de líquenes como *Romalina ecklonni* (Spreng) y *Usnea densirostra* (Tayl) muestran sensibilidad ante la contaminación; otras especies como *Hyperphyscia variabilis* (Scutari), *Hyperphyscia endochrysea* (Kremp) y *Physcia ondulada* (Moberg) se desarrollan mejor en áreas urbanas, mostrando resistencia a la contaminación (Estrabou, C., 1998).

Como se he mencionado previamente los primeros estudios sobre la corteza de los arboles como bioindicadores de la contaminación atmosférica, tiene su relación con los líquenes. Sin embargo, más tarde se demostró la existencia de una correlación entre la acidez de la corteza y la concentración de SO<sub>2</sub> (Catinon, M., 2011). De ahí que distintas especies de árboles (*Platanus hybrida*, *Populus nigra*) se hallan empleado en el estudio de metales pesados emitidos por automóviles y de la industria. Los resultados muestran correlaciones entre la concentración de plomo y

la densidad de automóviles, la concentración de CO, así como de magnesio presente en la corteza del árbol (Catinon, M., 2011).

En el caso de la contaminación por metales pesados, diferentes cortezas de especies de árboles se han utilizado en la bio-vigilancia en Europa. Las especies de árboles más comúnmente empleadas son *Pinus nigra*, *Olea europaea*, *Platanus hybridus*, *Fagus silvatica*, *Populus nigra* (Catinon, M., 2011).

En el caso de México existen pocos estudios reportados para el uso de *Helianthus annuus* como especie bioindicadora, algunos autores como Delgadillo *et al*, en el 2011, que referencia su efectividad en la degradación de contaminantes orgánicos como benzotriazol, que se utiliza como inhibidor de la corrosión del cobre y sus aleaciones mediante la prevención de reacciones superficiales indeseables, además de que sus derivados tienen propiedades químicas y biológicas para la industria farmacéutica. Otro compuesto reportado por Delgadillo es el trinitrotolueno (TNT), además de registrar que los efectos que tienen estos compuestos sobre la planta son sobre su metabolismo.

Por otra parte, Trujillo y Rivera en un estudio realizado para la descontaminación de suelos contaminados por petróleo crudo en Tabasco, concluyen que el *Helianthus annuus* no es eficiente como bioindicador en la restauración del suelo debido a la poca generación de biomasa en los individuos expuestos al contaminante, este estudio no puede considerarse como una conclusión para determinar que la especie es o no es eficiente para utilizarse como bioindicador.

Por otro lado, las especies de matorral submontano de la región noreste, más específicamente de la zona metropolitana de Monterrey, no se han publicado trabajos en los que se utilicen especies como bioindicadoras de algún contaminante, sin embargo, si se han realizado análisis de la capacidad de retención de polvo atmosférico depositado en hojas de árboles como Mezquite, Pirul y Huizache (Alcalá, *et al*, 2010.) pero ninguno en relación a bioindicadores de contaminación.

Para el caso de la *Caesalpinia mexicana* no existe ningún estudio realizado de su uso como indicador biológico y es ahí donde estudios como este resultan ser de importancia debido a la factibilidad de que especies locales se puedan utilizar en un área con alta contaminación como es el área metropolitana de Monterrey. Esto puede resultar en la viabilidad económica por no tratarse de plantas que requieran un cuidado especial por reproducirse naturalmente en la región, transformándose en un área de estudio interesante para trabajar.

# CAPÍTULO III

## MATERIALES Y MÉTODOS



### III.1 Selección de especies

Para la selección de las especies en estudio, se realizó una revisión de literatura para encontrar especies de plantas que ya contaran con un registro de que pueden ser utilizadas como una especie bioindicadora. Otro de los puntos a considerar fue que las especies que estuviesen documentadas como especies indicadoras, además de que las semillas se consiguieran fácilmente, esto en caso de que se necesitaran más y no interrumpir el experimento por el tiempo que tarda en conseguir.

Para el caso de la especie nativa se eligió en base a los listados de plantas que muestran una distribución amplia para la zona metropolitana de Monterrey como se muestra en la **Tabla III.1**. Para la selección se realizó un experimento preliminar, el cual consistió en germinar semillas de cinco distintas especies y analizar el tiempo de germinación, velocidad de crecimiento y facilidad para adquirir las semillas, esto con la finalidad de elegir una especie de crecimiento y germinación rápida para realizar el mayor número de repeticiones posibles.

Para la selección de especies arbustivas se tomó en cuenta que su crecimiento fuese rápido y de esta manera realizar el experimento el mayor número de repeticiones que se pudiese.

**Tabla III.1** Resumen de crecimiento de especies sometidas a diferentes concentraciones de Pb después de 8 días de germinación.

Nombre de la especie	Crecimiento de especies en solución de Plomo (ppm)		
	10	100	400
<i>Helianthus annuus</i>	si	si	si
<i>Caesalpinia mexicana</i>	si	si	no
<i>Dodonea viscosa</i>	si	no	no
<i>Tecoma stans</i>	no	no	no
<i>Asclepias curassavica L.</i>	si	no	no

De acuerdo con los resultados se eligió a *Helianthus annuus* (girasol) y a *Caesalpinia mexicana* (Hierba del potro) especies nativas con las que se inició el estudio, por la facilidad de conseguir las semillas y por la velocidad de crecimiento, sumando que fueron especies que pudieron sobrevivir con mayor facilidad al medio acuoso.

## III.2 Parte Experimental

### III.2.1 Germinación y traspaso de plántulas

Antes de proceder a la germinación de las especies se realizó un tratamiento de escarificación para aumentar la efectividad de germinación. Posteriormente se procedió a la germinación en obscuridad sobre una base de papel filtro húmedo que fue colocado en charolas de plástico y cubiertas también por papel filtro húmedo a una temperatura constante de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$  (Véase Figura III.1). Se procuró que cada individuo tuviese la misma longitud y fuesen lo más similares posibles en cuanto a características físicas para evitar cualquier error a la hora de finalizar la exposición y ver los resultados morfológicos de cada uno.



**Figura III.1.** Germinación de las especies *Helianthus annuus* y *Caesalpinia mexicana* sobre base de papel filtro.

### III.2.2 Exposición de Plomo en medio acuosos

Una vez completado 10 días las plántulas de las dos especies se traspasaron 10 plantas a igual número de vasos de vidrio que contenían la solución de  $Pb^{2+}$  para asegurar la reproducibilidad de las mediciones. Las soluciones utilizadas fueron 10, 100 y 400 ppm además de un blanco, esto en base a lo que dicta la normativa mexicana como niveles máximos de contaminación por plomo. Los tiempos de exposición a la solución de plomo fueron 8, 15 y 30 días. Para las tres series de experimentos se tuvo cuidado que la raíz de las especies estuviera expuesta al contaminante además a las soluciones se les agregó una solución nutritiva especial que se disolvió en la misma.

Para la exposición de las plantas a las tres series de experimentos (3 concentraciones mencionadas arriba) e incluida la de control, se utilizaron frascos de vidrio en los cuales se agregaron 150 mL de solución. Sin embargo, para asegurar que las especies se mantuvieran fijas en la parte de la plántula, se colocó encima del frasco de vidrio un vaso de plástico con una abertura en el fondo para asegurar que la raíz quedase sumergida en la solución. Se debe remarcar que en el orificio del vaso de plástico se colocó una porción de algodón para que evitar la evaporación rápida de la solución (Véase **Figura III.2**).



**Figura III.2.** Exposición de la raíz a la solución de plomo.

Cada uno de los frascos se marcó con la fecha en la que se traspasó y la concentración de la solución. Para tratar de que el agua mantuviera el nivel de oxígeno disuelto y de esta forma favorecer los procesos bioquímicos, se aplicó oxigenación cada 5 días mediante una bomba de aire durante 30 minutos. También con el fin de lograr una uniformidad en el estudio se midió la cantidad de luz, mediante un luxómetro, que recibía cada planta procurando siempre tener la misma exposición en cada una de ellas.

### III.3 Caracterización Física de especies

Antes de colocar cada una de las plantas (*Helianthus annuus* o *Caesalpinia mexicana*) en las soluciones de concentración conocida, se les pesó y midió individualmente. Una vez terminado el periodo de exposición al contaminante, se procedió a retirarla de los frascos para comenzar a tomar los datos de medición de raíz, tallo y peso, esto para realizar una comparación con el peso y la longitud inicial antes de la exposición. Las plantas fueron previamente secadas colocándolas sobre papel secante hasta que absorbieran el exceso de agua que tuviesen, para no alterar el cálculo de peso, posteriormente todos los individuos se clasificaron y se separaron por concentraciones y tiempo de exposición para meterse en bolsas de papel, las cuales fueron introducidas a una estufa con una temperatura constante de 90° C durante 24 horas para que perdieran la mayor cantidad de humedad. Una vez terminado el proceso de secado, se sacaron las muestras para volver a pesar individualmente cada individuo y posteriormente realizar la determinación de la producción de biomasa mediante la siguiente fórmula:

$$B = \frac{\text{Peso seco de la muestra}}{\text{Peso humedo de la muestra}}$$

Con este dato podemos observar la capacidad que tiene la planta para producir material vegetal en función de la cantidad de agua que absorba, ya que la biomasa es la cantidad de energía que puede almacenar un ser vivo, en este caso material seco.

Durante el tiempo en el que las plantas estuvieron expuestas a la luz se realizaron anotaciones sobre cambios físicos que tuviera alguno de los individuos mediante observaciones visuales, estas incluyeron cambios en la coloración, pudrición, número y tamaño de hojas (en caso de contar con ellas), también malformaciones en la parte de la raíz, formación de raíces secundarias y cualquier otro dato que fuese presentándose durante el estudio.

### **III.4 Caracterización química y bioquímica de especies**

#### **III.4.1 Espectroscopía de Absorción Atómica**

Para la determinar la presencia de plomo en las diferentes especies en estudio (*Helianthus annuus* y/o *Caesalpinia mexicana*) bajo las condiciones experimentales previamente descritas, se utilizó la técnica de Espectroscopía de Absorción Atómica empleando un equipo modelo Varian Spectraa Serie 50.

Para la determinación de la cantidad de Pb absorbido, fue necesario realizar la digestión de las muestras sólidas empleando una técnica de digestión ácida, que consiste en añadir 10 ml de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) en un matraz, el cual se calentó lentamente en una plancha de calentamiento hasta  $150^\circ\text{C}$ , después se introdujeron los cortes de la planta clasificados en tallo o raíz, posteriormente se agitó el contenido hasta disolución completa. Una vez terminado el proceso de digestión se recuperó y filtro el líquido para colocarse en vasos de precipitados. Finalmente, de

acuerdo con las concentraciones, las muestras se diluyeron para poder estar dentro de la región de lectura del equipo.

### III.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido

El microscopio electrónico de barrido con analizador de Análisis elemental EDS (Espectrómetro de dispersión de energía) de rayos X, esta técnica espectrofotométrica permite identificar la distribución cuantitativa y cualitativa de elementos químicos que están presentes en la muestra además de presentar imágenes relacionadas con esa distribución. De acuerdo con López Serna en 2015, el analizador de EDS identifica y cuantifica el contenido de elementos químicos desde el carbono hasta el uranio en muestras (orgánicas e inorgánicas) planas o secciones finas. Además de su correspondiente espectro químico puntual en la zona de estudio.

Para evidenciar presencia y ruta de reparto del contaminante inducido ( $Pb^{2+}$ ) en las dos especies en estudio (véase tabla III.1), se seleccionaron al menos 3 plantas de cada especie y se secaron a  $90^{\circ}C$  durante toda la noche, posteriormente con tijeras se cortaron en dos zonas: la primera correspondiente a la raíz y la segunda al tallo. De las zonas medias de cada sección se realizaron cortes de 1 mm y se etiquetaron para su análisis. Para la caracterización de las muestras en el estudio de este trabajo se utilizó un Microscopio Electrónico de Barrido marca JEOL 6490 LV, y se seleccionó una muestra de raíz y se realizó en análisis elemental a fin de conocer la concentración de plomo adsorbido.

## III.5 Caracterización bioquímica de enzima

### III.5.1 Determinación de ureasa

Para la medición de la ureasa en las especies (*Helianthus annuus* y/o *Caesalpinia mexicana*) se implementó el método de Berthelot, que emplea el ensayo de indofenol, donde los iones de amonio reaccionan con NaClO y se forma monocloramina.

La adición de la solución fenólica para monocloramina resulta en quinonechlorimine. La imina interactúa con el fenol y se produce indofenol. El indofenol en solución ácida es de color amarillo, pero después de la alcalinización de la solución se forma el producto azul.

Cada muestra se colocó en un mortero con 5 ml de etanol para macerarse, después en frascos Eppendorf se colocaron 500 µl del extracto, se le agregaron 500 µl de agua destilada y se comenzó a diluir diferentes diales que contenían la misma cantidad de agua hasta completar 10.

En una canastilla de 8 filas por 12 columnas se colocó 100 µl de cada muestra siguiendo el orden de concentración de mayor a menor, agregando 50 µl de una solución A (NaOCl al 12%, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.4 m y NaOH 0.37m) y 50 µl de la solución B (Sodium Nitroprosside Fenol al 7%), ya terminado esto se introdujo en una estufa a 40° C durante 30 minutos para posteriormente llevarse a medición en el equipo.

Cada una de las muestras que se utilizó para el análisis bioquímico fue tomada de las plantas que se utilizaron para los demás estudios, esto con el fin de comparar más claramente el resultado que se obtuviera de cada y uno.

# CAPÍTULO IV

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN



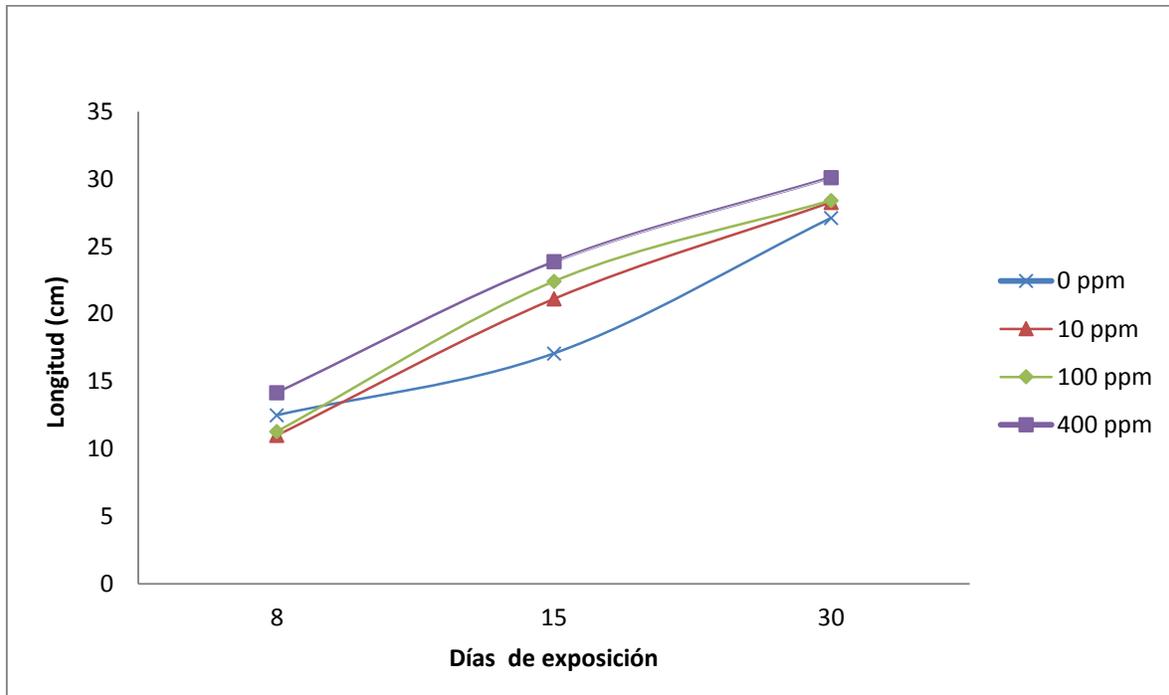
## IV.1 *Helianthus annuus*

### IV.1.1 Caracterización física

La caracterización física de la muestra consiste en la inspección visual del *Helianthus annuus* a las diferentes concentraciones a las que estuvo expuesta según la tabla IV.1 presentada en el capítulo experimental. Es importante destacar que no presentaron cambios drásticos en la estructura física de la especie, sin embargo, se observó que a los diferentes tiempos de exposición (8, 15 y 30 días) existe un mayor crecimiento en las muestras donde se utilizó la solución de 400 mg.L<sup>-1</sup> en comparación con las de 10 mg.L<sup>-1</sup>, 100 mg.L<sup>-1</sup> y la de control.

**Tabla IV.1.** Efecto del contenido de plomo en raíz y tallo del *Helianthus annuus* expuesto a diferentes niveles de concentración de Plomo en 8, 15 y 30 días.

Días de exposición	Concentración de Plomo	Longitud (cm)				
		E1	E2	E3	$\bar{X}$	$\sigma$
8	0	12.3	13.5	12.5	12.8	0.6
	10	11.9	10.5	11	11.1	0.7
	100	10.8	11.3	10.8	11.0	0.3
	400	15.2	13.8	14.8	14.6	0.7
15	0	14.1	16.6	17.1	15.9	1.6
	10	17.9	22.1	22.1	20.7	2.4
	100	24.8	20.9	23.1	22.9	2
	400	20.9	32.1	29.8	27.6	5.9
30	0	27.5	26.7	24.8	26.3	1.4
	10	29.8	29.7	27.8	29.1	1.1
	100	31.8	28.1	27.1	29.0	2.5
	400	29.1	32.1	29.8	30.3	1.6

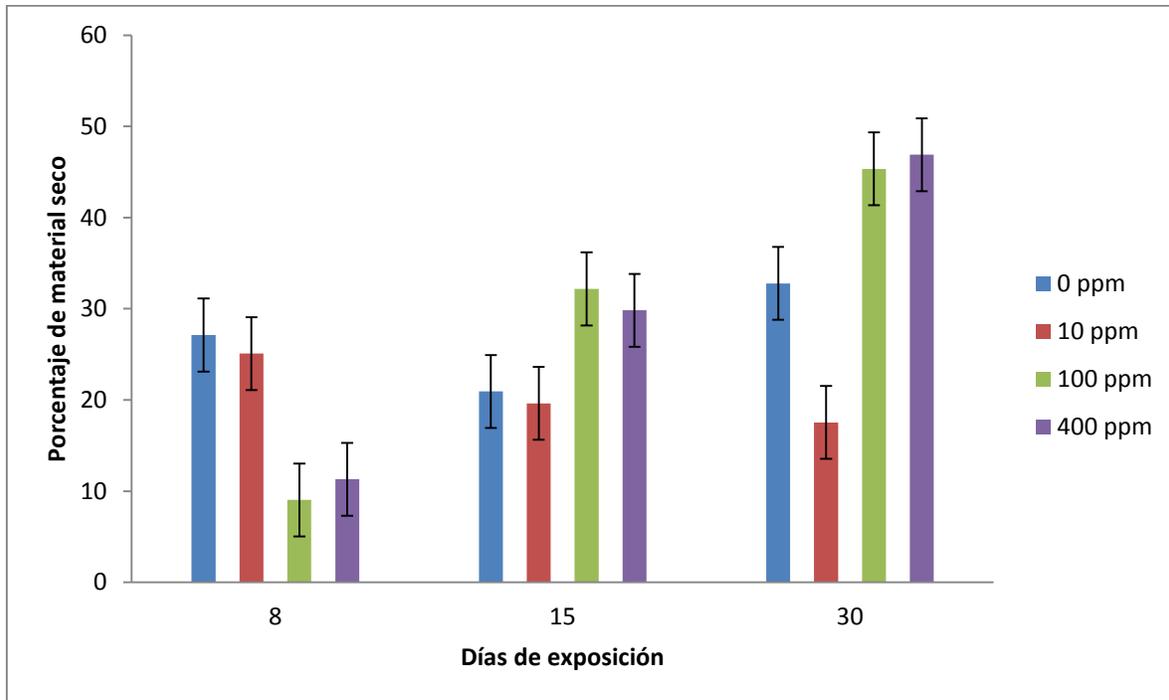


**Figura IV.1.** Tamaño promedio de las características físicas del *Helianthus annuus* expuesto a diferentes niveles de concentración de Plomo en 8, 15 y 30 días.

De acuerdo con el valor medio de longitud obtenido en al menos 3 individuos calculado en la tabla IV.1, podemos observar que el *Helianthus annuus* (girasol) expuesto a las diferentes soluciones plomo, presentó un crecimiento continuo en función del tiempo al alcanzar 13% de crecimiento con respecto a la referencia para la solución de 400 mg.L<sup>-1</sup>, entre 20 y 45% en los individuos expuestos a 100 mg.L<sup>-1</sup> y finalmente menos de 13% de crecimiento para las especies sumergidas en las soluciones de 10 mg.L<sup>-1</sup>. Este comportamiento también está representado en la figura IV.1. Con esto podemos decir, que el plomo es fácilmente tomado como nutriente para su crecimiento, esto en base a otro autor que reportaban este tipo de comportamiento (Chico-Ruiz, 2012).

En la figura IV.2 se muestra el % de peso seco de los individuos expuestos a las diferentes concentraciones y tiempos. De acuerdo con los pesos, las muestras expuestas a 8 días se observan que no existe diferencia entre el blanco y los individuos expuestos a  $10\text{mg.L}^{-1}$ , es decir, el metabolismo de los individuos expuestos no es perturbado por la concentración en cambio para las concentraciones mayores se observó una disminución del 50 % de peso. A 15 días de exposición, el peso del *Helianthus annuus* es muy aproximado entre la referencia y las especies expuestas a  $10\text{ mg.L}^{-1}$ . Por otra parte, en las muestras expuestas a  $100$  y  $400\text{ mg.L}^{-1}$ , se revela la aclimatación de los individuos expuestos porque existe una ganancia de peso de alrededor de 30%. En el caso de 30 días la tendencia es muy similar a lo anteriormente descrito para concentraciones mayores de  $100\text{ mg.L}^{-1}$ . Esto nos dice que a medida que la concentración aumentaba la planta no absorbía una cantidad elevada de agua para poder continuar realizando sus funciones. Aunque ligeramente menor respecto a los experimentos de 8 días.

Por otra parte, al comparar el efecto de la concentración, todo indica que independientemente del tiempo de exposición los individuos estudiados a concentración de  $10\text{ gm.L}^{-1}$  mantienen constante el % de peso seco posiblemente porque adsorben el 100% de plomo disponible.



**Figura IV.2.** Porcentaje de material seco a diferentes concentraciones y días de exposición en *Helianthus annuus*.

De acuerdo con el estudio bibliográfico la tendencia de mayor producción de material seco en plantas expuestas a 400 ppm podría deberse a que los individuos son capaces de adsorber el Plomo debido a que presentan unas valencias similares al calcio que son nutrientes. A mayor disponibilidad de agua y nutrientes la planta absorbe mejor los elementos aprovechables para ella (Kramer, 1983).

Durante el tiempo de exposición se tomaron apuntes de los diferentes cambios que sufría cada individuo, el número de hojas en cada individuo se mantuvo igual. En algunos de los individuos se pudo observar que presentaban “amarillamiento” en las hojas, pero no se pudo relacionar con ningún elemento, ya que se presentó aleatoriamente en los individuos sin importar el tiempo o la concentración.

Por otra parte, la parte de la raíz no presentó cambios en la mayoría de las plantas, solamente algunas presentaron pudrición en los cotiledones (Figura IV.3), pero al igual que el “amarillamiento” en hojas no se mostró ninguna relación entre el tiempo o la concentración.



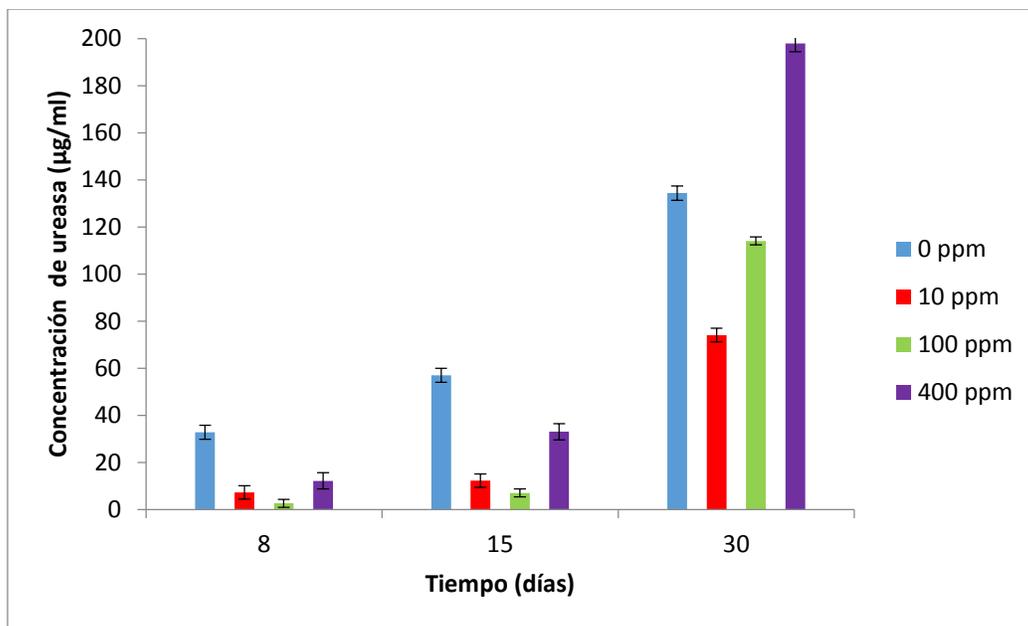
**Figura IV.3.** Pudrición en cotiledón de *Helianthus annuus*.

#### IV.1.2 Caracterización bioquímica

En esta sección se presentan los resultados de la actividad enzimática del *Helianthus annuus*, a las diferentes condiciones experimentales (10, 100 y 400 mg.L<sup>-1</sup>). De acuerdo con las mediciones de ureasa que se presentan en la figura IV.4, se observa que las series de experimentos con mayores concentraciones presentaron tendencias crecientes en producción de ureasa y que coincide con los resultados de la caracterización física. Destacando que los individuos expuestos a 400 mg.L<sup>-1</sup> por 30 días, son los únicos que presentaron 40% de mayor producción ureasa respecto a la referencia. En cambio, en los demás experimentos, aunque se observó actividad enzimática en función del tiempo el porcentaje de ureasa fue menor respecto a las referencias, que en los demás casos 40% se obtuvo valores con una tendencia relativamente similar en todas las concentraciones, la concentración más alta mostró menor actividad en los primeros 8 y 15 días en comparación de los demás, pero a los 30 días su actividad aumento significativamente. Para la muestra de 10 mg.L<sup>-1</sup>, la actividad enzimática fue constante los primeros 15 días, pero destaca un aumento en la producción de ureasa de 5 veces para el tiempo de 30 días esto hace suponer que el metabolismo de los individuos logró adaptarse a la presencia de plomo provocando una alteración bioquímica.

Estos resultados demuestran los obtenidos por Hubalek *et al*, en 2007, en el cual los análisis que se realizaron mostraron que la actividad de la ureasa aumentaba en relación con la cantidad de contaminante expuesto, en este caso, para Níquel. De

lo expuesto por Hubalek resalta que la interacción de los iones níquel con la ureasa es por la valencia del elemento.



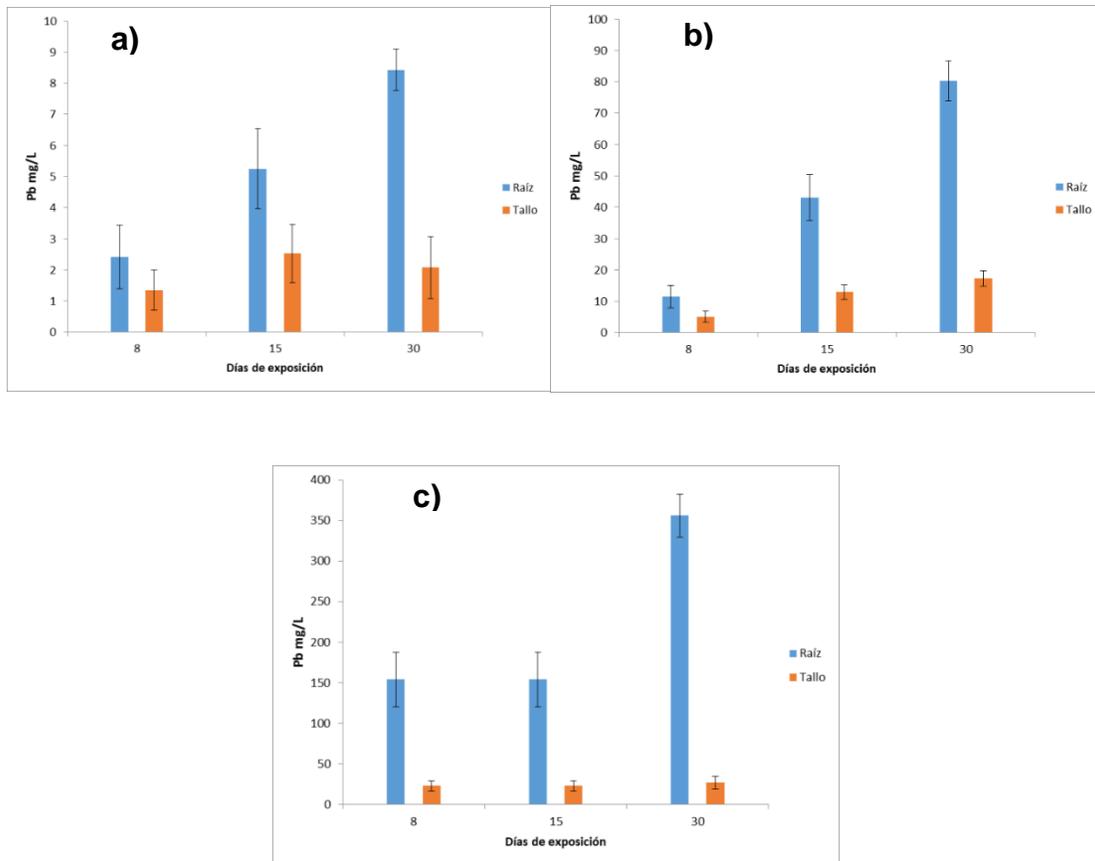
**Figura IV.4.** Concentración de ureasa en *Helianthus annuus*.

#### IV.1.3 Análisis de la absorción de Pb por espectrometría atómica

De los resultados de Absorción Atómica del *Helianthus annuus*, a las diferentes condiciones experimentales (10, 100 y 400 mg.L<sup>-1</sup>) se analizaron los individuos en la parte de la raíz y en la parte del tallo, con la finalidad de conocer donde se encontraba la mayor concentración del contaminante y determinar de alguna manera la ruta de este. En la figura IV.5 se presentan los resultados. A nivel de raíz se encontraron concentraciones de 356 ± 5 mg/L<sup>-1</sup> en las que tuvieron un tratamiento de 400 ppm durante 30 días, en las que se expuso por 15 días se detectó una acumulación de 154 mg.L<sup>-1</sup> y en las de 8 días 23 mg.L<sup>-1</sup>. Este comportamiento demuestra una acumulación del metal en función del tiempo.

En cuanto a las de 100 ppm se obtuvieron resultados de  $11.5 \text{ mg.L}^{-1}$  para las que estuvieron expuestas durante 8 días, mientras que para las de 15 días se absorbió  $43.1 \text{ mg.L}^{-1}$  y las de 30 días absorbieron el 80 % del total con  $80.4 \text{ mg.L}^{-1}$ . Por lo contrario, las muestras de menor concentración 10 ppm se absorbió  $2.4 \text{ mg.L}^{-1}$  en 8 días,  $5.3 \text{ mg.L}^{-1}$  en 15 y  $8.4 \text{ mg.L}^{-1}$  para las expuestas a 30 días. De lo anterior podemos decir que las series de experimentos ( $10$  y  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ) mostraron capacidad de absorción del ion plomo. De hecho, los porcentajes de asimilación fueron  $15\% \pm 5$  para 8 días,  $50\% \pm 5$  para 15 días y  $80\% \pm 5$  para 30 días para ambas series de experimentos. En el caso de los individuos expuestos a  $400 \text{ mg.L}^{-1}$ , los primeros 15 días el contenido de plomo fue constante debido a que la concentración es muy superior a lo que los individuos puedan asimilar.

En la parte del tallo se observó una disminución en la acumulación de plomo para las tres series de experimentos. Para los individuos expuestos a  $400 \text{ mg.L}^{-1}$ , la acumulación de plomo fue constante ( $25 \text{ mg.L}^{-1}$ ) sin embargo es superior a las demás concentraciones. Esto indica que los individuos tienen capacidad de adaptación a altas concentraciones del ion  $\text{Pb}^{+2}$ , pero solamente pueden transportar menos del 10% del plomo adsorbido en la raíz.



**Figura IV.5.** Absorción de Pb del *Helianthus annuus* expuesto a 10 ppm (a), 100 ppm (b) y 400 ppm (c) en 8, 15 y 30 días. (Azul) raíz y (rojo) tallo.

Como parte de la caracterización, se realizaron análisis en la parte de las hojas para determinar si el plomo se encontraba acumulado en dicha parte, pero en ninguna de las 3 concentraciones aplicadas (10, 100 y 400 ppm) mostraron resultados de que hubiese alguna cantidad de contaminante. Tomando en cuenta lo mencionado anteriormente y lo que muestran las gráficas, se puede notar que la mayoría del plomo se concentra en la parte de la raíz, al menos durante los primeros 30 días de exposición, que fue el tiempo máximo que se utilizó en este estudio.

#### IV.1.4 Análisis elemental de Pb por Microscopía Electrónica de Barrido

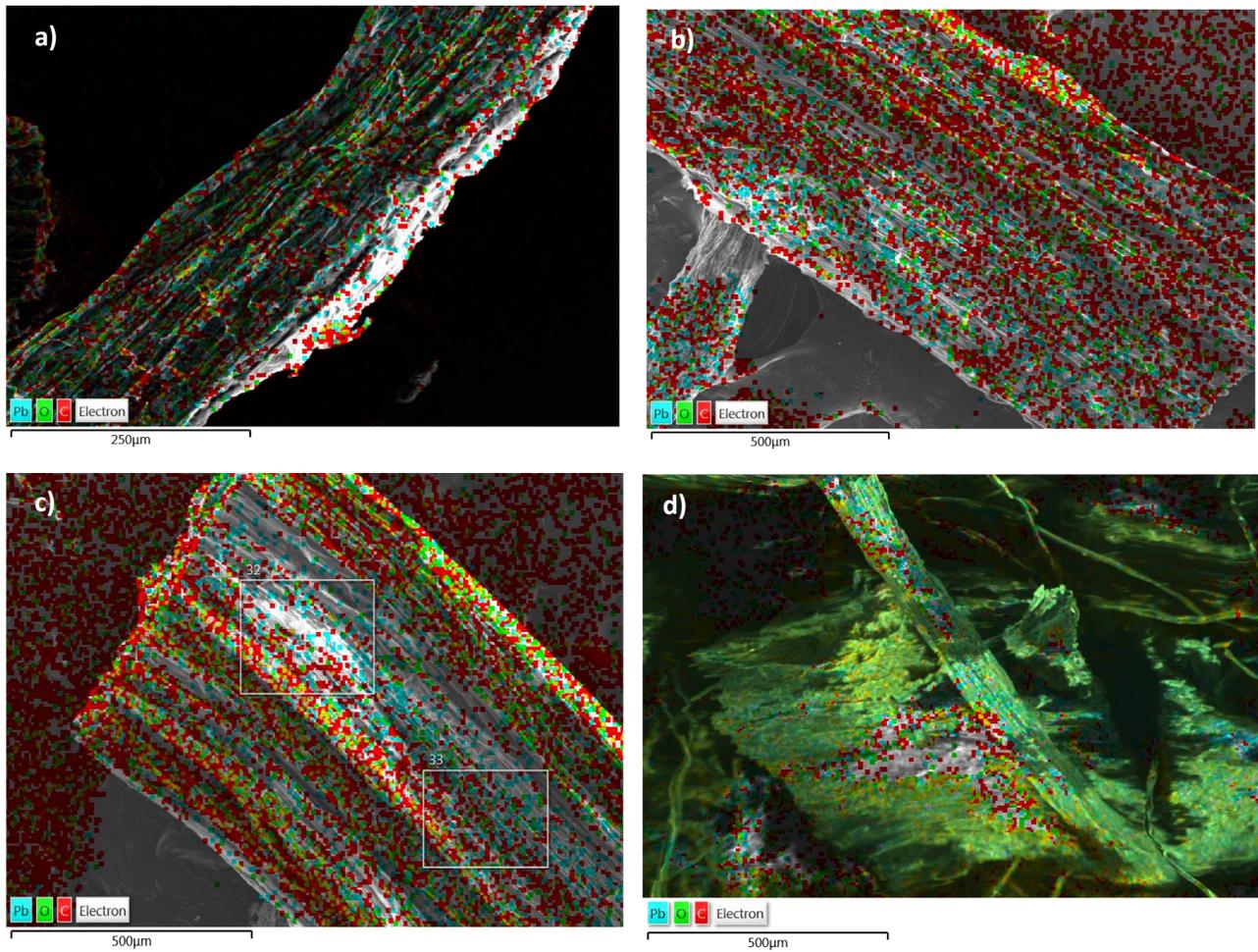
Para efectos de comparación en este trabajo se utilizó el análisis elemental por espectrometría por dispersión de energía de rayos X (para comprobar el contenido de plomo adsorbido por los individuos de *Helianthus annuus* expuesto a 400 mg.L<sup>-1</sup> a 8, 15 y 30 días. En la tabla IV.1 se resumen los resultados obtenidos, así como la media y la desviación estándar:

**Tabla IV.2.** Resultados de análisis elemental por Microscopía Electrónica de Barrido de Pb adsorbido vía metabólica en raíz de *Helianthus annuus* expuesta a 400 mg.L<sup>-1</sup> a 8, 15 y 30 días.

Tiempo	ppm	% Pb			$\bar{x}$	$\sigma$
		Punto 1	Punto 2	Punto 3		
8 días	10	2.5	2.8	1.6	2.3	0.3
	100	10.9	9.2	9.8	9.9	0.1
	400	15.6	13.8	17.6	15.6	0.1
15 días	10	3.1	2.9	3.8	3.3	1.1
	100	13.5	15.8	11.9	13.7	0.8
	400	20.8	18.9	22.1	20.6	0.9
30 días	10	5.1	6.3	4.8	5.4	1.1
	100	18.8	17.9	22.5	19.7	0.1
	400	49.1	52.2	55.8	52.3	2.3

Los resultados de análisis elemental para los individuos expuestos a 10 ppm durante 8, 15 y 30 días presentan porcentajes promedios de 2.3, 3.3 y 5.4 respectivamente para cada lapso de exposición. Para los que fueron expuestos a 100 y 400 ppm, la tendencia fue la misma, ya que se obtuvieron promedios de 9.9, 13.7 y 19.7 para los tiempos de exposición de 8, 15 y 30 días, estos para 100 ppm, mientras que para 400 ppm fueron 15.6, 13.7 y 52.3 en promedio para cada uno de los días.

En la figura IV.6 se presentan las imágenes características del análisis y en azul se destaca la presencia de plomo en la superficie.



**Figura IV.6.** Cortes de raíz de *Helianthus annuus* con Pb. **a)** 100 ppm, **b)** 100 ppm, **c)** 400 ppm y **d)** 400 ppm.

## IV.2 *Caesalpinia mexicana*

### IV.2.1 Caracterización física

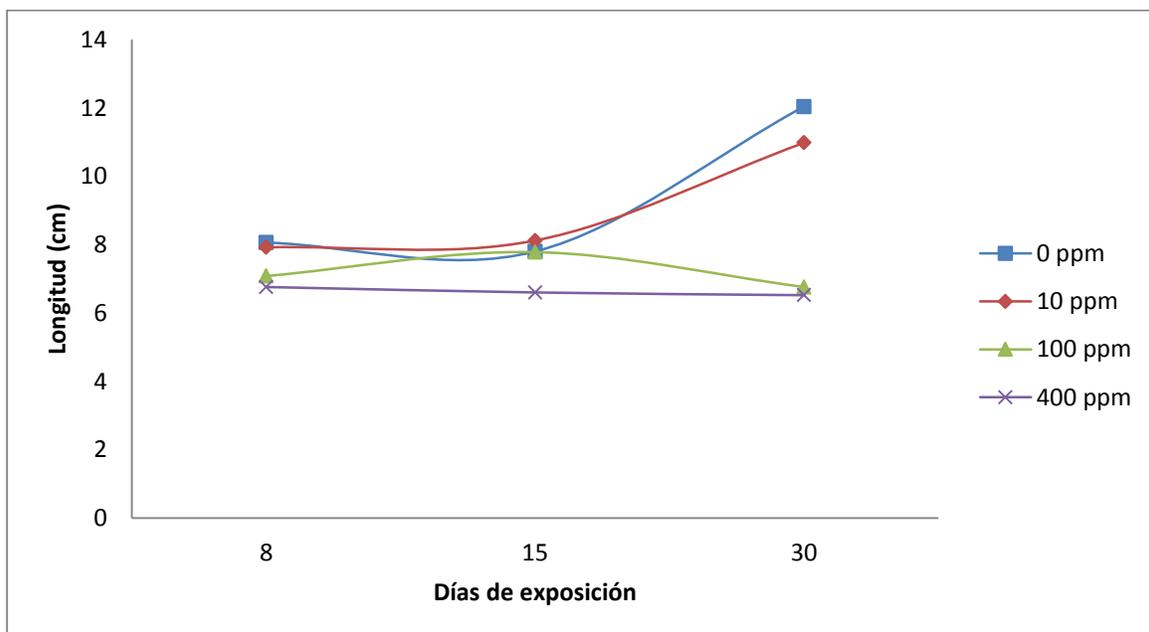
Para la caracterización física de la *Caesalpinia mexicana* se tomaron en cuenta los mismos factores que la especie anterior. En general las distintas concentraciones presentaron las mismas características físicas en la estructura de la planta. En la Tabla IV.3, se resumen los resultados de la siguiente discusión. Las especies de *Caesalpinia mexicana*, que fueron colocadas en concentraciones de 10 ppm, sus longitudes no tuvieron una gran diferencia en comparación del blanco (<2%), en relación con el tiempo se notó un incremento de longitud a medida que aumenta el tiempo, pero el crecimiento no fue mayor de 25% en 30 días. En el caso de las concentraciones de 100 y 400 mg.L<sup>-1</sup> no tuvieron un crecimiento constante, por ejemplo, las especies expuestas a 100 mg.L<sup>-1</sup>, solo presentaron un crecimiento constante respecto a la referencia en los primeros 15 días pero posteriormente, los individuos expuestos a 30 no se desarrollaron a la misma velocidad presentando una tallo 40% menor. En los experimentos estudiados a 400 mg.L<sup>-1</sup>, mantuvo prácticamente la misma tendencia, a los 15 días de exposición la diferencia de talla entre los individuos expuestos y el blanco fueron menores a 15% pero posteriormente la diferencia se percibe de manera importante al alcanzar más de 40% de diferencia.

En la figura IV.7 podemos ver más claramente la tendencia de crecimiento constante fue para las muestras de referencia y las especies expuestas a baja concentración.

En cambio, las especies expuestas a concentraciones superiores se ven afectadas en su crecimiento a largo tiempo de exposición.

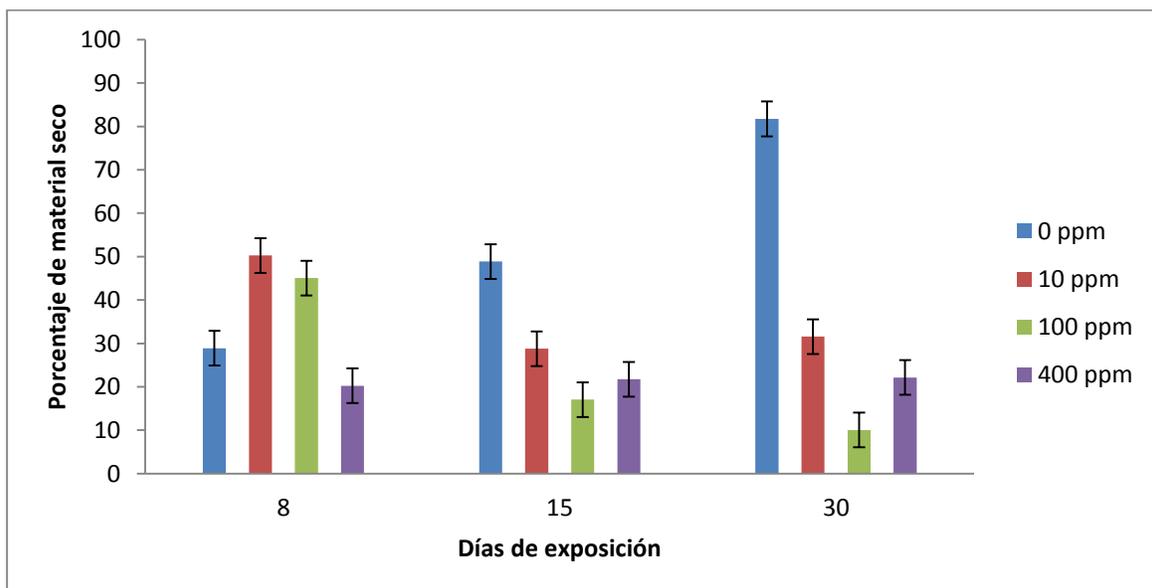
**Tabla IV.3.** Efecto del contenido de plomo en raíz y tallo del *Caesalpinia mexicana* expuesto a diferentes niveles de concentración de Plomo en 8, 15 y 30 días.

Días de exposición	Concentración de Plomo	Longitud (cm)				
		E1	E2	E3	Promedio	$\sigma$
8	0	8.9	8.1	7.6	8.2	0.7
	10	8.2	7.5	8.5	8.1	0.5
	100	6.7	6.8	7.8	7.1	0.6
	400	6.8	6.5	6.8	6.7	0.2
15	0	8.1	7.2	8.3	7.9	0.6
	10	8.9	8.7	8.1	8.6	0.4
	100	8.1	7.8	7.8	7.9	0.2
	400	7.1	6.1	6.5	6.6	0.5
30	0	10.5	11.8	12.6	11.6	1.1
	10	10.8	11.1	10.8	10.9	0.2
	100	7.1	6.8	6.8	6.9	0.2
	400	6.7	6.2	7.1	6.7	0.5



**Figura IV.7.** Tamaño promedio de las características físicas del *Caesalpinia mexicana* expuesto a diferentes niveles de concentración de Plomo en 8, 15 y 30 días.

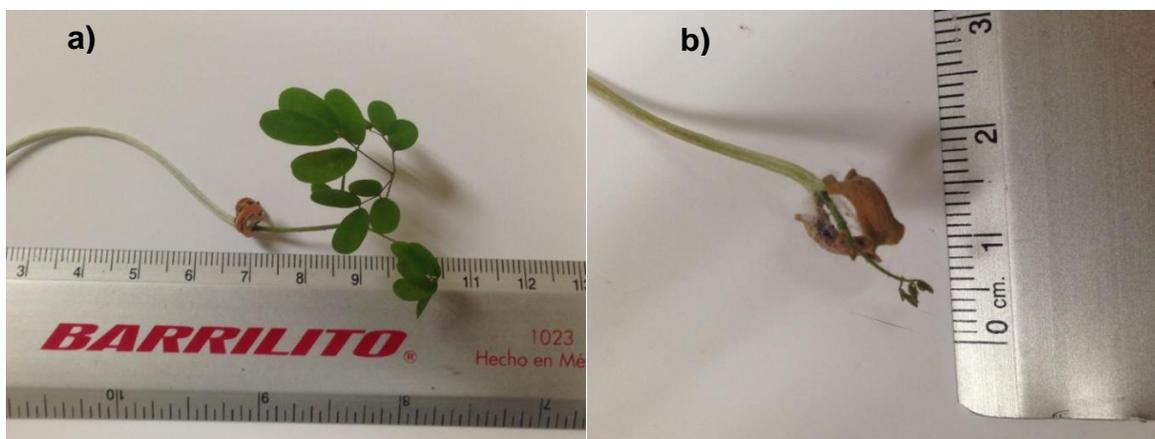
En la figura IV.8 se muestra el % de peso seco de los individuos expuestos a las diferentes concentraciones y tiempos. De acuerdo con los pesos, en las muestras expuestas a 8 días se observa que no existe diferencia entre la referencia y los individuos expuestos a 10 mg.L<sup>-1</sup>, considerando que la variación estándar de los experimentos fue de  $\pm 7\%$ . Lo que quiere decir que, el metabolismo de los individuos expuestos no fue perturbado por la concentración de plomo suponiendo que absorben el 100%. En cambio para las concentraciones mayores (100 y 400 mg.L<sup>-1</sup>) se observó una disminución de peso de más del 50% de peso. Principalmente en los individuos expuestos a 400 mg.L<sup>-1</sup>, donde esta propiedad se mantuvo constante durante todo el periodo de estudio. Lo anterior implica que los individuos no son capaces de adaptarse a concentraciones muy altas de plomo, modificando su estructura y alterando su metabolismo.



**Figura IV.8.** Porcentaje de material seco a diferentes concentraciones y días de exposición en *Caesalpinia mexicana*.

Al igual que con la longitud, se calculó la correlación existe entre el tiempo y la cantidad de material seco que produjo cada planta en las diferentes concentraciones. En los datos ajustados no se mostró ninguna dependencia entre las variables, solamente el declive del peso a través del tiempo.

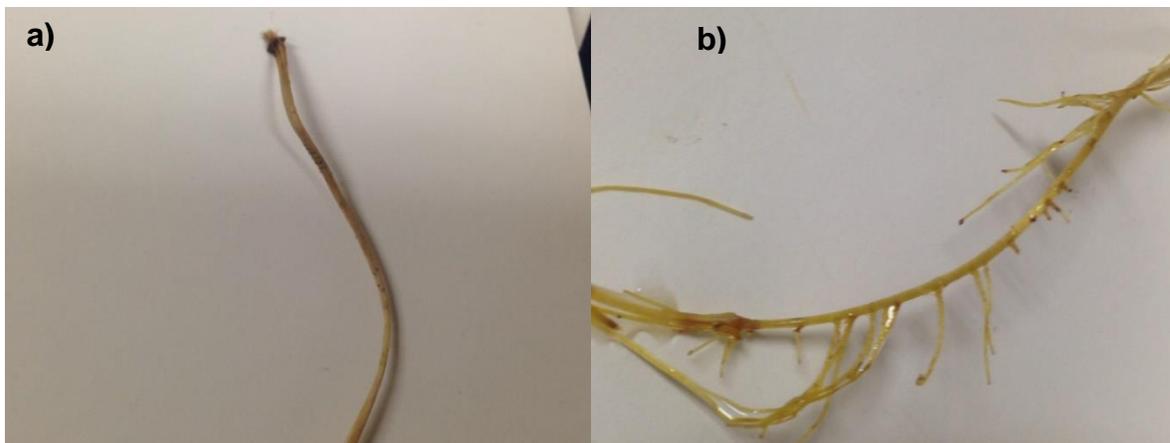
Un dato importante de mencionar fue el del desarrollo de la planta al final del estudio, las diferencias entre el tamaño de las hojas de los individuos testigo y los de altas concentraciones resultaron ser muy significativas, ya que las primeras tuvieron un desarrollo normal, mientras que las otras si presentaron hojas, pero de un tamaño muy pequeño (Figura IV.9). El tamaño en las hojas es una variable importante, ya que al tener una superficie más grande puede recibir mayor cantidad de luz para producir sus nutrientes, lo cual se puede ver claramente en las imágenes.



**Figura IV.9.** Crecimiento de hojas en *Caesalpinia mexicana*. a) Muestra de control, b) muestra expuesta a 400 ppm.

Además de lo anterior la raíz de las plantas con altas concentraciones de Pb también presento menor desarrollo, ya que carecían de raíces secundarias en

comparación de los testigos (Figura IV.10). La formación de raíces secundarias contribuye al aprovechamiento de los nutrientes que tiene disponible la planta, y al contar con un mayor número y tamaño la planta se desarrollará mejor, en el caso de las plantas con 400 ppm de Pb y la nula aparición de raíces es la muestra de la poca capacidad que tiene la *Caesalpinia* para soportar el contaminante, lo que en conjunto con las hojas pequeñas impide que la planta crezca.



**Figura IV.10.** a) Raíz principal de *Caesalpinia mexicana* a 400 ppm. b) Raíz de *Caesalpinia mexicana* con raíces secundarias bien desarrolladas.

Otra observación fue en la coloración de los individuos de concentraciones altas, los cuales presentaban una coloración más oscura a diferencia del color verde de los testigos, en un principio se creyó que estaban secas, pero se comprobó que aún seguían con vida, esto obviamente es debido a la poca luz que recibe debido al tamaño tan pequeño de las hojas con las cuales ayuda en el proceso de la fotosíntesis. Este efecto en el contenido de clorofila es ocasionado por los metales

pesados, que reduce la actividad fotosintética que causaría una reducción en el crecimiento de las especies (Upadhyay y Panda, 2009).

#### IV.2.2 Caracterización bioquímica

En la figura IV.11 se presentan los resultados de la caracterización bioquímica de la *Caesalpinia mexicana*, expuesta a las concentraciones de 10, 100 y 400 mg. L<sup>-1</sup>, durante 8, 15 y 30 días. Los resultados indican que la actividad enzimática actuó de manera diferente en cada uno de los individuos expuestos a las diferentes concentraciones, la intensidad aumenta gradualmente llegando a un punto máximo a los 30 días en todas las concentraciones a excepción de las de 400 ppm que presentó el máximo en los primeros 15 días para posteriormente disminuir las concentraciones de ureasa a los 30 días. Lo anterior implica que los individuos de control mostraron un aumento muy marcado de producción de ureasa hasta alcanzar 50 µg.mL<sup>-1</sup>, mientras que las concentraciones de 10 y 100 ppm mostraron una concentración menor de 10 µg.mL<sup>-1</sup> de ureasa a en los primeros 15 días, pero a los 30 días los individuos expuestos a 10 ppm aumentaron su producción de ureasa posiblemente porque ya han adsorbido el plomo contenido en la solución. En lo que corresponde a los individuos expuestos a 400 mg.mL<sup>-1</sup>, estos individuos posiblemente adsorben la mayor cantidad de plomo posible lo que hace que su metabolismo se modifique y que como consecuencia produzca mayor cantidad de ureasa sin embargo, es evidente que la *Caesalpinia mexicana* sea sensible y a 30 días su desarrollo sea mermado y su nivel de producción caiga hasta menos de 10 µg.mL<sup>-1</sup> de ureasa.

Aunque no es muy clara la correlación entre la caracterización física de los diferentes individuos expuestos a las diferentes concentraciones de plomo (10, 100 y 400 mg.L<sup>-1</sup>) y la actividad enzimática es evidente que el metabolismo de la *Caesalpinia mexicana* es más sensible a la presencia de plomo, ya que de acuerdo con la caracterización física los individuos expuestos a altas concentraciones durante 30 días presentaron cambios físicos muy importantes en comparación a la referencia. Lo anterior evidencia los efectos negativos de la incorporación de iones plomo.

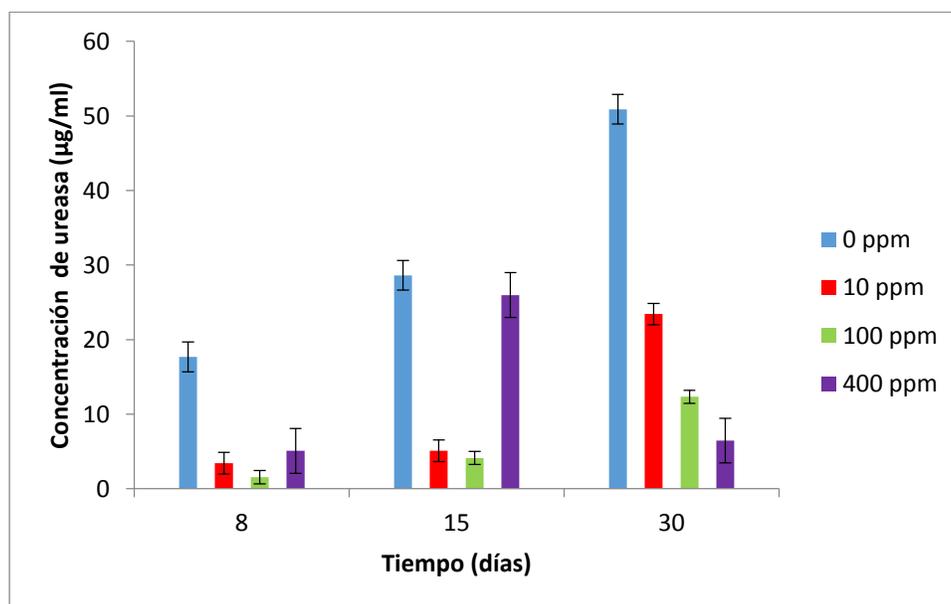


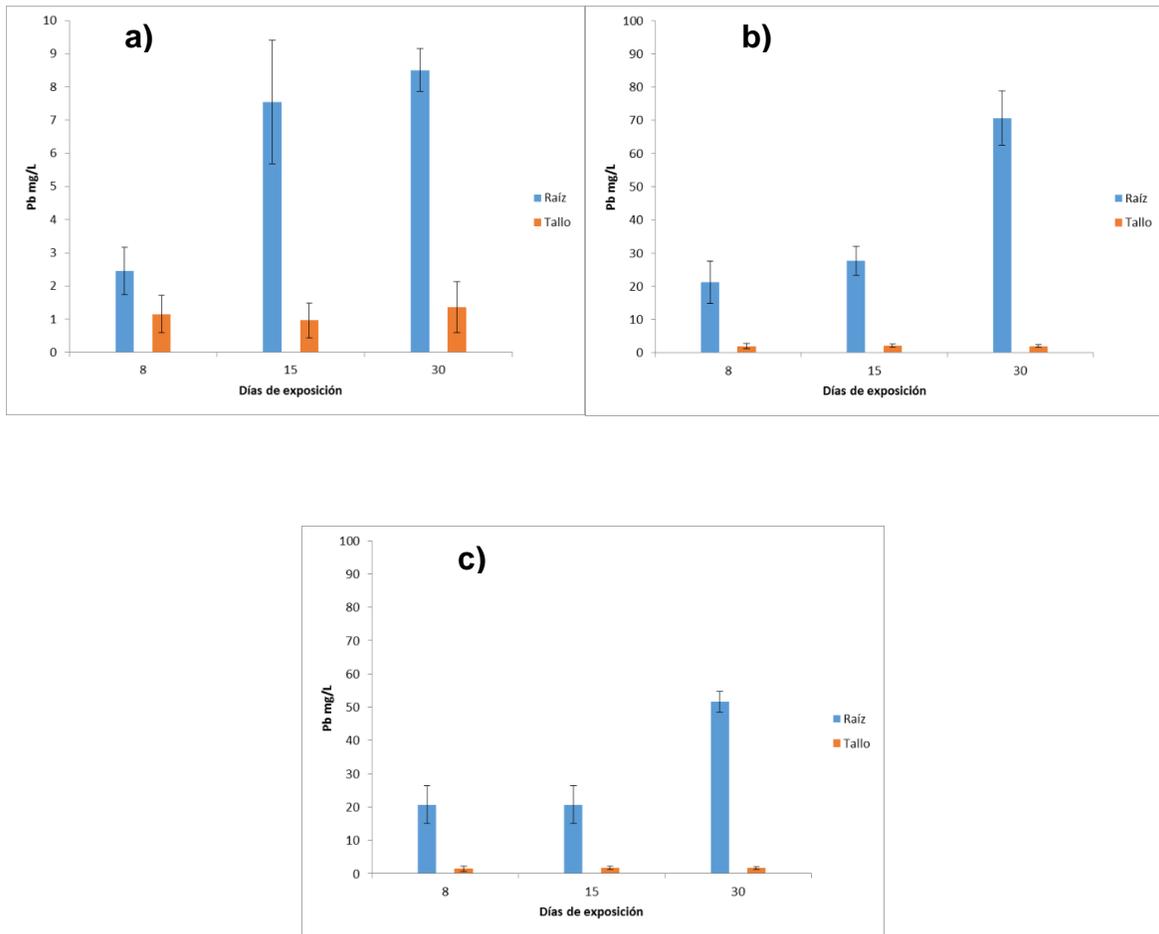
Figura IV.11. Concentración de ureasa en *Caesalpinia mexicana*.

### **IV.2.3 Análisis de la absorción del Pb por espectrometría de absorción atómica.**

Al igual que *Helianthus annuus* se evaluaron las concentraciones en dos partes, la aérea (tallo) y la expuesta directamente al contaminante (raíz) y de esta manera poder hacer una relación entre la caracterización física y la actividad enzimática dependiendo de la concentración que registre cada dato.

Las concentraciones de 10 y 100 ppm en la parte de la raíz se notó un incremento en la acumulación de Pb en relación con el tiempo de exposición, las muestras expuestas a la concentración de 10 ppm en los primeros 8 días dieron como resultado una acumulación de 2.45 mg/L, mientras que en los 15 y 30 días absorbió 7.54 mg/L y 8.51 mg/L respectivamente. Las plantas que estuvieron expuestas a 100 ppm absorbieron entre 20 y 30% del contaminante durante los primeros 8 y 15 días, pero a los 30 días se registró un aumento de más del doble de Pb llegando aun 70.66 mg/L. Al contrario de las concentraciones anteriores, la de 400 ppm no se detectó una absorción mayor a 50 mg/L en el mayor lapso de tiempo, mientras que a los 8 y 15 días se detectaron 20.74 mg/L para ambas muestras (Figura IV.12).

Para la parte de los tallos se mostró poca acumulación para las 3 concentraciones en comparación de la raíz, para las de 10 ppm se registraron cantidades similares en los tres periodos de tiempo que no rebasaron los 1.37 mg/L, para los 100 ppm a los 8 y 15 días resultaron 20.74 mg/L para ambas muestras; por último la de 400 ppm tuvo una absorción de 1.49 mg/L para 8 y 15 días y para los 30 días 1.67 mg/L, que representan el .37 % del total de la concentración.



**Figura IV.12.** Absorción de Pb en raíz y tallo de *Caesalpinia mexicana* de 10 ppm (a), 100 ppm (b) y 400 ppm (c) en 8, 15 y 30 días.

Con estos resultados podemos ver la tendencia que tiene la planta de ya no absorber cantidades altas de contaminante debido a algún tipo de saturación en su estructura, esto nos indica que la planta no tiene la capacidad de estar en contacto con altas concentraciones de Pb por largos periodos pero en concentraciones cercanas o menores a  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  puede continuar realizando sus funciones biológicas.

#### IV.1.4 Análisis elemental de Pb adsorbido vía metabólica por Microscopía Electrónica de Barrido

En este análisis para la comprobación del plomo dentro de la planta se pudo observar que la planta si absorbió el elemento, pero no realizó ningún proceso de asimilación, a continuación, se presenta las tablas con las medias de los resultados arrojados por el SEM:

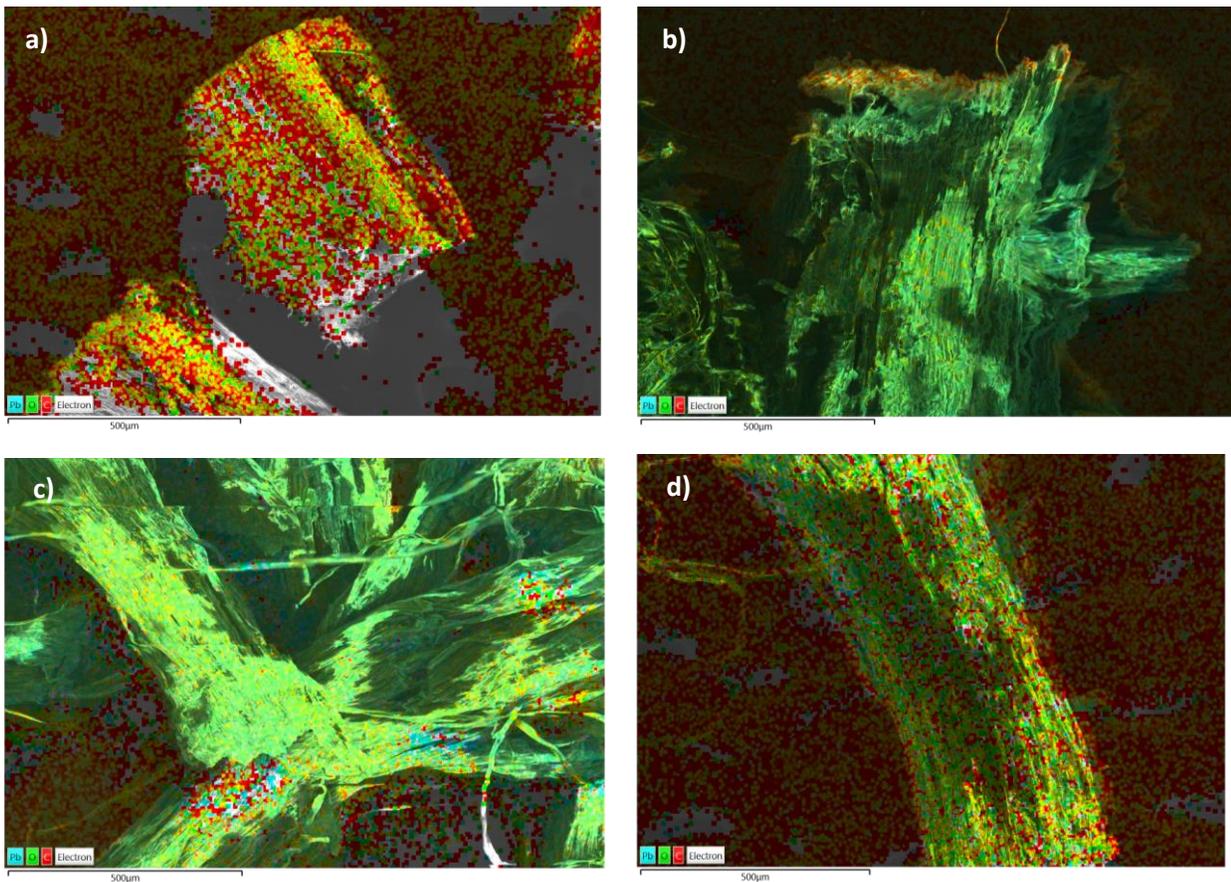
**Tabla IV.4.** Resultados de análisis elemental de Pb adsorbido vía metabólica en *Caesalpinia mexicana* determinado por Microscopía Electrónica de Barrido en muestra expuesta a 8, 15 y 30 días.

Tiempo	ppm	% Pb			x	$\sigma$
		Punto 1	Punto 2	Punto 3		
8 días	10	0.9	1.1	1.6	1.2	0.1
	100	7.1	6.2	7.8	7	0.2
	400	12.5	14.2	12.9	13.2	0.1
15 días	10	2.1	3.4	2.8	2.8	0.1
	100	8.8	9.8	9.1	9.2	0.5
	400	15.9	17.5	16.8	16.8	0.1
30 días	10	1.5	2.5	3.5	2.5	0.2
	100	5.6	3.9	5.1	4.9	0.1
	400	8.5	6.8	5.9	7	0.1

La tabla IV.4 muestra los resultados del porcentaje de plomo que contenían las muestras *Caesalpinia mexicana*. En las muestras de 10 ppm se obtuvieron promedios de 1.2, 2.8 y 2.5 para 8, 15 y 30 días respectivamente. En cuanto a las muestras de 100 y 400 ppm, mostraron resultados inversamente proporcionales al contenido de plomo expuesto, las de 400 ppm fueron las que menos plomo mostraron. En promedio los resultados de 100 ppm, fueron de 7, 9.2 y 4.9 a los 8, 15 y 30 días, mientras que para 400 ppm se reportaron 13.2, 16.8 y 7. Otro dato del

análisis fue que las partes del tallo no mostraron presencia del Pb en los puntos, esto podría ser igual que con los puntos que marcaron cero en la raíz, fue muy poca la concentración del contaminante en el tallo que no se localizó en el microscopio.

A continuación, en la figura IV.13 se muestran algunas imágenes con la distribución del Pb (color celeste) dentro distintos cortes de la raíz de *Caesalpinia mexicana*:



**Figura IV.13.** Cortes de raíz de *Caesalpinia mexicana* con Pb. **a)** 100 ppm, **b)** 100 ppm, **c)** 400 ppm y **d)** 400 ppm.

### IV.3 Discusión de resultados

Los resultados que podemos observar en cuanto al comportamiento que tuvo *Helianthus annuus* al contacto con el ion  $Pb^{+2}$ , marcaron una tendencia muy marcada en no sufrir cambios significativos en su estructura física, ya que visualmente no sufrió daños, ni en la parte de la raíz ni en la del tallo, en cuanto a su crecimiento se notó un incremento normal en base al tiempo obteniendo longitudes más grandes conforme aumentaba la concentración del contaminante, de igual manera con la producción de materia seca en cada individuo, obteniendo un aumento de casi el tripe de mg de materia en las concentraciones altas.

Estos datos resultan ser interesantes una vez se comparan con los arrojados por la cantidad de  $Pb^{+2}$  absorbido muestran que la planta contiene mucha cantidad del contaminante en relación con el total al que estuvo expuesto, demostrando su capacidad de acumulación y realizando sus funciones de una manera normal ya que en la concentración más alta de Pb absorbió arriba del 80 % del total.

Comparando con las observaciones físicas se pueden ver que las interacciones entre planta-contaminante resultan ser poco dañinas e inclusive hasta benéficas ya que aumenta su tamaño en comparación con las de control y agregado a esto la actividad enzimática resulta también tener una mayor actividad acorde a la prolongación del tiempo, con la excepción de las concentraciones de 10 y 100 ppm que en un principio no tiene una cantidad de ureasa significativa elevándose a un 200 % a los 30 días, este detalle resulta un poco difícil de interpretar debido al poco

estudio que se tiene sobre el comportamiento de esta encima en conjunto con ciertos contaminantes.

Para la *Caesalpinia mexicana* los resultados obtenidos en los apuntes de sus cambios morfológicos tuvieron un aporte importante, ya que se observa la nula capacidad de la planta para estar en contacto con cantidades muy grandes de  $Pb^{+2}$  y manifestó un mejor desarrollo en los individuos que sirvieron de testigo para el estudio, teniendo pérdidas de tamaño, peso, cantidad de hojas e inclusive la carencia de raíces secundarias.

La mayoría de los individuos presentaron cambios significativos, específicamente la concentración de ureasa en los individuos expuestos a la mayor cantidad de  $Pb^{+2}$  disminuyó drásticamente en las plantas de 30 días, demostrando que el contaminante tiene un efecto directo en la reacción que produce la ureasa inhibiendo los sistemas biológicos como reportan algunos autores como Kriskova en el 2009, contrastando con los resultados de *Helianthus annuus*. Por su parte la proporción de materia seca en los individuos de control

Al momento de colocar los datos conseguidos de concentración de ureasa y los cambios físicos reafirma la relación que existe entre los daños producidos a la planta y la reducción de la ureasa, ya que los individuos que estuvieron en contacto con la concentración de 400 ppm fue la que manifestó la reducción de la ureasa, nulo crecimiento de las hojas, cambio en la coloración, menor producción de materia seca hasta en un 70% a diferencia de las de control que tuvieron un desarrollo creciente, en todos los análisis. Esto confirma los resultados obtenidos por Hubalek

y compañía en 2007 que mostraban la relación de la ureasa con los iones de los elementos contaminantes, su actividad aumenta debido a esa interacción.

Una cuestión importante para la discusión de estos resultados es que no existen reportes previos del estudio de la *Caesalpinia mexicana* para su uso como indicadora de contaminación, por lo que su comparación con los individuos de control resulta importante ya que nos demuestra lo dañino que resulta este contaminante en concentraciones altas.

Por último, los resultados dados por el SEM comprueban que la ruta del Pb puede variar debido a que no se encontró la presencia de este en algunos puntos de análisis abriendo una puerta para la realización de un análisis más profundo. También se registra que en los 30 días de exposición el Pb aún no llega a la parte de las hojas en *Helianthus annuus* ni en *Caesalpinia mexicana*, lo cual parece lógico para la segunda especie ya que no puede absorber una cantidad alta del contaminante y por lo tanto se limita la migración del metal, pero por el lado de la primera especie podría ser cuestión del tiempo para que llegue a otras zonas de la misma o que la planta realice algún proceso de eliminación del  $Pb^{+2}$ , aunque esto solo serían suposiciones ya que no existe literatura que nos confirmen estos comentarios.

CAPÍTULO V  
CONCLUSIONES Y  
RECOMENDACIONES



## **V.1 Conclusiones y recomendaciones**

Las técnicas que se utilizan actualmente para llevar a cabo los monitoreos de contaminación atmosférica resultan ser efectivos al momento de arrojar resultados inmediatos, su uso no puede ser reemplazado fácilmente, pero su costo económico es elevado y eso siempre es una limitante para su aplicación tanto sectores públicos como privados y al tratarse de una cuestión tan importante como lo es la salud pública y del medio ambiente no se debe quedar sin atención. Los problemas con estos tipos de análisis conllevan a limitaciones en el momento de la aplicación de medidas para la prevención de contingencias ambientales que causarían daños severos e inclusive irreversibles para algunos casos.

El uso de bioindicadores ambientales para la determinación de presencia de contaminantes son una herramienta muy útil y un preventivo para la detección oportuna de daños para su remediación más pronta, como pudimos ver en los resultados expuestos en el presente estudio, se puede hacer uso de especies que presenten cambios a medida que la contaminación aumenta y más importante aún, que se puede utilizar no solamente para contaminación atmosférica sino también para suelos, esto puede llevar a la aplicación de áreas verdes en empresas dedicadas a la industria minera o empresas que trabajen con ese material, haciendo obvio la contaminación en el área en el momento en que los individuos empiecen a manifestar cambios en su estructura física.

De la exposición de las especies *Helianthus annuus* y *Caesalpinia mexicana* a concentraciones de 10, 100 y 400 ppm durante 8, 15 y 30 días podemos concluir de manera más concreta que:

1. El Pb en altas y medianas concentraciones afecta directamente la composición morfológica ocasionando daños que evitan el desarrollo óptimo en la *Caesalpinia mexicana* y lo cual provoca que la planta no desarrolle completamente sus funciones biológicas y por ende no tenga una probabilidad muy alta de sobrevivencia.
2. El *Helianthus annuus* tiene una buena capacidad de absorción y acumulación del Pb en su estructura interna sin que deje de realizar sus funciones e inclusive puede resultar beneficioso para su crecimiento, al menos en las concentraciones utilizadas teniendo una correlación muy fuerte entre la cantidad de Pb y el aumento de su longitud y la producción de materia seca.
3. La especie nativa de la zona metropolitana de monterrey, *Caesalpinia mexicana*, puede ser utilizada como indicadora de contaminación por Pb dado a su intolerancia a estar en contacto durante mucho tiempo en concentraciones altas debido a la relación entre la cantidad del contaminante y poco o nulo desarrollo fisiológico.
4. El *Helianthus annuus* no es útil para su puesta en práctica como un indicador ambiental para contaminación por Pb, pero su capacidad de absorción y retención de este la hace un candidato idóneo para la experimentación en la bioacumulación de metales pesados como el Pb.

5. La concentración de ureasa no está directamente relacionada con la cantidad de plomo a la que se estuvieron expuestas las especies de estudio. Pero no se puede dejar cerrada la posibilidad de que, si lo esté debido a que en una especie si presento bajas en las concentraciones, pero en otra especie no indico cambios significativos en la cantidad de la concentración de la enzima.
6. El uso de bioindicadores ambientales no puede sustituir los métodos de muestreo utilizados actualmente que hacen uso de tecnología, pero son un complemento perfecto para detectar zonas que pudieran estar contaminadas, señalando los daños de forma visual que se pueden producir en seres vivos, todo esto con la finalidad de realizar un posterior análisis profundo de dichas áreas la toma de acciones para su restauración.

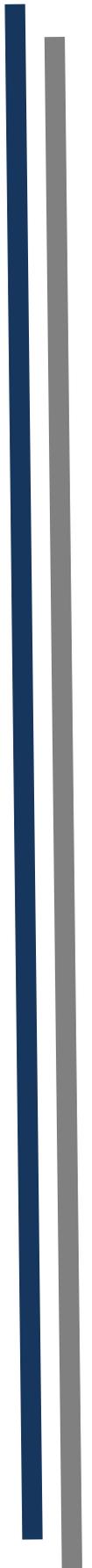
### **V.1.2 Recomendaciones**

Durante el transcurso de este trabajo y al finalizar las pruebas se produjeron una serie de cuestionamientos que no se pueden resolver por los objetivos de este proyecto, por lo tanto, se recomienda:

1. Realizar pruebas *in situ* sobre las afectaciones que puede provocar el Pb en suelos contaminados para la *Caesalpinia mexicana* para confirmar su potencial como especie bioindicadora.
2. Utilizar otros metales pesados para ampliar el conocimiento sobre las afectaciones de estos sobre las plantas.

3. Seguir con los análisis sobre cómo afecta la contaminación los procesos internos de las plantas como lo es la actividad enzimática.
4. Exponer a más contaminantes a *Helianthus annuus*, para averiguar más sobre su capacidad de especie bioacumuladora y los procesos que realiza la planta para lograrlo.
5. Aumentar el número de especies nativas para conocer mejor cuales son las especies que mejor funcionan para indicadoras de contaminación ambiental.

# BIBLIOGRAFÍA



- Aksoy, A., Öztürk, M., 1996. Phoenix dactylifera as a biomonitor of heavy metal pollution in Turkey. J. Trace Microprobe Tech. 14: 605-614.
- Aksoy, A., Demirezen, D., 2005. *Fraxinus excelsior* as a Biomonitor of Heavy Metal Pollution. Erciyes University, Faculty of Arts and Science, Department of Biology, Kayseri, Turkey. 32: 27-32.
- Anze, R., Franken, M., Zaballa, M., Pinto, M., Zeballos, G., Cuadros, M., Canseco, A., De la Rocha, A., Estellano, V., Del Granado, S., 2007. Bioindicadores en la detección de la contaminación ambiental en Bolivia. REDESMA: 53-74.
- ARTSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) 1993. Toxicological profile for lead. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta.
- Burger, J., 2006. Bioindicators: A review of their use in the environmental literature 1970-2005. Environmental Bioindicators 1: 136-144.
- CARB 2005, California Air Resources Board. Air Monitoring Quality Assurance, Volume I, Quality Assurance Plan. Monitoring and Laboratory Division.
- Catinon, M., 2011. Determinación de la contaminación metálica atmosférica: estudio crítico de la utilización de la corteza de los árboles, Universidad de Grenoble, Tesis de Doctorado.
- Celik, A., Kartal, A., Akdogan, A., Kaska, Y., 1995. Determining the heavy metal pollution in Denizli (Turkey) by using Robinio pseudo-acacia L. Environ. Int. 31: 105-112.

- Chico-Ruiz, J., Cerna-Rebaza De Chico, L., Rodríguez-Espejo, M., Guerrero-Padilla, M., 2012. Remedial capacity of Sunflower, root when submitted to different concentrations of lead. REBIOL, 32: 13-19.
- Corey, Germán; Galvao, Luiz AC. 1989. Plomo, Serie Vigilancia, 8. Metepec, Edo. De México: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, OPS/OMS.
- Delgadillo-López, A., González, C., Prieto, Francisco, Villagomez, José, Acevedo, O., 2011. Fitorremediación: Una alternativa para eliminar la contaminación. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 14: 597-612.
- Delince, W., Valdés, R., López, O., Guridi, F., Balbín, M., 2015. Riesgo agroambiental por metales pesados en suelos con Cultivares de *Oryza sativa* L y *Solanum tuberosum* L. Rev Cie Téc Agr vol.24: 163-165.
- DOF, 2004. Norma Oficial Mexicana Nom-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Que establece los criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo, hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio.
- DOF, 2012. Norma Oficial Mexicana NOM-156-SEMARNAT-2012. Establecimiento y operación de sistemas de monitoreo de la calidad del aire.
- Drasch G, Wanghofer E, Roider G, 1997. Are blood, urine, hair and muscle valid biomonitoring for the internal burden of men with heavy metals mercury, lead and cadmium. Trace Ele Electroly 14: 116-123.

- Estrabou, C., 1998. Lichen species identification and distribution according tolerance to airborne contamination in the city of Cordoba, Argentina, CETESB, Sao Paulo: 165-169.
- Fernández A., Ternero M., Barragán F. y Jiménez J. 2000. An approach to characterization of sources of urban airborne particles through heavy metal speciation. *Chemosphere - Global Change Science* 2: 123-136.
- Fewtrell LJ., Pruss-Ustun A., Landrigan P., Ayuso-Mateos JL. 2004. Estimating the global burden of disease of mild mental retardation and cardiovascular diseases from environmental lead exposure *Environmental Research*. Feb; 94(2): 120-33.
- García, J.S., P. Lupino Gratão, R. Antunes Azevedo, M. A. Zezzi Arruda, 2006. Metal contamination effects on sunflower (*Helianthus annuus L.*) growth and protein expression in leaves during development; *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 54: 8623-8630.
- Gerhardsson L, Englyst V, Lundström NG 1995. Lead in tissues of diseased lead smelter workers. *J Trace Elem Med Bio* 9: 136-143.
- Gisbert C, Ros R, de Haro A, Walker DJ, Pilar Bernal M, Serrano R, Avino JN, 1998. A plant genetically modified that accumulates Pb is especially promising for phytoremediation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 303(2): 440–445.
- Goyer RA 1996. Toxic effects of metals. En: Klaassen CD (ed) *Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons*. McGrawHill, New York.

- Hassett, J. E. y. Zak D.R 2005. Aspen Harvest Intensity Decreases Microbial Biomass, Extracellular Enzyme Activity, and Soil Nitrogen Cycling. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 69: 227–235.
- Hawksworth, D., T. Iturriaga, A. Crespo, 2005. Lìquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medioambientales en los trópicos, *Rev. Iberoam. Mic.*, 22: -71-82.
- Hubalek, J., Hradecky, J., Adam, V., Krystofova, O., Huska, D., Marik, M., Trnkova, L., Horna, A., Klosova, K., Adamek, M., Zehnalek, J., Kisek, R., 2007. Spectrometric and voltammetric analysis of urease-nickel nanoelectrode as an electrochemical sensor. *Sensors.* 7: 1238-1255.
- Hung X., Olmez I., Aras N. y Gordon G. 1994. Emissions of trace elements from motor vehicles potential marker elements and sources composition profile. *Atmos. Environ.* 28: 1385-1391.
- ICLAM, 2004. Evaluación de la calidad del aire en los municipios Maracaibo, San Francisco y Paéz. Niveles y Tendencias. 1995-2003. Estado Zulia. Venezuela.
- Imperato M., Adamo P., Naimo D., Arienzo M., Stanzione D. y Violante P. 2003. Spatial distribution of heavy metals in urban soils of Naples.city (Italy). *Environ. Pollut.* 124: 247-256.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). (2009). Manual del cultivo de Girasol en Venezuela. Araure, Venezuela. INIA. (Serie B N° 20). 48 pp.

- Instituto Nacional de Ecología, 2000. Gestión de la calidad del aire en México. 20-30.
- Instituto Nacional de Ecología, 2008. Manual 1 Principios de Medición de la Calidad del Aire. 38-39.
- Instituto Nacional de Ecología, 2010. El estado de la calidad del aire en México: 18 ciudades. 22-30.
- Jiang, N., Luo, X., Zeng, J., Yang, Z., Zheng, L., Wang, S., 2010: *Lead toxicity induced growth and antioxidant responses in Luffa cylindrica seedlings*. Int. J. Agric. & Biol., 12(2): 205–210.
- Kaznina, N.M., Laidinen, G.F., Titov, A.F., Talanov A.V., 2005: *Effect of lead on the photosynthetic apparatus of annual grasses*. Biol. Bull., 32(2): 147–150.
- Korc, M., 2010. Calidad del aire y su impacto en la salud en América Latina y el Caribe. CEPAL – SERIE Seminarios y conferencias N° 9: 13-47.
- Klos, A., Rajfur, M., Waclawek, M., Waclawek, W., Wuenschmann, S., Markert, B., 2010. Quantitative relations between different concentrations of micro and macroelements in mosses and lichens: the region of Opole (Poland) as an environmental interface in between Eastern and Western Europe. Int. J. Environ. Health 4: 98- 119.
- Kramer, P., 1983. Water relations of plants. Academic Press Inc.
- Krizkova, S., Ryant, P. Krystofova, O., Adam V., Galiova, M., Beklova, M., Babula, P., Kaiser, J., Novotny, K., Liska, M., Malina, R., Zehnalek, J., Hubalek, J., Havel, L., Kizek, R., 2008. Multi-instrumental analysis of tissues of sunflowers plants treated with Silver (I) ions-plants as bioindicators of environmental pollution. Sensors 8: 445-463.

- Laaksovirta, K., Oikonen, H., 1977. Epiphytic lichen vegetation and element contents of *Hypogymnia physodes* and pine needles examined as indicators of air pollution at Kokkola, W. Finland. *Ann. Bot. Fenn.* 14: 112-130.
- Lakard, B., Herlem, G., Lakard, S., Antoniou, A., Fahys, B 2004. Urea potentiometric biosensor based on modified electrodes with urease immobilized on polyethylenimine films. *Biosensors and Bioelectronics* 19: 1641-1647.
- Lijteroff R., L. Lima, B. Prieri, 2009. Uso de líquenes como bioindicadores de contaminación atmosférica en la Ciudad de San Luis, Argentina, *Rev. Int. Contam. Ambiental*; 25 (2): 111-120.
- Liu, D., Xue, P., Meng, Q., Zou, J., Gu, J., Jiang, W., 2009. Pb/Cu effects on the organization of microtubule cytoskeleton in interphase and mitotic cells of *Allium sativum* L. *Plant Cell Rep.*, 28: 695-702.
- Liu, D., Zou, J., Meng, Q., Zou, J., Jiang, W., 2009. Uptake and accumulation and oxidative stress in garlic (*Allium sativum* L.) under lead phytotoxicity. *Ecotoxicology*, 18: 134–143.
- Lopez, D., 2015. Foto-oxidación de Bisfenol A bajo la acción de luz visibles. El monitoreo de oxígeno disuelto como evidencia de la degradación. Tesis.
- Lötschert, W., 1983. Immissions analysen im Raum Frankfurt unter Verwendung pflan-zlicher Biodinidkatoren. *Verh.Ges.Ökol.* 11: 277-290.
- Malgorzata, P., Zawadski, K., Samecka, C., Kolona, K., Klink, A., Krawczyk, J., Kempers, A., 2013. Evaluation of the bioindicator suitability of *Polygonum aviculare* in urban areas. *Elsevier/Ecological Indicators* 24: 552-556.

- M. Marcelli, M. Seaward, 1998. Lichenologists in Latin America: History, current knowledge and applications, CETESB: 177.
- Martínez, J., Fernández, A., 2004. Cambio Climático: Una visión desde México. Instituto Nacional de Ecología y Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México: 127-172.
- Markert, B., 1995. Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace element analysis in plant matrices. *Sci. Total Environ.* 176 : 45-61.
- Matte T., 2003. Efectos del plomo en la salud de la niñez, *Salud Pública de México*, (45): S200-S224.
- Murin, A., 1995. Basic criteria for selection of plant bioindicators from the regional flora for monitoring of an environmental pollution. *Biol. Bratislava* 50: 37-40.
- Needleman, Hr. 2004. The current status of childhood lead toxicity. *Adv. Pediatr.* 40: 125-139.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo, hexavelente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos conaminados por arsénico, barrio, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio.
- OECD, Organization for Economic Cooperation and Development, 1993. Risk Reduction Monograph No. 1: Lead Background and National Experience with Reducing Risk. Paris, 277 (Report No. OCDE/GD, (93) 67).

- Oliva, S., Espinosa, A., 2007. Monitoring of heavy metals in top soils, atmospheric particles and plant leaves to identify possible contamination sources. *Microchem J.* 86: 131-139.
- Olteanu, Z., L. Oprică, E. Trută, M. M. Zamfirache, 2011. Behavior of antioxidative enzymes and of soluble protein in wheat seedlings after lead-induced stress, *Analele Științifice ale Universității, Alexandru Ioan Cuza, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*, XII: 75-85.
- Organización Mundial de la Salud, 2005. Guías de calidad del Aire de la OMS relativas al material particulado.
- Orozco, J., 2006. Sustitución de subacetato de plomo como clarificante en los análisis de laboratorio en un ingenio azucarero. Tesis. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Pallavi Sharma and Rama Shanker Dubey, 2005. Lead toxicity in plants, *Braz. J. Plant Physiol.*, 17(1): 35-52.
- Paivoke, A. E. A., 2002. Soil lead alters phytase activity and mineral nutrient balance of *pisum sativum*, *Environ. Exp. Bot.* 48: 61-73.
- Pájaro Castro, N. P., W. Maldonado Rojas, N.E. Pérez Gari, J. A. Díaz Cuadro, 2013. Revisión de las implicaciones ocupacionales por exposición al plomo, *Informador Técnico*, 77 (2): 183-191.
- Pascual, J. A., Moreno J. L., Hernández T, y García C. 2002. Persistence of immobilized and total urease and phosphatase activities in a soil amended with organic wastes. *Bioresource and Technology.* 82: 73-78.

- Paz, A., 2007. Phytoextraction of lead-contaminated soil using vetivergrass (*Vetiveria zizanioides* L.), Cogongrass (*Imperata cylindrical* L.) and Carabaograss (*Paspalum conjugatum* L.). *Environ Sci Pollut Re. Int.* 14: 498-504.
- Petrova, S., 2011. Biomonitoring Study of Air Pollution with *Betula pendula* Roth., from Plovdiv, Bulgaria. *Ecologia Balkanica* 31: 1-10.
- Pizzol M., M. Thomsen and M. Skou Andersen, 2010. Longterm human exposure lead from diferente media and in take pathways, *Sci. Total Environ.*, 408: 5478-5488.
- Poreba R., P. Gac, M. Poreba and R. Andrzejak, 2010. Environmental and occupational exposure to lead as apotential risk factor for cardiovascular disease, *Sci. Total environ.*, 408: 5478-5488.
- Programa de Gestión para mejorar la calidad del aire del Área Metropolitana de Monterrey, 2008, México: 12-22.
- Protocolo de Kioto de la convención marco de las naciones unidas sobre el cambio climático, 1997.
- Protocolo de Montreal relativo a las sustancias que agotan la capa de ozono, 1992.
- Recuperado12, 2013, de <http://www.3inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=19>.
- Rodríguez, D., Carvajal, S., Peñuela, G., 2011. Uso de biosensores enzimáticos para la determinación de cadmio en aguas naturales empleadas para la industria lechera. *Revista Politécnica.* 7: 117-123.

- Santori, C. S., R. Lijteroff, 2006. Evaluación de la calidad del aire mediante el uso de bioindicadores en la provincia de San Luis, Argentina, *Rev. Int. Contam. Ambiental*, 22: 49-58
- Saskia C. Zee V., Harssema H. y Brunekreef B. 1998. Characterization of particulate air pollution in urban and non-urban in the Netherlands. *Atmos. Environ.* 32: 3717-3729.
- Sawidis, T., Breute, J., Mitrovic, M., Pavlovic, P., Tsigaridas, K., 2011. Trees as bioindicator of heavy metal pollution in three European cities. *Elsevier/Environmental Pollution* 159: 3560-3570.
- Sawidis, T., et al. 1995. A Study of Air Pollution with Heavy Metals in Thessaloniki City (Greece) Using Trees as Biological Indicators. *Archives of environmental contamination and toxicology* 28: 118-124.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2008. Informe de situación de medio ambiente, México.
- Serna, D., 2015. Foto-oxidación de Bisfenol A bajo la acción de luz visible: El monitoreo de oxígeno disuelto como evidencia de la degradación. Tesis de Maestría. UANL.
- Skinner C.D. y Salin E.D. 2013. Determination of lead in soils surrounding a lead-acid battery manufacturer. *Can. J. Water Qual. Res.* 30: 299-304.
- Skipton, Sharon O., Dvorak, Bruce I., and Niemeyer, Shirley M., 2008. "Drinking Water Treatment: Water Softening (Ion Exchange)". University of Nebraska-Lincoln Extension.

- Steubing, L., 1976. Niedere und Höhere Pflanzen als Indikatoren für Immissionsbelastungen. *Landschaft p Stadt* 3/1976: 97-103.
- Szczepaniak, K., Biziak, M., 2003. Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution. *Environ. Res.* 93: 221-230.
- Tabatabai, M. 1994. Soil Enzymes. In: R.W. Weavwe, J.S. Angle and P.S. Bottomley. 1994. *Methods of Soil Analysis. Part 2 Microbiological and Biochemical Properties.* Soil Science of America. U.S.A.
- Taylor, M. P., D. Camenzuli, L.J. Kristensen, M. Forbes and S. Zahran, 2013. Environmental lead exposure risks associated with children's outdoor playgrounds, *Environmental Pollution*, 178: 447-454.
- Thornton I., Davies D.J.A., Watt J.M. y Quinn M.J. 1990. Lead exposure in young children from dust and soil in the United Kingdom. *Environ. Health Perspct.* 89: 55-60.
- Treble R, Thompson T 1997. Preliminary results of a survey of lead levels in human liver tissue. *Bull Environ Contam Toxicol* 59(5): 688-695.
- Tukker, Arnold et al, 2006. Risks to Health and Environment of the Use of Lead in Products in the EU. *Resources, Conservation and Recycling.* Volume 49(2): 89-109.
- Upadhyay, R.K., Panda, S.K. (2009). Copper-induced growth inhibition, oxidative stress and ultra structural alterations in freshly grown water lettuce (*Pistia stratiotes* L.). *C R Biol.* 332, 623–632.

- Watt, G. MC. M., A. Britton, H.G. Gilmour, M. R. Moore, G.D. Murray, S. J. Robertson, 2000. Public health implications of new guidelines for lead in drinkin wáter: a case study in an área with historically high wáter lead levels, In foof and chemical Toxicology, (38): S73-S79.
- Wagner, G., Müller, P., 1979. Fichtenals "Bioindikatoren" für die immissionsbelastung urbaner Ökosysteme unter besonderer Berücksichtigung von Schwermetallen. Verh. Ges. Ökol. 7: 307-314.
- Wittmers L, Aufderheide A. 1988. Lead in bone. Distribution of lead in the human skeleton. Arch Environ Health 43: 381- 391.
- World Health Organization, 1995: Inorganic Lead, Environmental Health Criteria 165, Geneva, Switzerland.
- Zantua, M. I. Dumenil L. C, y Bremner J.M. 1997. Relationships between soil urease activity and other soil properties. Soil Science Society of America Journal. 41: 350-352.
- Zurayk, R., et al, 2001. Common hydrophytes as bioindicators of nickel, chromium and cadmium pollution. Water, Air, and Soil Pollution 127: 373–388.