



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

---

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA  
ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA

ESTUDIO DE BIOACUMULACIÓN EN GARBANZO (*Cicer arietinum* L.) Y DAÑOS GENOTÓXICOS EN *Tradescantia* CLON 4430 POR PRESENCIA DE ARSÉNICO EN AGUAS Y SUELOS DE ZIMAPÁN, HIDALGO Y BELLA VISTA DEL RÍO, QRO. Y QUERÉTARO”.

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA

M. en C. MIGUEL ÁNGEL RICO RODRÍGUEZ

DIRECTOR: DR. FRANCISCO PRIETO GARCÍA

PACHUCA DE SOTO, HIDALGO

SEPTIEMBRE 2013



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA  
DIRECCIÓN

**M. en A. Julio César Leines Medécigo**  
Director de Administración Escolar  
PRESENTE

Por este conducto le comunico que el jurado asignado al pasante, del Doctorado en Ciencias Ambientales, **C. M. en C. Miguel Ángel Rico Rodríguez**, con número de cuenta 246139, quien presenta el trabajo de tesis titulado **“Estudio de bioacumulación en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) y daños genotóxicos en *Tradescantia* clon 4430 por presencia de arsénico en aguas y suelos de Zimapán, Hidalgo y Bella Vista del Río, Querétaro y Querétaro”**, después de revisar el trabajo en reunión de sinodales, ha decidido autorizar la impresión del mismo una vez realizadas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del jurado.

PRESIDENTE: Dra. Elena María Otazo Sánchez

SECRETARIO: Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval

VOCAL: Dr. Francisco Prieto García

SUPLENTE: Dra. Alma Delia Román Gutiérrez

Sin otro particular, reitero a Usted la seguridad de mi atenta consideración.

ATENTAMENTE

“Amor, Orden y Progreso”

Mineral de la Reforma, Hidalgo, a 21 de agosto de 2013.



Dr. Orlando Avila Pozos  
Director del ICBI



Ciudad Universitaria Carretera Pachuca-Tulancingo  
Km. 4.5. s/n Col. Carboneras C.P. 42184  
Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.  
Tel: (771)7172000 ext. 2230, 2231



- ✚ Miguel Ángel Rico Rodríguez expresa su agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado en el financiamiento del proyecto y beca otorgada (N° 251706)
  
- ✚ Al Centro de Estudios Académicos sobre Contaminación Ambiental (CEACA) de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, México.
  
- ✚ Al laboratorio de Geoquímica Ambiental del Centro de Geociencias de la UNAM campus Juriquilla

## **Agradecimientos**

- ✚ Doy gracias a Dios por permitirme haberme dado salud y así lograr concluir mis estudios.
- ✚ A mis padres Miguel Rico Salazar y Petra Patricia Rodríguez † por sus enseñanzas, que lograron crearme una disciplina en el estudio, con mucho cariño.
- ✚ A mi esposa María Angelica Fernández y a mis Hijos Miguel Angel, Mariana y Carolina, que son mi inspiración y fuerza para lograr concluir el doctorado, sin su apoyo no hubiera realizado este sueño.
- ✚ Con cariño y afecto a mi suegro Rodolfo Fernández Correa †, siempre con su apoyo incondicional, muchas gracias por haber tenido su confianza y amistad
- ✚ A mis amigos por su amistad y por todos los momentos que vivimos durante mi estancia en Pachuca

### ***A mi Comité Tutorial:***

- ✚ Al Dr Prieto por haber aceptado dirigir la tesis, por sus consejos y amistad
- ✚ A la Dra. Otazo, por sus sugerencias en las presentaciones y comentarios
- ✚ A la Dra. Alma, por sus comentarios acertados durante todos los seminarios y revisión del escrito.
- ✚ Al Dr. Otilio por su tiempo y apoyo para este trabajo.

***Gracias a todos ustedes!***

<b>N°</b>	<b>ÍNDICE</b>	<b>Página</b>
	ÍNDICE	
	ÍNDICE DE CUADROS	
	ÍNDICE DE FIGURAS	
<b>I</b>	<b>GLOSARIO DE TÉRMINOS</b>	<b>1</b>
<b>II</b>	<b>LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS Y SÍMBOLOS</b>	<b>2</b>
<b>III</b>	<b>RESUMEN</b>	<b>4</b>
<b>IV</b>	<b>ABSTRAC</b>	<b>6</b>
<b>V</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>8</b>
<b>VI</b>	<b>ANTECEDENTES</b>	<b>9</b>
<b>VI.1.</b>	<b>La minería en México</b>	<b>9</b>
<b>VI.2.</b>	<b>Contaminación por residuos mineros</b>	<b>10</b>
<b>VI.3.</b>	<b>Contaminación por metales pesados</b>	<b>11</b>
<b>VI.4.</b>	<b>Arsénico en el ambiente</b>	<b>12</b>
<b>VI.5.</b>	<b>Problemática de los distintos sitios de estudio</b>	<b>14</b>
<b>VI.5.1.</b>	<b>El Salitre, Zimapán Hidalgo</b>	<b>14</b>
<b>VI.5.2.</b>	<b>Querétaro, Qro</b>	<b>18</b>
<b>VI.5.3</b>	<b>Bella Vista del Río, Querétaro</b>	<b>18</b>
<b>VI.5.3.1.</b>	<b>Características y Uso del Suelo</b>	<b>19</b>
<b>VI.6.</b>	<b>Características del Garbanzo (<i>Cicer arietinum</i>)</b>	<b>20</b>
<b>VI.6.1.</b>	<b>Origen</b>	<b>20</b>
<b>VI.6.2.</b>	<b>Importancia económica y distribución geográfica</b>	<b>21</b>
<b>VI.6.3.</b>	<b>Características botánicas</b>	<b>21</b>
<b>VI.6.4.</b>	<b>Exigencias edafo-climáticas</b>	<b>22</b>
<b>VI.6.5.</b>	<b>Siembra</b>	<b>22</b>
<b>VI.6.6.</b>	<b>Variedades</b>	<b>23</b>
<b>VI.7.</b>	<b>Monitoreo biológico para determinar el efecto genotóxico del arsénico (As)</b>	<b>23</b>
<b>VII.</b>	<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>25</b>
<b>VII.1.</b>	<b>Objetivos generales</b>	<b>26</b>
<b>VII.1.1.</b>	<b>Objetivos específicos</b>	<b>26</b>

<b>VIII.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>27</b>
<b>VIII.1.</b>	<b>Muestras (Obtención y preparación)</b>	<b>28</b>
<b>VIII.2.</b>	<b>Análisis de los suelos</b>	<b>29</b>
<b>VIII.2.1.</b>	<b>pH (potenciometría, AS-02)</b>	<b>29</b>
<b>VIII.2.2.</b>	<b>Conductividad (conductimetría, AS-18)</b>	<b>30</b>
<b>VIII.2.3.</b>	<b>Potencial redox (potenciometría, AS-02)</b>	<b>30</b>
<b>VIII.2.4.</b>	<b>Potencial Z</b>	<b>31</b>
<b>VIII.2.5.</b>	<b>Humedad (gravimetría, AS-05)</b>	<b>31</b>
<b>VIII.2.6.</b>	<b>Materia orgánica (MO) (AS-07)</b>	<b>32</b>
<b>VIII.2.7.</b>	<b>Nitrógeno total (método Kenjdhal)</b>	<b>34</b>
<b>VIII.2.8.</b>	<b>Textura (Método Bouyoucos)</b>	<b>35</b>
<b>VIII.2.9.</b>	<b>Determinaciones de arsénico total en suelo y partes de la planta</b>	<b>37</b>
<b>VIII.3.</b>	<b>Análisis a las aguas de riego</b>	<b>38</b>
<b>VIII.4.</b>	<b>Pruebas de germinación en semillas de garbanzo (<i>C. arietinum</i>)</b>	<b>38</b>
<b>VIII.5.</b>	<b>Evaluación de la bioacumulación de arsénico por etapas de desarrollo en el cultivo de garbanzo (Ensayos en macetas)</b>	<b>39</b>
<b>VIII.5.1.</b>	<b>Determinación del índice de bioacumulación de arsénico en (raíz, tallo, hoja vaina y grano) del garbanzo</b>	<b>41</b>
<b>VIII.6.</b>	<b>Bioensayos para determinar el efecto genotóxico de los lixiviados provenientes de los ensayos en macetas</b>	<b>42</b>
<b>III.6.1.</b>	<b>Tradescantia clon 4430</b>	<b>42</b>
<b>VIII.6.1.1.</b>	<b>Micronúcleos en células meioticas (TRAD-MCN)</b>	<b>42</b>
<b>VIII.6.1.2.</b>	<b>Mutaciones somáticas en pelos estaminales (TRAD-MSPE)</b>	<b>44</b>
<b>VIII.6.2.</b>	<b>Células meristemáticas de las raíces del garbanzo (<i>C. arietinum</i>)</b>	<b>45</b>
<b>IX.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>47</b>
<b>IX.1.</b>	<b>Caracterización de los tres suelos</b>	<b>47</b>
<b>IX.2.</b>	<b>Análisis de las aguas de riego</b>	<b>53</b>

IX.2.1.	Contenido de arsénico en los lixiviados por etapa de desarrollo de la planta de garbanzo	56
IX.3.	Prueba de germinación en semillas de garbanzo ( <i>C. arietinum</i> )	61
IX.4.	Evaluación de la bioacumulación de arsénico en los diferentes órganos por etapas de crecimiento en garbanzo ( <i>C. arietinum</i> )	63
IX.5.	Índices de bioacumulación de arsénico en los diferentes órganos por etapas de crecimiento en garbanzo ( <i>C. arietinum</i> )	68
IX.6.	Bioensayos para determinar el efecto genotóxico del Arsénico	75
IX.6.1.	Inducción de Micronúcleos por los lixiviados (TRAD-MCN)	77
IX.6.2.	Inducción de mutaciones en pelos estaminales por los lixiviados (TRAS-MPE)	77
IX.6.3.	Inducción de micronúcleos por los lixiviados en células meristemáticas de las raíces del garbanzo ( <i>C. arietinum</i> )	81
X.	CONCLUSIONES	85
XI.	PERSPECTIVAS	88
XII.	BIBLIOGRAFÍA	89
XIII.	ARTÍCULOS	97
XIII.1.	Publicados	97
XIII.2.	Enviados	97
XIV.	CONGRESOS	97

## **ÍNDICE DE CUADROS**

## **Página**

<b>Cuadro 1.</b> Producción de algunos metales en México	10
<b>Cuadro 2.</b> Intervalos de concentraciones de As en áreas consideradas como naturales y contaminadas	14
<b>Cuadro 3.</b> Concentraciones límites permisibles para As, Mn y Pb en aguas potables en (mg/l), según Normas Nacionales e Internacionales	15
<b>Cuadro 4.</b> Análisis de As en las aguas del Distribuidor General (D. Gen), (muhi), Detzani y del pozo VI en Zimapán, Hidalgo realizados por la CNA, desde 1992 -1998	16
<b>Cuadro 5.</b> Principales productores de garbanzo a nivel mundial	20
<b>Cuadro 6.</b> Clasificación de suelos según el pH (NOM 021 RECNAT 2000)	29
<b>Cuadro 7.</b> Clasificación de suelos por evaluación de la salinidad (NOM 021 RECNAT 2000)	30
<b>Cuadro 8.</b> Parámetros de potencial Redox (Boulding, 1995)	31
<b>Cuadro 9.</b> Clasificación de suelos en base a los contenidos de materia Orgánica según suelos volcánicos y no volcánicos (NOM 021 RECNAT 2000)	33
<b>Cuadro 10.</b> Clasificación de los suelos en función del % de nitrógeno para suelos volcánicos y no volcánicos (NOM 021 RECNAT 2000)	35
<b>Cuadro 11.</b> Condiciones experimentales para los ensayos en macetas	40
<b>Cuadro 12.</b> Resultados de pH, CE, Eh y pZ en los suelos de las tres regiones en estudio	47
<b>Cuadro 13.</b> Contenidos de humedad en los suelos	49
<b>Cuadro 14.</b> Resultados de texturas y cenizas de los suelos en estudio. Entre paréntesis se muestra el porcentaje del coeficiente de variabilidad	50
<b>Cuadro 15.</b> Parámetros físicos de los suelos en estudio	50
<b>Cuadro 16.</b> Resultados de los contenidos de materia orgánica en los Suelos en estudio	51



<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	<b>Página</b>
<b>Cuadro 17.</b> Resultados del análisis elemental de Nitrógeno (total)	51
<b>Cuadro 18.</b> Resultados del análisis elemental de %C Orgánico	52
<b>Cuadro 19.</b> Contenido de (As) de los suelos en estudio	52
<b>Cuadro 20.</b> Resultados de pH, en las aguas utilizadas en los experimentos de cultivo de garbanzo de las tres regiones en estudio	53
<b>Cuadro 21.</b> Resultados de la CE en las aguas utilizadas en los experimentos de cultivo de garbanzo de las tres regiones en estudio	54
<b>Cuadro 22.</b> Resultados de Eh, en las aguas utilizadas en los experimentos del cultivo de garbanzo de las tres regiones en estudio	55
<b>Cuadro 23.</b> Resultados de la concentración de arsénico, en las aguas utilizadas en los experimentos del cultivo de garbanzo de las tres regiones en estudio	56
<b>Cuadro 24.</b> Resultados de la concentración de arsénico en los lixiviados provenientes de los suelos de los tres sitios de la 1 <sup>a</sup> etapa de desarrollo del Garbanzo	57
<b>Cuadro 25.</b> Resultados de la concentración de arsénico en los lixiviados provenientes de los suelos de los tres sitios de la 2 <sup>a</sup> etapa de desarrollo del garbanzo	58
<b>Cuadro 26.</b> Resultados de la concentración de arsénico en los lixiviados provenientes de los suelos de los tres sitios de la 3 <sup>a</sup> etapa de desarrollo del garbanzo	59
<b>Cuadro 27.</b> Resultados de la concentración de arsénico en los lixiviados provenientes de los suelos de los tres sitios de la 4 <sup>a</sup> etapa de desarrollo del garbanzo	60
<b>Cuadro 28.</b> Resultados de la concentración de arsénico en los lixiviados provenientes de los suelos de los tres sitios de la 5 <sup>a</sup> etapa de desarrollo del garbanzo	61
<b>Cuadro 29.</b> Análisis de germinación y crecimiento radicular de las semillas de garbanzo certificado. <i>Cicer arietinum</i> Var Kabuli (noreste) INIFAP-Celaya, Guanajuato y no certificado	61

## **ÍNDICE DE CUADROS**

## ***Página***

<b>Cuadro 30.</b> Resultados de las concentraciones de arsénico en las la 1ª etapa de desarrollo (plántula de aproximadamente 2.5 cm + raíz de garbanzo sembrado en macetas para los seis grupos experimentales	64
<b>Cuadro 31.</b> Resultados de las concentraciones de arsénico en raíz, tallo y hoja de garbanzo de la 2ª etapa de desarrollo	65
<b>Cuadro 32.</b> Resultados de las concentraciones de arsénico en raíz, tallo y hoja de garbanzo de la 3ª etapa de desarrollo	66
<b>Cuadro 33.</b> Resultados de las concentraciones de arsénico en raíz, tallo y hoja de garbanzo de la 4ª etapa de desarrollo	66
<b>Cuadro 34.</b> Resultados de las concentraciones de arsénico en raíz, tallo, hoja, Fruto y vaina de la 5ª etapa de desarrollo del garbanzo	67
<b>Cuadro 35.</b> Índice de bioacumulación de los diferentes órganos del garbanzo en los seis grupos experimentales durante las diferentes etapas de desarrollo	69
<b>Cuadro 36.</b> Resultados de la frecuencia de micronúcleos/100 tétradas, expuestos a lixiviados de suelos de Querétaro, Qro., Salitre Hgo. y Bella Vista Qro	76

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

## **Página**

<b>Figura 1.</b> Localización de los puntos de muestreo	20
<b>Figura 2.</b> Representación esquemática del sitio de muestreo de suelos de Zimapán y Bella Vista del Río con sus respectivos puntos de recolección de los mismos	28
<b>Figura 5.</b> Diagrama triangular de las clases texturales básicas del suelo según el tamaño de las partículas, de acuerdo con el USDA	37
<b>Figura 3.</b> Maceta para capacidad de 1Kg de suelo, se observa en la parte del fondo con una capa de arena de 2cm	39
<b>Figura 4.</b> Esquema representativo de la distribución de semillas sembradas en macetas y estructura para la captura de lixiviados	40
<b>Figura 6.</b> Metodología propuesta para la observación de micronúcleos, Tomado de Ma 1982	44
<b>Figura 7.</b> Exposición de las raíces de garbanzo a los diferentes lixiviados	46
<b>Figura 8.</b> Germinación en una cámara de crecimiento (Biotronete, mark III) con condiciones de temperatura y fotoperiodo controlado	62
<b>Figura 9.</b> Índice de bioacumulación en raíz de garbanzo por etapa de desarrollo para los seis grupos experimentales	71
<b>Figura 10.</b> Índice de bioacumulación en tallo de garbanzo por etapa de desarrollo para los seis grupos experimentales	72
<b>Figura 11.</b> Índice de bioacumulación en hoja de garbanzo por etapa de desarrollo para los seis grupos experimentales	73
<b>Figura 12.</b> Índice de bioacumulación en vaina y grano en la quinta etapa de desarrollo para los seis grupos experimentales	74
<b>Figura 13.</b> Microfotografía de una tétrada normal (a) y una con Micronúcleos (b) observada a magnificación 40X	75
<b>Figura 14.</b> Microfotografías que muestran las tétradas y micronúcleos de Tradescantia clon 4430 expuestos a los lixiviados provenientes de los suelos en estudio (Observados a aumento 40X)	77

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

## **Página**

<b>Figura 15.</b> Pelos estaminales con el color dominante azul	78
<b>Figura 16.</b> Aparición de mutaciones al 7 <sup>o</sup> día de haber iniciado los experimentos. El valor más alto se presenta entre el 13 <sup>o</sup> y 15 <sup>o</sup> día (Gichner <i>et al.</i> 1980)	78
<b>Figura 17.</b> Muestra los promedios de mutaciones/1000 pelos en las diferentes etapas de obtención de los lixiviados de los diferentes experimentos	80
<b>Figura 18.</b> Se observan los pelos estaminales analizados para cada grupo experimental. Células mutadas en color rosa y células normales en color azul	81
<b>Figura 19.</b> Resultados de los porcentajes de micronúcleos/1000 células, expuestos a lixiviados de suelos de Querétaro, Qro., Salitre Hgo. y Bella Vista Qro	82
<b>Figura 20.</b> Se observa un incremento de los micronúcleos en células de la raíz de garbanzo en las diferentes etapas de obtención de los lixiviados	83

## ***I. GLOSARIOS Y TÉRMINOS***

Antropogénico	El resultado de las actividades humanas.
Apoptosis	Muerte celular programada.
Bioacumulación	proceso de acumulación de sustancias químicas en organismos vivos.
Carcinógeno	agente físico, químico o biológico potencialmente capaz de producir cáncer al exponerse a tejidos vivos.
Citotóxico	Cualidad de producir efectos nocivos a las células.
Clastogénico	Agente físico o químico que induce rompimiento cromosómico.
Genotóxico	Agente físico o químico que daña al ADN.
Genética	campo de la biología que busca comprender la herencia biológica que se transmite de generación en generación.
Hiperqueratosis	Trastorno caracterizado por el engrosamiento de la capa externa de la piel.
Toxicidad	cualquier sustancia química de producir efectos perjudiciales sobre un ser vivo.
Metales pesados	se refiere a aquellos metales de la tabla periódica cuyo peso específico es superior a $5 \text{ g/cm}^3$
Metaloides	Que posee propiedades intermedias entre los metales y los no metales.

Mutagénico	Producción de mutaciones sobre ADN.
Micronúcleos	Fragmentos cromosómicos que no son incorporados al núcleo durante la división celular.
Teratogénico	Agentes físicos o químicos que alteran la composición cromosómica dando como resultado malformaciones congénitas.
Toxicinética	Estudio de la velocidad de cambio de las especies tóxicas dentro de un ser vivo.

## **II. LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS Y SÍMBOLOS**

<b>ABREVIATURA</b>	<b>DEFINICIÓN</b>
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
As	Arsénico
Mn	Manganeso
Pb	Plomo
°C	Grados célsius
CV	Coefficiente de variación
Eh	Potencial Redox
µg/kg	Microgramos por kilogramo
µg//L	Microgramos por litro
mg/kg	Miligramos por kilogramo
mg/L	Miligramos por litro
mm	Milímetros
MNs	Micronúcleos
mS/cm	MiliSiemens por centímetro
mV	Mili Volts
ng	Nanogramos
pH	Potencial de hidrógeno
40 X	Aumento óptico a 40 aumentos

### **III. RESUMEN**

En este estudio se comparó la presencia de As en suelos y agua de tres sitios (Salitre en Zimapán, estado de Hidalgo., Bella Vista del Río, estado de Querétaro y el municipio de Querétaro, del mismo estado) la bioacumulación en (raíz, tallo, hoja, vaina y grano) del garbanzo (*Cicer arietinum*) y los efectos genotóxicos de los lixiviados de los suelos en tres bioensayos *Tradescantia* (Trad-MCN, micronúcleos en tétradas), Trad-MSPE, mutaciones en pelos estaminales) y micronúcleos en células de la raíz de garbanzo (Cicer-MCN).

Se efectuaron seis experimentos en cinco réplicas. Los resultados demostraron que los suelos se clasifican como neutros a moderadamente alcalinos, con efectos despreciables de salinidad y reductores intermedios. Los potenciales zeta mostraron que son suelos con suspensiones coloidales moderadamente estables. Por los porcentaje de humedad, resultaron de moderados a altos, y las texturas, de arcillosos a arenosos. Se analizó además, densidad aparente, capacidad de campo, agregados estables y capacidad de intercambio catiónico, y demostraron ser significativamente diferentes los tres suelos excepto en el caso de la velocidad de infiltración y el espesor del horizonte A, en los suelos de Bella Vista y Querétaro que resultaron ser semejantes; sin embargo, para los tres suelos se encontraron bajos contenidos de materia orgánica. El carbono y nitrógeno, son significativamente diferentes para los suelos estudiados.

Para las concentraciones de arsénico expresadas en  $\mu\text{g}/\text{Kg}^{-1}$ , se encontró el siguiente orden: suelo de Querétaro (12.67), Bella Vista, Querétaro. (73.25) y El Salitre, Zimapán, Hidalgo (726.71). El agua de riego presentó respectivamente 2.54, 45.4 y 68.14  $\mu\text{g}/\text{L}^{-1}$  de As.

Los resultados mostraron que el garbanzo bioacumula en sus diferentes órganos As en el siguiente orden raíz > hoja > tallo > grano > vaina en los cinco grupos experimentales, en el grupo control negativo no fue significativa la concentración del metaloide como se esperaba. Los lixiviados de los seis experimentos indujeron



daño genotóxico en los diferentes bioensayos utilizados. (Trad-MCN) los porcentajes de micronucleos más altos fue para los suelos de El Salitre (SZ/AZ) y el testigo positivo (SQ/AQC\*) Mientras que la prueba (Trad-MSPE), también demostró respuesta a los diferentes lixiviados de los suelos con un promedio de  $3.8 \pm 1.0$  a  $1.4 \pm 0.9$  mutaciones/1000 pelos estaminales comparado con el grupo testigo  $0.8 \pm 0.6$  a  $1.0 \pm 0.05$   $p < 0.05$  (Tukey). Por primera vez se aplicó la prueba de micronúcleos en raíz de garbanzo. Los valores presentaron una correlación de  $R^2 = 0.951$  con un valor de  $3.23 \pm 0.15$  micronúcleos/1000 células, y diferencia significativa  $p < 0.05$  con respecto al grupo control,  $0.63 \pm 0.06$  suelo de Querétaro regado con agua de Querétaro (SQ/AQ).

#### **IV. ABSTRACT**

In this study the levels of Arsenic (As) in soils and water from three different sites (Salitre in Zimapan, State of Hidalgo, Bella Vista del Rio, State of Querétaro, and the municipality of Querétaro, State of Querétaro) were compared; its bioaccumulation in Chickpea (*Cicer arietinum*) crops in root, stem, leaf, pod and grain. In addition the genotoxic effects of leachates were studied using three different bioassays, Tradescantia (Trad-MCN, micronuclei in tetrads), Trad-MSPE (Mutations in Stamen hairs) and micronuclei root cells of chickpea (Cicer-MCN).

Six experiments were carried out with five replicates each one. The results showed that soils could be classified as neutral to moderately alkaline, with negligible effect of salinity and intermediate gearboxes. The zeta potential showed that the analyzed soils are moderately stable colloidal suspensions. The moisture percentage, were from moderate to high, and textures, from clay to sandy. Bulk density, field capacity, stable aggregates, cation exchange capacity, carbon and nitrogen content, were also analyzed, and it could be concluded that the three soils are significantly different. However, infiltration rate and thickness of the horizon for Bella Vista and Querétaro soils were found to be similar. Low organic matter content was found for the three soils.

Arsenic concentrations (in  $\mu\text{g/Kg}$ ) were found in the three soils as follows: Querétaro (12.67), Bella Vista (73.25) and El Salitre (726.21), and in the case of irrigation water 2.54, 45.4 and 68.14  $\mu\text{g/L}$  of As respectively.

The results showed that chickpea bioaccumulate Arsenic in different organs in the following order root > leaf > stem > grain > pod, in the case of the negative control group, Arsenic concentration was not significant as expected. The leachate from six experiments induced genotoxic damage in the different bioassays used. In the case of (Trad-MCN) micronuclei rates were higher for El Salitre soil (SZ/AZ) and for the positive control (SQ/AQC), while the test (Trad-MSPE), also showed different response to soils leachate, an average of  $3.8 \pm 1.0$  to  $1.4 \pm 0.9$  mutations/1000 Stamen hairs compared to control group  $0.8 \pm 0.6$  to  $1.0 \pm 0.05$   $p < 0.05$  (Tukey). For the first time was applied the micronuclei test in chickpea roots.

The values showed a determination coefficient of  $R^2 = 0.951$  with a value of  $3.23 \pm 0.15$  micronuclei/1000 cells, and significant difference at  $p < 0.05$  compared to the control group  $0.63 \pm 0.06$ , Querétaro soil irrigated with water from Querétaro (SQ / AQ).

## V. INTRODUCCIÓN

La contaminación de suelos, aire y agua se genera, principalmente por las actividades antropogénicas, siendo la contaminación del agua en los mantos freáticos uno de los principales problemas a que se enfrenta la humanidad, debido a escurrimientos y filtraciones al subsuelo de las precipitaciones pluviales naturales que arrastran contaminantes solubles de la atmósfera y los suelos, así como de las aguas residuales industriales con destinos finales de los ríos y cuencas hidrológicas (Viessman and Hammer, 1993). Esto ocasiona el deterioro en los sistemas y cuencas hidrogeológicas.

La acumulación de los metales pesados y metaloides en sedimentos y tejidos vegetales, bien sea por adsorción y/o coprecipitación u otras formas de asociación natural a éstos incluida la bioacumulación, constituyen un modo de minimizar su transporte y propagación (Prieto *et al.* 2005). No obstante, esto puede acarrear a la larga consecuencias negativas para el entorno ecobiológico, ya que variaciones del medio circundante a los sólidos y sedimentos pueden producir la lixiviación de cantidades significativamente elevadas al estado disuelto y con ello accesibles a los sistemas acuosos y seres vivos (Federova *et al.* 2007). Por otra parte su acumulación en tejidos vegetales, pueden llegar a producir daños genotóxicos en sus células y de esta forma, se incorporan al hombre por la cadena alimentaria.

Por todo esto, no sólo resulta de interés el conocimiento de los niveles de concentración total de los elementos metálicos que se encuentren acumulados en suelos, sino además, aquellas concentraciones bioacumuladas en tejidos vegetales de alta sensibilidad, que provocan daños genotóxicos en sus células y su incorporación en seres humanos y animales, como productos de consumo. En resumen podemos decir que la toxicidad o actividad biológica de un elemento en particular, y en este estudio específicamente, centrando la atención en el Arsénico (As), sus mecanismos de transporte y propagación, su movilidad o capacidad reaccionante, puede variar drásticamente dependiendo de la forma química concreta en que se encuentre y las concentraciones permisibles.

## **VI. ANTECEDENTES**

### **VI.1 La minería en México**

La minería en México tiene gran importancia histórica, porque ha sido una fuente importante en el desarrollo social, político, económico y religioso. Nuestro país tiene enormes riquezas de recursos naturales y entre ellos están los metales preciosos como el oro y la plata. La minería se remonta desde nuestros antepasados indígenas (López 2009). Poco se sabe acerca de las técnicas de explotación que utilizaban nuestros antepasados indígenas, ya que solo contaban con herramientas de piedra, de vegetales y el esfuerzo físico para realizar las actividades mineras. No conocían el hierro, sin embargo, recuperaban metales de las minas. Algunos historiadores mencionan que los aztecas en la época de Moctezuma recibían tributo en minerales de 18 provincias (Acura 1986). En estas se encontraban las minas del Cerro del Águila en Guerrero donde se explotaba el cobre, el Cerro de Navajas para la explotación de obsidiana, en San Joaquín, en el Fuerte de Ranas en el estado de Querétaro para el mercurio y en Taxco Guerrero, el estaño. El conocimiento de los indígenas acerca de las minas era tal que guiaban a los conquistadores hasta los lugares de riqueza mineral (Vargas, 1949).

A través de los años, México ocupó un lugar importante en la producción de metales preciosos, principalmente en plata, ya que tenía la mayor cantidad de minas de plata en la época de la colonia. La plata era muy demandada en Europa y casi toda era aportada por la corona española que le llegaba de la explotación en México (Panczer 1987). El oro solo se le consideraba acompañante de la plata, llamados metales preciosos actualmente, siempre estaban acompañados de impurezas de otros metales como plomo, cobre y zinc; esta situación fue un reto para el hombre encontrar mejores procesos físicos y químicos para obtener metales más puros, entre los cuales están la fundición, la amalgamación con mercurio, después la lixiviación con ácido clorhídrico e hiposulfito de sodio, cianuración y por último la flotación química. Es importante resaltar el hecho de que la minería es una medida del progreso de la humanidad y México no fue la excepción, ha tenido grandes riquezas minerales las cuales han sido explotadas para crear riqueza, poderes políticos, sociales y religiosos. Estos poderes han

tenido transiciones a través de los años y han pasado de unas manos a otras, incluyendo capitales extranjeros. Actualmente, se siguen explotando y las ganancias son afectadas por el control de precios de los mercados internacionales que se mueven acorde a los beneficios particulares de algunos cuantos. México actualmente tiene yacimientos mineros en 32 entidades federativas con explotación principal de 10 minerales (oro, plata, plomo, cobre, zinc, fierro, coque, azufre, barita y fluorita) y se encuentra posicionado a nivel nacional e internacional (Cuadro 1)

**Cuadro 1. Producción de algunos metales en México**

Metal	Estado	Volumen	Lugar en México	México en el Mundo
Oro	Durango	8567 Kg	1°	9°
	Sonora	5895 Kg	2°	
	Querétaro	1363 Kg	3°	
Plata	Zacatecas	1345130 Kg	1°	3°
	Durango	411 568 Kg	2°	
	Chihuahua	264 440 Kg	3°	
Cobre	Sonora	349 227 Ton	1°	11°
	Zacatecas	24 944 Ton	2°	
	San Luis Potosí	18 072 Ton	3°	
Plomo	Zacatecas	51 904 Ton	1°	5°
	Chihuahua	43 379 Ton	2°	
	Durango	8 590 Ton	3°	

Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2004 (INEGI).

## VI.2 Contaminación por residuos mineros.

La actividad antropogénica en la industria minera promueve diferentes alteraciones en la superficie de la tierra así como en el agua y aire. Estas

alteraciones inician desde el movimiento de tierras en la corteza terrestre, las cuales pueden ser superficiales o subterráneas. Residuos que son generados en el proceso de extracción de los minerales a los cuales se le han agregado compuestos químicos se les llaman jales, los cuales inundan grandes áreas de terreno a cielo abierto. Los jales, suelen estar contaminados con metales pesados, cianuros y ácidos, los cuales cambian los parámetros naturales del suelo y el agua. Los residuos o desperdicios de los procesos de la minería generalmente llegan a ríos y cuencas los cuales contaminan a los suelos, flora y fauna.

En la actualidad los residuos mineros representan un problema y a través del tiempo se han acumulado en diferentes lugares del mundo y aún continúan contaminando el medio ambiente. Algunos autores consideran las actividades mineras como la número uno en contaminación ambiental a nivel mundial (López 2009). Algunos países desarrollados han iniciado la recuperación de aquellos sitios contaminados por la industria minera y que no son habitables(. Estos sitios superan la normatividad existente para Europa y Estados Unidos de América de 400ppm para áreas de juego (EPA, 2001). En algunos países de Europa y Estados Unidos han empezado a recuperar sitios contaminados, o que actualmente han llegado a niveles críticos de contaminación por metales pesados; se están utilizando diferentes métodos fisicoquímicos para la remediación de estos sitios.

### **VI.3 Contaminación por metales pesados**

Los metales pesados son conocidos con este nombre por su alta densidad son: mercurio con  $13.1 \text{ g/cm}^3$ , talio  $11.85 \text{ g/cm}^3$ , plomo  $11.3 \text{ g/cm}^3$ , cadmio  $5.7 \text{ g/cm}^3$ , arsénico  $2.7 \text{ g/cm}^3$ , Aluminio  $2.70 \text{ g/cm}^3$  y berilio  $1,85 \text{ g/cm}^3$  (Chang 2007) Son considerados tóxicos para el hombre y también presentan un problema serio al ecosistema, ya que algunos de sus compuestos son solubles en agua o bien son depositados en suelos. Estos metales pesados normalmente se encuentran en la naturaleza en la corteza terrestre en forma de sales. Cuando estas concentraciones son modificadas por actividades antropogénicas, las

concentraciones se modifican y empiezan a generar un desequilibrio ecológico en el agua, suelo y aire. (ATSDR, 2007)

Algunos metales pesados ( $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$  y  $\text{Pb}^{+2}$ ) tienen una relación carga/masa baja y se les considera ácidos de Lewis blandos que se unen a bases blandas que actúan sobre bases de cisteína en las proteínas con radicales  $\text{RS}^-$  estableciendo de esta manera su toxicidad en los seres vivos. También dependiendo de las condiciones óptimas de acidez o basicidad, sustituyen a otros cationes tales como el zinc en algunas proteínas, el calcio en los huesos y en actividades celulares donde hay intercambio iónico en las membranas de las células, inhibiendo el metabolismo y funciones normales a nivel celular. El arsénico es uno de los elementos más tóxicos conocidos, niveles altos de Arsénico pueden causar la muerte (ATSDR, 2007).

#### **VI.4 Arsénico en el ambiente**

El As puede ser encontrado de forma natural en el suelo en pequeñas concentraciones. Esto ocurre en el suelo y minerales y puede entrar en el aire, agua y tierra a través de las tormentas de polvo y las aguas de escorrentía.

El As es un componente que es extremadamente duro de convertir en producto soluble en agua o volátil. En realidad el Arsénico es naturalmente específicamente un compuesto móvil, básicamente significa que grandes concentraciones no aparecen probablemente en un sitio específico. Esto es una buena cosa, pero el punto negativo es que la contaminación por Arsénico llega a ser un tema amplio debido al fácil esparcimiento de este (Lalwani *et al.* 2006). El Arsénico no se puede movilizar fácilmente cuando este es inmóvil. Debido a las actividades humanas, mayormente a través de la minería y las fundiciones, naturalmente el Arsénico inmóvil se ha movilizó también y puede ahora ser encontrado en muchos lugares donde ellos no existían de forma natural.

El ciclo del Arsénico ha sido ampliado como consecuencia de la interferencia humana y debido a esto, grandes cantidades de Arsénico terminan en el Ambiente y en organismos vivos. El Arsénico es mayoritariamente emitido por las industrias



productoras de cobre, pero también durante la producción de plomo y zinc y en la agricultura (Sparks 1995)

Este no puede ser destruido una vez que este ha entrado en el Ambiente, así que las cantidades que hemos añadido pueden esparcirse y causar efectos sobre la salud de los humanos y los animales en muchas localizaciones sobre la tierra.

Las plantas absorben Arsénico bastante fácil, así que alto rango de concentraciones pueden estar presentes en la comida (Mandal y Zuzuki 2002.)

Las concentraciones del peligroso Arsénico inorgánico que está actualmente presente en las aguas superficiales aumentan las posibilidades de alterar el material genético de los peces. Esto es mayormente causado por la acumulación de Arsénico en los organismos de las aguas dulces consumidores de plantas. Las aves comen peces que contienen eminentes cantidades de Arsénico y morirán como resultado del envenenamiento por As como consecuencia de la descomposición de los peces en sus cuerpos (Thomas *et al.* 2001). Sin embargo, en el ambiente el arsénico generalmente se encuentra combinado con otros elementos como por ejemplo oxígeno, cloro y azufre. El arsénico combinado con estos elementos se conoce como arsénico inorgánico. El arsénico combinado con carbono e hidrógeno se conoce como arsénico orgánico. La inmovilización de arsénico en el ambiente se produce a través de la precipitación de sales de baja solubilidad y adsorción en los suelos y sedimentos. Procesos de remediación seguirán los mismos principios, y la técnicas más comunes se basan en fenómenos de precipitación y adsorción (Lalwani *et al.* 2006). El objetivo de este trabajo es mostrar que la purificación del agua y técnicas de tratamiento de residuos basado en (1) la precipitación de calcio, magnesio, y arseniatos de hierro (III), y / o adsorción (2) o la coprecipitación de oxianiones de arsénico es poco probable que produzca soluciones acuosas con concentraciones de arsénico por debajo de los valores guía propuesto para el arsénico disuelto en agua potable y efluentes residuales tratadas. Arseniatos de plomo se presentan como un ejemplo de menos de metal soluble en arseniatos que el plomo y el control en las concentraciones de arseniato sistemas acuáticos naturales y se puede utilizar para técnicas de remediación bajo ciertas condiciones.

## VI.5. Problemática de los distintos sitios de estudio

### VI.5.1. El Salitre, Zimapán Hidalgo.

La ciudad de Zimapán Hidalgo, se encuentra ubicada dentro del distrito minero del mismo nombre, y pertenece a la región hidrológica RH-26 del Pánuco, parte Norte de la Cuenca del Valle de México, y pertenece a la Sub-cuenca del Río Moctezuma (figura 1). Los contenidos de As natural resultan evidentes, debido a la presencia de minerales arsenicales: arsenopirita,  $\text{FeAsS}$  ó  $\text{FeS}_2\cdot\text{FeAs}_2$  (Cardenas, 1992); Rejalgar,  $\text{As}_2\text{S}_2$ ; Oropimento,  $\text{As}_2\text{S}_3$ ; Loellingita,  $\text{FeAs}_2$  y Tennantita,  $\text{Cu}_{12}\text{As}_4\text{S}_{13}$  entre otros (Nuñez, 1999; Burriel *et al.* 1994). Así también, las actividades mineras para la extracción de Pb, Zn, Cu, Fe, Ag y Au de los recursos minerales de la zona (Armienta et al, 1995; Corey y Galvão, 1989) pueden traer como consecuencia un incremento en el contenido de As en las aguas de los pozos, norias y manantiales de la región, rebasando los límites máximos permitidos por la Normativa Oficial Mexicana (NOM-127-SSA1-1994), por lo que la población que actualmente se estima es cercana a los 42,000 habitantes (Vargas, 1994), estén afectadas y/o habituadas a éste elemento. En el cuadro 2, se muestran los intervalos de concentración de As en áreas que son consideradas como naturales y/o contaminadas, datos tomados que se admiten como criterio generalizado (Galvão y Corey, 1987a y b; Corey y Galvão, 1989). Es de señalar que en tejidos vegetales, no es permisible la presencia de As.

**Cuadro 2. Intervalos de concentraciones de As en áreas consideradas como naturales y contaminadas (Según datos de Galvão y Corey, 1987a y b; Corey y Galvão, 1989).**

Compartimento Ambiental	(+)As	(*)As
	Áreas Naturales	Áreas Contaminadas
Suelos (mg/Kg)	2.0	40
Aguas oceánicas (mg/l)	0.001-0.008	-
Ríos (mg/l)	0.01-1.0	0.21-12.6
Aire $\square$ g/m <sup>3</sup>	0.01-1.6	-

En el cuadro 3 se presentan las concentraciones máximas permisibles para As en agua potable, emitidas a nivel mundial por la Norma Oficial Mexicana (NOM, 1994), Organización Mundial de la Salud (Galvão y Corey, 1987a y b; Corey y Galvão, 1989), National Primary Drinking Water Regulation (NPDWR) de Estados Unidos de América (Batsheba, 1996) y la Ley 29/1985 emitida en el Boletín Oficial del Estado (BOE-1985) en España entre otras. Se aprecia que en todos los documentos Normativos coinciden los niveles máximos permisibles.

**Cuadro 3. Concentraciones límites permisibles para As, en aguas potables en ( $mg/L^{-1}$ ), según Normas Nacionales e Internacionales.**

País/Organización	[As] mg L-1
OMS	0.010 (Galvão y Corey, 1987a WHO 2004)
REUA	0.010 (USEPA 2001)
NPDW	0.010 (Bateshba 1996)
Unión Europea	0.010 (BOE 1985, 1989)
Chile	0.050 (Diario Oficial de la República de Chile 1984)
India	0.010 (Mohan y Pittman 2007)
México	0.01* (SSA 1994)

\* Norma Oficial Mexicana, NOM-127-SSA1-1994

Además, la Organización Mundial de la Salud ha realizado investigaciones de la calidad de las aguas potables y llegado a la conclusión de que 1/10,000 habitantes tiene riesgo de adquirir cáncer de piel debido a la ingestión diaria de agua con concentraciones de 0.002 mg/l de arsénico (Batsheba 1996). Por consiguiente, los límites máximos permisibles de arsénico para el agua destinada al consumo humano en España, por ejemplo, se han reducido a valores de 0.010 mg/l (BOE, 1989), mientras que en México se establecieron en valores de 0.02 mg/l, hasta el año 2006 (PROY-NOM-127-SSA-1994, revisión de normativa, Diciembre, 2000), considerándose una disminución progresiva hasta llegar en el año 2006 a 0.01 mg/l. También, datos reportados por la Comisión Nacional de Aguas (CNA, 1992-1998) en el cuadro 4, se indica que la concentración de As en

el distribuidor general de aguas de pozo de Zimapán y en los pozos II, Muhi (IV), V y Detzani, están fuera de los límites permisibles que establece la Normativa Oficial Mexicana en varias de las fechas señaladas; consecuentemente una gran parte de la población ingiere agua contaminada con As (Periódico el Universal 2010).

**Cuadro 4. Análisis de As en las aguas del Distribuidor General (D. Gen), (muhi), Detzani y del pozo VI en Zimapán, Hidalgo realizados por la CNA, desde 1992 -1998.**

<b>Año-mes</b>	<b>D. Gen.</b>	<b>Muhi</b>	<b>Detzani</b>	<b>Pozo VI</b>
Abr-92	0.5	1.4	1.3	SD
Mar-93	0.03	1.6	0.8	SD
Mar-96	SD	0.2	0.8	SD
Abr-96	SD	SD	0.5	0.001
Jul-96	0.6	SD	SD	0.001
Ago-96	0.4	SD	SD	0.0007
Dic-96	0.2	0.005	0.002	0.0007
Ene-97	0.1	0.003	0.002	0.0007
Mar-97	SD	SD	SD	0.001
Jun-97	0.4	SD	0.7	SD
May-98	0.6	SD	SD	0.006

SD: Sin Datos reportados

La toxicidad por metales es consecuencia de su no biodegradabilidad, lo que ocasiona que se acumulen en los distintos puntos del ciclo ecobiológico y en los sistemas hidrogeológicos (Ferguson, 1990; Vegas, 1997). Compuestos arsenicales, producen trastornos hepáticos, neurológicos, hematológicos, cardiacos y hasta la muerte (Galvão y Corey, 1989; Berman, 1980; Prieto, 1997). Éstos son considerados venenos de carácter protoplasmático, actuando principalmente por inhibición de los sistemas enzimáticos; personas intoxicadas de forma “crónica” pueden presentar diferentes síntomas: anorexia, diarreas,

naúceas, problemas en el sistema nervioso y cutáneos (Berman, 1980; Uede y Furukawa 2003).

El transporte y movilidad de los iones metálicos que se puede producir a través del manto freático (Viessman and Hammer, 1993), trae como consecuencia el incremento de las concentraciones de éstos en las aguas subterráneas, sobre todo de aquellos elementos metálicos que son considerados como tóxicos o peligrosos y muestran carácter acumulativo (Jomova *et al.* 2011) provocando una contaminación natural y/o debida a las actividades humanas.

Se conoce que los suelos y sedimentos constituyen reservorios capaces de concentrar elementos traza del ambiente, esto es debido a que la mayoría de los suelos naturales están caracterizados por sus condiciones oxidantes, cuyos sedimentos no contaminados están usualmente depositados bajo condiciones deficientes de oxígeno, y en el ambiente se muestran condiciones reductoras como una consecuencia de las actividades antropogénicas (Magalhaes 2002). Esto hace que la composición de los suelos y sedimentos se modifiquen reflejando el origen natural de las rocas, el grado de degradación y lixiviación de los mismos como consecuencia de los ciclos climáticos e influencia externa (Das *et al.* 1995; Hirner, 1992); con ello de manera fácil, lixivian los elementos metálicos al medio acuoso y los cultivos que en estos suelos se siembran, se afectan por acumulación-bioacumulación de los mismos. Resulta de interés conocer los niveles de concentración total de los elementos metálicos que se encuentran disueltos en las aguas, así como también en los suelos y cultivos.

Estudios fisicoquímicos realizados en las aguas de los pozos y del distribuidor general de la ciudad de Zimapán (Pérez *et al.*, 2003), nos muestran, que las aguas en la mayoría de los pozos se encuentran contaminadas con niveles de concentraciones de As que se consideran excedidas de los límites permisibles establecidos para las aguas potables. También se resume que estas aguas, son clasificadas como *cálcicas-magnésicas bicarbonatadas*, típicamente de "pozos y/o manantiales", con todos sus parámetros de calidad dentro de las normas de especificaciones de la NOM-127-1994, y de otras normas

internacionales, con la sola excepción de los niveles de concentraciones de As fundamentalmente. Este último hecho, nos permite considerarlas como “*No aptas para consumo humano*” por lo que urge una atención inmediata.

### **VI.5.2. Querétaro, Qro**

Querétaro pertenece a dos grandes cuencas hidrológicas: la cuenca del Pánuco, que desemboca en el Golfo de México y que irriga la parte oriental, y la cuenca Lerma-Santiago que fluye al lago de Chapala y posteriormente al Océano Pacífico colinda al este con el estado de Hidalgo. Su clima es seco en la mayor parte del estado, Las temperaturas y precipitaciones promedio son 18.8 °C / 549 mm. (Anuario estadístico de Querétaro 2013). El Valle de Querétaro está localizado en la parte centro-norte de la Faja Volcánica Transmexicana, a una altura 1800 m sobre el nivel del mar. El valle se encuentra delimitado por dos sistemas de fallas normales con dirección norte–sur y este–oeste, que producen una estructura en forma de graben que contiene relleno volcánico–sedimentario compuesto por arcilla, limo y arena fina que se presenta en espesores variables de hasta 50 m (Carreón–Freyre *et al.*, 2005). Actualmente la mayor parte de los cultivos son de riego aunque no se descartan los de tipo temporal. A los alrededores no existen asentamientos mineros.

### **VI.5.3. Bella Vista del Río, Querétaro.**

Región denominada “El Infiernillo” donde confluyen los ríos Tula y San Juan que forman parte del río Moctezuma-Pánuco- y pertenece a la Sub-cuenca del Río Moctezuma, también conocida como región hidrológica RH-26. Los climas que se presentan en el municipio son el seco; los que de acuerdo al grado de humedad y temperatura, son de dos tipos: el semicálido y semiseco que se caracterizan por un invierno seco, temperatura media anual de 16.7 grados centígrados y máxima de 38 grados centígrados. La altitud de la ciudad de Cadereyta es de 2 070 msnm. Ahí se presentan vientos durante febrero y marzo, con una precipitación pluvial de 480 mm y una mala distribución durante la temporada de lluvias (INEGI 2009).

Uno de los recursos naturales que se explota desde hace muchos años es el mercurio, plata y oro en las minas que se encuentran en este municipio. Esta actividad propicia la extracción de jales mineros con grandes cantidades de metales pesados y metaloides entre estos el Arsénico, además la presencia de este metaloide en el suelo que es muy similar por su cercanía al municipio de el Salitre en Zimapá, Hgo. Lo más preocupante es que no hay datos reportados para esta zona.

#### **VI.5.3.1 Características y Uso del Suelo**

De acuerdo al Anuario Estadístico del Estado de Querétaro (2010), existen en el municipio de Cadereyta 94 212 hectáreas de uso pecuario, 5 725 hectáreas de uso forestal, 9 770 hectáreas de uso agrícola y 3 393 hectáreas de otros usos. La actividad agrícola es eminentemente de temporal. Las condiciones ecológicas semiáridas, prevalecientes en la mayor parte del municipio, hacen imposible el desarrollo intensivo de esta actividad. Se siembra básicamente: maíz, frijol, sorgo, alverjón, haba y garbanzo. Hasta el momento no se han realizado análisis de la presencia de arsénico en la zona por la Comisión Estatal de Aguas del Estado de Querétaro(2010) por lo que es necesario tener conocimiento ya que esta zona es conocida por su gran actividad minera, además se está construyendo un proyecto para llevar agua a diferentes municipios del estado, por lo que es de interés estudiar esta zona, figura 1



**Figura 1. Localización de los dos puntos de muestreo**

### **VI.5.2.2 Características del Garbanzo (*Cicer arietinum*)**

El garbanzo (*Cicer arietinum*) pertenece a la familia *Fabaceae* siendo una planta anual diploide, con un número cromosómico de  $2n=16$ . La planta puede alcanzar una altura de 60 cm.

### **VI.5.2.3 Origen**

El origen del cultivo del garbanzo se localiza en el Suroeste de Turquía. Desde allí se extendió muy pronto hacia Europa (especialmente por la región mediterránea) y más tarde a África (fundamentalmente Etiopía), América (especialmente México, Argentina y Chile) y Australia. Se ha comprobado la existencia de 40 especies de



garbanzos extendiéndose desde Oriente Medio, Turquía, Israel y Asia Central ([www.fao.org](http://www.fao.org)).

#### VI.5.2.4 Importancia económica y distribución geográfica.

De los poco más de 10 millones de hectáreas que se siembran de garbanzos en el mundo, aproximadamente 7 millones se cultivan en la India, seguido de Pakistán y Turquía. En Latinoamérica la mayoría del cultivo se produce en México. En Europa los principales productores son España, Italia y Portugal (Cuadro 5).

**Cuadro 5. Principales productores de garbanzo a nivel mundial**

Países	Producción anual 2001 (millones de toneladas)
India	3.870.000
Turquía	540.000
Pakistán	387.100
México	200.000
Irán	158.000
Etiopía	135.000
España	50.300
Italia	15.315
Portugal	12.148

Infoaserca 2001; Islam y Ali (2009)

#### VI.5.2.5. Características botánicas

**Raíces:** tiene raíces profundas y tallos ramificados y pelosos, con numerosas glándulas excretoras.

**Tallo:** el tallo principal es redondeado y las ramas son cuadrangulares y nerviadas.

**Hojas:** las hojas pueden ser paripinnadas o imparipinnadas. Los folíolos tienen el borde dentado.

**Flores:** son axilares y solitarias normalmente.

**Frutos:** los frutos son en vaina bivalva con una o dos semillas en su interior que suelen ser algo arrugadas. La planta tiene dos cotiledones grandes.

#### **VI.5.2.6. Exigencias edafo-climáticas**

Es una planta resistente a la sequía. Aunque la semilla del garbanzo crece con la humedad acumulada en el suelo de la lluvia caía previamente, el grano responde positivamente a un riego suplementario. El riego en general mejora la nodulación e incrementa el rendimiento y el número de vainas. A partir de 10°C el garbanzo es capaz de germinar, aunque la temperatura óptima de germinación oscila entre 25-35°C. Si las temperaturas son más bajas se incrementa el tiempo de la germinación. Con respecto a los suelos, prefiere las tierras silíceo-arcillosas o limo-arcillosas que no contengan yeso. Cuando hay un exceso de arcilla suele producir una lesión en la piel de la semilla. Cuando el terreno es yesoso el garbanzo obtenido es de mala calidad en general y muy malo para cocer. Si la tierra tiene materia orgánica sin descomponer también le perjudicará. Los años buenos para el garbanzo suelen coincidir cuando ha sido un año poco lluvioso, sobre todo en primavera. Prefieren los suelos labrados en profundidad, pues su sistema radicular está muy bien desarrollado y es muy resistente a la sequía. Conviene no repetir su cultivo sobre el terreno por lo menos hasta que pasen cuatro años. Se prefieren terrenos orientados al mediodía o poniente y se deben evitar los lugares donde se acumula la humedad. El garbanzo es sensible a la salinidad, tanto del suelo como del agua de riego. Los suelos cuanto más aireados mejor. El PH ideal está entre 6 y 9, aunque parece ser que cuanto más ácido sea el suelo mayores problemas de Fusarium pueden aparecer.

#### **VI.5.2.7. Siembra.**

En México se suele sembrar a final de noviembre y principios de diciembre. En Asia y otros lugares se suele sembrar durante el mes de octubre. Un retraso en la época de siembra puede dar lugar a una reducción del crecimiento y desarrollo de la planta afectando a la floración y como consecuencia una reducción de la

cosecha. La densidad de siembra depende de las condiciones ambientales y el tipo de planta, normalmente se suele emplear 33 plantas/m<sup>2</sup>, aunque si la planta se localiza en un clima desfavorable y varía la disponibilidad de humedad en el suelo, su crecimiento se verá afectado (Muhammad & Safdar 2009). En sistemas de regadío la densidad de siembra puede llegar hasta 50 plantas/m<sup>2</sup>.

#### **VI.5.2.8 Variedades.**

Existen 3 tipos de garbanzos, que corresponden fundamentalmente a diferencias en el tamaño, forma y coloración de las semillas:

- Tipo “KABULI”: tamaño del garbanzo medio a grande, redondeados y arrugados, color claro y flores no pigmentadas. Su cultivo se localiza en la región mediterránea, América Central y América del Sur.
- Tipo “DESI”: grano de tamaño pequeño, formas angulares y color amarillo o negro. Las flores y los tallos son, generalmente, pigmentados, y en algunas ocasiones también las hojas. Se cultivan principalmente en la India.
- Tipo “GULABI”: grano de medio a pequeño tamaño, liso, redondeado y de color claro.

#### **VI.6. Monitoreo biológico para determinar el efecto genotóxico del arsénico (As)**

En las últimas tres décadas se ha desarrollado un gran número de bioensayos de corto plazo que evalúan el potencial genotóxico de los químicos ambientales. En estos ensayos se emplea un gran número de organismos, desde virus hasta animales de laboratorio. De entre varios sistemas de prueba, las plantas superiores ofrecen muchas ventajas para la evaluación de la posible acción mutagénica de químicos ambientales y para monitorear riesgos a la salud en sitios incontrolados de disposición de desechos (Gill *et al* 1995).

En resultados obtenidos por Gill *et al* (1995) (Majer *et al.* 2005) nos indican que los ensayos con plantas, no requieren de material y equipo de laboratorio muy sofisticadas, son tan efectivos y sensibles como los ensayos con mamíferos para

detectar daño cromosómico potencial como resultado de la exposición a sustancias químicas peligrosas que representan una amenaza para la salud de los humanos. En este estudio se emplearán vegetales sensores de daño genético. De los sistemas vegetales más utilizados se encuentran *Tradescantia* con las pruebas de inducción de micronúcleos en las tétradas (Trad-MCN) y el ensayo de producción de mutaciones somáticas en los pelos estaminales (Trad-MSPE). *Tradescantia* es una planta altamente sensible lo cual permite someterla a diferentes formas de tratamiento (Rico 2006), si las muestras son líquidas o solubles, el tratamiento es por vía tallo, en agentes físicos o vapores se utilizan cámaras especiales para exponer a la planta, también es posible monitorear *in situ* cuando se desea muestrear agentes contaminantes presentes en la atmósfera (Ma, *et al.* 1978, 1982<sup>a</sup>, 1982<sup>b</sup>) (Majer *et al.* 2005). Mediante la colecta de diferentes muestras de agua de un lago en Springfield, EE.UU. en un período comprendido entre 1980 y 1981, se determinó que el agua estaba contaminada con algún mutágeno por causar daños a nivel genético en la prueba de Trad-MCN (Ma *et al.* 1985) (Knasmüller *et al.* 1998)

Con el sistema de prueba Trad-MCN se logró evaluar muestras de agua en la zona de San Luis Potosí, México. concluyendo así, que existen uno o varios agentes con actividad mutagénica (Ruiz *et al.* 1992). También se tienen datos de la clastogenicidad ocasionada por aguas residuales en un canal de la ciudad de Querétaro, México demostrando así que es un sistema rápido y eficaz (Ruiz *et al.* 1992). Los micronúcleos (MNs) son fragmentos cromosómicos o cromosomas completos que no son incorporados en el núcleo hijo durante la división celular; apareciendo en la célula hija como pequeños núcleos secundarios, debido a un rompimiento cromosómico y a la no-disyunción de los cromosomas por interferencia o mal funcionamiento del huso mitótico (Evans *et al.* 1959; Matter y Ledebur y Schmid 1973; Yakamoto y Kikuchi, 1980, Foltête *et al.* 2011) (Solenska *et al.* 2006) y que pueden resultar de la exposición a agentes ambientales (Vine, 1990). Neuman, en 1869, observó la presencia de pequeñas estructuras que se teñían de igual forma que el núcleo en eritrocitos de médula ósea. Más tarde, en un intento por explicar el origen de estas estructuras, Howell estableció que eran

fragmentos de material nuclear según Jolly (1905) y los describió como restos nucleares. Thoday (1951) fue quien por primera vez empleó el término de “micronúcleos”. (Guzmán 1997). Neuman (1869), Howell (1891) y Jolly (1907) asumieron que los micronúcleos se originan a partir del núcleo celular, sin embargo aún existen dudas respecto al mecanismo o mecanismos por los cuales se generan. En 1948, Discombe observó que los cromosomas que se rezagaban durante la telofase aparecían en las células como cuerpos de Howell-Jolly (término utilizado por los hematólogos para los MNs) estableciéndose así una evidencia indirecta de que los MNs se derivaban de material nuclear, durante la división celular (Zalacain *et al.* 2005) Investigaciones posteriores permitieron establecer que la mayoría de los MNs se originaban de fragmentos cromosómicos acéntricos y de cromosomas completos con centrómero inactivado.

## **VII. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **VII.1 HIPÓTESIS.**

Es posible que la presencia de especies arsenicales en medios naturales de suelos y aguas subterráneas, como lo es la región de Zimapán en el Estado de Hidalgo y Querétaro, puedan producir un efecto de bioacumulación en tejidos vegetales como el garbanzo y que de alguna manera sirvan de medio de transporte o migración a la cadena alimentaria. Asimismo es probable que la presencia de arsénico origine algún daño genotóxico en células vegetales sensibles como células madres de polen y células somáticas de los pelos estaminales de *tradescantia* clon 4430, lo cual puede ser traducido como el probable daño genotóxico que causarían en células humanas al ser ingerido por la vía alimentaria estos productos contaminados por arsénico.

## **VII.2. OBJETIVOS GENERALES:**

- ◆ Realizar evaluaciones de bioacumulaciones de arsénico en plantas de garbanzo, que pueden ser cultivadas en suelos de las zonas de Zimapán y Querétaro a fin de conocer los índices de arsénico puedan pasar a estos cultivos de consumo humano.
- ◆ Realizar evaluaciones de posibles daños genotóxicos en tejidos vegetales altamente sensibles (células madres de polen de Tradescantia clon 4430).

### **VII.2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Determinar concentraciones de arsénico acumulado en suelos donde se puedan cultivar los productos antes mencionados y valorar que nivel de concentración es considerada como lixiviable o disponible que pueda pasar a dichos cultivos.
- Determinar concentraciones de arsénico acumulado en aguas con las que puede ser regados los cultivos propuestos y donde se puedan cultivar los mismos.
- Determinar las concentraciones de As bioacumulados en el garbanzo durante sus etapas de desarrollo.
- Estimar los índices de bioacumulación por órganos en el garbanzo durante sus etapas de desarrollo.
- Realizar evaluaciones de posibles daños genéticos en células sensibles de Tradescantia clon 4430 originado por la presencia de especies arsenicales en lixiviados de los suelos de los tres sitios.

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

### VIII.1 Muestras. Obtención y preparación.

Se tomará una muestra de suelo de la zona del poblado de Zimapán, Hidalgo, ya que es conocido de trabajos anteriores (Lechuga, 2002) que se trata de un suelo cultivable sistemáticamente y con contenidos de As que oscilan entre 10.45-13.58 mg.Kg<sup>-1</sup> y de Bella Vista Querétaro, sitio cercano a la zona de Zimapán, y de interés por la extracción de agua para llevarla a la ciudad de Querétaro. Para cada sitio de estudio se realizará una toma de muestra (n) a partir de una población de tamaño (N) de 180 m<sup>3</sup>, considerando una profundidad de 30-50 cm de suelo (capa arable). El tamaño de la muestra “n” se calculará a partir de la expresión:

$$n = [Z^2 \cdot p \cdot q \cdot N] / [N \cdot e^2 + Z^2 \cdot p \cdot q] \quad (\text{Ec. 1})$$

donde: n = tamaño de muestra a tomar en gramos (g)

N= tamaño de la población en gramos (g)

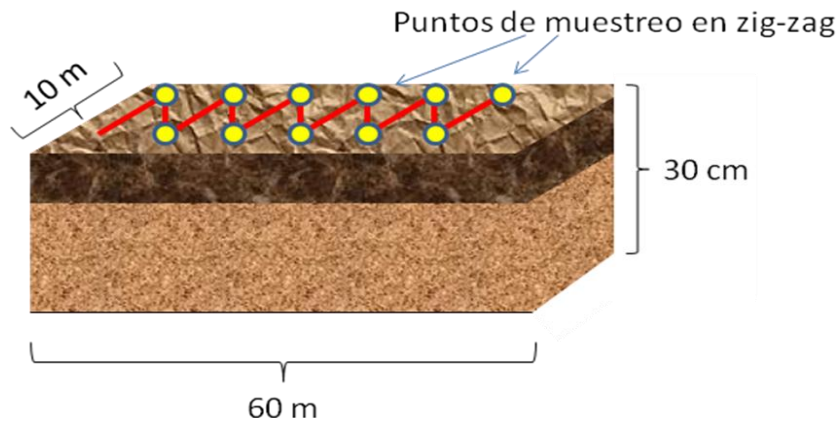
p = 0.95 y q = 0.05, como factores de probabilidad de muestra representativa

Z= 1.960 como valor estadístico para un 90% de nivel de confiabilidad

e = 0.05 como nivel de error de estimación.

Considerando una superficie total de 60 m de largo, 10 m de ancho (600 m<sup>2</sup>) de tres parcelas de la zona de Salitre y a 0.30 m de profundidad, la muestra a tomar será aleatoria de una población N de 180 m<sup>3</sup> según se indica en la figura 2. Las muestras serán tomadas en zig-zag y considerando una densidad del suelo de salitre de 1.23 g.cm<sup>-3</sup> (1.23 T.m<sup>-3</sup>), de esta manera se tendrá una masa de población del suelo de 221,400 kg (Callejas 2005).

## Parcela de muestreo



**Figura 2. Representación esquemática del sitio de muestreo de suelos de Zimapán y Bella Vista del Río con sus respectivos puntos de recolección de los mismos.**

Al aplicar los cálculos correspondiente según la ecuación 1, arroja un tamaño de muestra de suelo “n” de 72.97 kg. Esta muestra a tomar, se hará en 18 puntos aleatoriamente distribuidos en las tres parcelas y la totalidad de la muestra será sometida a una homogenización y cuarteo para el llenado de macetas que serán utilizadas para la siembra de semillas de garbanzo. En total fueron 25 para el garbanzo. De manera similar a la anterior y en iguales cantidades y similares condiciones, se tomaron muestras de suelos de una región no contaminada por arsénico; en este caso se selecciono un suelo agrícola de Querétaro como control negativo.

También se sometieron a análisis de control, las aguas que fueron utilizadas para el riego de las semillas en sus respectivas macetas. En este caso fueron aguas del pozo general de la comunidad del Salitre, municipio de Zimapán y aguas de Bella Vista Qro. y Querétaro.



## VIII.2. Análisis de los suelos

A los suelos de este estudio se les realizaron los siguientes análisis. A partir del extracto de saturación (AS-16) se midió (según NOM 021 RECNAT 2000):

### VIII.2.1 pH (potenciometría, AS-02)

El pH es una de las mediciones más comunes e importantes en los análisis químicos rutinarios de suelo, ya que controla reacciones químicas y biológicas en el suelo. La determinación del pH es afectada por varios factores tales como: el tipo y cantidad de constituyentes orgánicos e inorgánicos que contribuyen a la acidez del suelo, la concentración de sales en la solución, la relación suelo: solución, la presión parcial de bióxido de carbono y el efecto de la suspensión asociado con el potencial de unión, Método electrométrico para la determinación del pH en muestras de suelo en una solución de agua pura. En el caso de los suelos el pH se mide potenciométricamente en la suspensión de una mezcla de la relación suelo: agua 1:2.

Se pesaron 10 g de suelo en un frasco de vidrio, posteriormente se adicionó 20 mL de agua destilada. Con una varilla de vidrio se agitó manualmente la mezcla de suelo durante 30 minutos y se dejó reposar durante 15 minutos. En la fase acuosa se realizó la medición del pH. Para la clasificación del suelo en cuanto a su valor de pH se utilizó el criterio que se resume en el cuadro 7.

**Cuadro 6. Clasificación de suelos según el pH (NOM 021 RECNAT 2000).**

<b>Clasificación</b>	<b>pH</b>
Fuertemente ácido	< 5.0
Moderadamente Ácido	5.1-6.5
Neutro	6.6-7.3
Medianamente alcalino	7.4-8.5
Fuertemente alcalino	> 8.5

### VIII.2.2. Conductividad (conductimetría, AS-18).

La conductividad es una variable que se controla en muchos sectores, desde la industria química a la agricultura. Esta variable depende de la cantidad de sales disueltas presentes en un líquido y es inversamente proporcional a la resistividad del mismo. Con los instrumentos convencionales, la medida de la conductividad se obtiene aplicando un voltaje entre dos electrodos y midiendo la resistencia de la solución. La conductividad eléctrica (CE) del extracto de saturación es uno de los índices más difundidos para evaluar la concentración salina del suelo y se reporta como decisiemens por metro ( $\text{dS m}^{-1}$ ). El procedimiento utilizado para la determinación es similar al utilizado para la determinación de pH. El cuadro 8 se utilizó para la clasificación de los suelos según su conductividad.

**Cuadro 7. Clasificación de suelos por evaluación de la salinidad (NOM 021 RECNAT 2000)**

Efectos	CE $\text{dS m}^{-1}$ a 25 <sup>o</sup> C
Efectos despreciables de salinidad	< 1.0
Muy ligeramente salino	1.1 - 2.0
Moderadamente salino	2.1 - 4.0
suelo salino	4.1 - 8.0
Fuertemente salino	8.1 - 16.0
Muy fuertemente salino	> 16.0

### VIII.2.3 Potencial redox (potenciometría, AS-02)

La medida del potencial redox (Eh) en medios naturales demuestra la capacidad de oxido-reducción, causada directamente por las condiciones químicas de éste, que muy a menudo son inducidas por actividades microbiológicas (bacterias sulforreductoras y ferrobacterias) La medición se realizó con un equipo HANNA con electrodo de platino y se calibró con la solución HI 7020 Lote 0704. Se siguió

la metodología para la obtención del pH. En el cuadro 9 se muestra el criterio para la clasificación de suelos según el Eh.

**Cuadro 8. Parámetros de potencial Redox (Boulding, 1995).**

<b>Clasificación</b>	<b>mV</b>
Altamente oxidante	> + 400
Intermedio	+400 a -100
Altamente reductor	< -100

#### **VIII.2.4 Potencial Z**

Se realizaron mediciones en los extractos de saturación de los diferentes suelos mediante un analizador Zeta-sizer (Malvern, Inglaterra) modelo 3000 Hsa. La medida de potencial Z (Zetasizer Nano) emplea la tecnología LDE (Laser Doppler Electrophoresis), que mide el movimiento de partículas cargadas en un campo eléctrico mediante efecto Doppler (Malvern, 2004).

#### **VIII.2.5 Humedad (gravimetría, AS-05)**

El método se basa en la medición o determinación de la cantidad de agua expresada en gramos que contiene una muestra de suelo. La determinación de la masa de suelo seco. Se consideró como suelo seco a la estufa a 105<sup>0</sup> C hasta obtener un peso constante.

Los frascos de fríos fueron pesados, siendo este el peso del frasco (PB). Posteriormente se colocó 10 a 15 gramos, aproximadamente. Se pesó el bote con el suelo húmedo, este peso deberá ser el peso del frasco más el suelo húmedo (PB +Psh). El frasco ya pesado se colocó en la estufa a una temperatura de 105<sup>0</sup> C por 24 horas. Posteriormente se enfrió, se pesó el bote con la muestra seca, este peso será el peso del frasco más el peso del suelo seco (PB +Pss). Se repitió este procedimiento hasta obtener el peso constante.

Con los datos obtenidos en el procedimiento, se calculó el contenido de humedad a partir de la siguiente ecuación (Ec. 2):

$$g = \left( \frac{(PB + Psh) - (PB + Pss)}{(PB + Pss) - PB} \right) * 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

G= Contenido de humedad gravimétrica en porcentaje (100%)

PB = Peso del frasco (g)

Psh = Peso de suelo húmedo (g)

Pss = Peso del suelo seco (g)

### **VIII.2.6 Materia orgánica (MO) (AS-07)**

La MO se determinó a través del contenido del carbono orgánico (C) del suelo por el método de Walkley y Black. Este método se basa en la oxidación del carbono orgánico del suelo por medio de una solución de dicromato de potasio y el calor de reacción que se genera al mezclarla con ácido sulfúrico concentrado.

Después de cierto tiempo la mezcla se diluyó, adicionándole ácido fosfórico para evitar interferencias de  $Fe^{3+}$  y el dicromato de potasio residual fue valorado con sulfato ferroso amoniacal, hasta obtener como punto final de la reacción una coloración verde claro. Con este procedimiento se detectó un 70% y 84% del carbón orgánico total por lo que es necesario introducir un factor de corrección que puede variar entre diferentes suelos.

Se pesaron 0.5 g de suelo seco y se colocó en un matríz Erlenmeyer, se adicionó 10 mL de dicromato de potasio, posteriormente con una bureta se adicionaron 20 mL de  $H_2SO_4$  concentrado se agito cuidadosamente). Se dejó reposar durante 30 minutos. Posteriormente se adicionaron 200mL de agua destilada y 5mL de  $H_3PO_4$  Concentrado y difenilamina (indicador), y se procedió a la titulación con sulfato ferroso amoniacal hasta obtener un punto final verde claro. En los suelos de México (NOM 021 RECNAT 2000) se recomienda utilizar un factor de 1.298 ( /0.77), para los cálculos se hizo uso de la siguiente expresión (Ec. 3)

$$\% \text{ C Orgánico} = \left[ \frac{B-T}{g} \right] [N] (0.39) \text{ mcf} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

B = Volumen de sulfato ferroso gastado para valorar el blanco de reactivos (mL)

T = Volumen de sulfato ferroso gastado para valorar la muestra (mL)

N = Normalidad exacta del sulfato ferroso amoniacal

G = Peso de la muestra empleada (g)

Mcf = Factor de corrección de humedad

% = M O = % C Orgánico x 1.724

El factor 0.39 resulta de multiplicar  $(12/4000 \cdot (1/0.77) \cdot 100 = 0.39$

Donde:

(12/4000) es el peso miliequivalente del C, (1/0.77 es un factor de corrección debido a que se supone que el método sólo oxida 77% del C, y 100 es la conversión a porcentaje. En la mayoría de los laboratorios se sigue usando el factor de Van Bemelen de 1.724 para estimar la MO a partir del C orgánico, el cual resulta de la suposición de que la MO contiene un 58% de C,  $(1/0.58) = 1.724$  Los valores de referencia para clasificar la concentración de la MO en suelos volcánicos y no volcánicos se muestran en el cuadro 10.

**Cuadro 9. Clasificación de suelos en base a los contenidos de materia orgánicas según suelos volcánicos o no volcánicos (NOM 021 RECNAT 2000)**

Clasificación	Materia Orgánica (%)	
	Suelos Volcánicos	Suelos no volcánicos
Muy Bajo	<4.0	<0.5
Bajo	4.1 - 6.0	0.6 - 1.5
Medio	6.1 - 10.9	1.6 - 3.5
Alto	11.0 - 16	3.6 - 6.0
Muy alto	> 16.1	> 6.0

### VIII.2.7 Nitrógeno total (método Kjeldahl).

El Método desarrollado por Kjeldahl consta de tres etapas:

(1) Digestión: conversión del Nitrógeno (proveniente de las proteínas, por ejemplo) en ion amonio. (2). Destilación: separación por arrastre con vapor del amoníaco y posterior solubilización en una solución ácida de concentración conocida. (3). Valoración: medición de la cantidad de ácido neutralizado por el amoníaco disuelto, lo que indica la cantidad de Nitrógeno presente en la muestra inicial.

Para la determinación se colocó una muestra de suelo (0.05g) en un frasco micro-Kjeldahl seco. Se adicionó una mezcla de catalizadores: 7 g de  $K_2SO_4$ , 20 mL de ácido sulfúrico concentrado y 1 g de  $HgO$ , se calentó en la unidad digestora a temperatura media alta hasta que el digestado se tornó claro. Una vez completada esta fase, se dejó enfriar el frasco y se agregó suficiente agua para colocar en suspensión, mediante agitación el digestado (15 a 20mL) son generalmente suficientes). Se transfirió el contenido líquido a la cámara de destilación del aparato, lavando el matraz de digestión con pequeñas porciones de agua; se colocó en el tubo de salida del aparato de digestión un matrás Erlenmeyer de 125 mL conteniendo 10 mL de la solución de  $H_3BO_3$  más indicadores. Se adicionaron cuidadosamente 10 mL de  $NaOH$  50 % de modo que la sosa se depositara en el fondo de la cámara de destilación, se conecto el flujo de vapor y se inició la destilación y se continuó hasta que el volumen alcanzó unos 75 mL en el frasco Erlenmeyer. Se determinó el nitrógeno amoniacal presente en el destilado titulando con el ácido sulfúrico al 2 %. Para los cálculos se utilizó la expresión (Ec. 4)

$$\% N \text{ total} = (V_m - V_b) \times N \times 14 / P \times 10 \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde:

$V_m$  = Volumen de ácido sulfúrico empleado en titular la muestra

$V_b$  = Volumen de ácido sulfúrico empleado en titular el blanco

$N$  = Normalidad exacta del ácido sulfúrico

14 = Peso equivalente del nitrógeno  
 10 = Factor de conversión a porcentaje  
 P = Peso de la muestra de suelo en g

Los análisis de los datos pueden interpretarse para clasificar a los suelos según el cuadro 11.

**Cuadro 10. Clasificación de los suelos en función del % de nitrógeno para suelos volcánicos y no volcánicos (NOM 021 RECNAT 2000)**

Clasificación	Nitrógeno total %	
	Suelos Volcánicos	Suelos no volcánicos
Muy Bajo		<0.05
Bajo	<0.30	0.05 - 0.10
Medio	0.30 - 0.80	0.10 - 0.15
Alto	>0.80	0.15 - 0.25
Muy alto		> 0.25

### VIII.2.8 Textura (método de Bouyoucus)

La textura del suelo se define como la proporción relativa de grupos dimensionales de partículas. Proporciona una idea general de las propiedades físicas del suelo. En este método se elimina la agregación debida a la materia orgánica y la floculación debida al calcio y magnesio. No se eliminan otros cementantes como carbonatos (Boulding 1995).

Se pesaron 12.5 g de suelo en un vaso de precipitado de 500 mL, se agregaron 5 mL de solución defloculante (hexametáfosfato de sodio con carbonato de sodio), posteriormente se adicionaron 50 mL de agua, y se agitó

durante 10 minutos. Se pasó a una probeta de 250 mL aforando hasta 200 mL con agua destilada, se agita y se coloca el hidrómetro, se espera 1 minuto y tomar lectura (temperatura e hidrómetro). Para los cálculos es necesario corregir las lecturas del hidrómetro agregando 0.36 unidades por cada grado centígrado por encima de 19.5 °C restando la misma cantidad por cada grado debajo de dicha temperatura (tabla de corrección por temperatura), (NOM 021 RECNAT 2000). La lectura obtenida a las 2 horas (L2) multiplicada por 2 es igual al porcentaje de arcilla. El porcentaje de limo se obtiene por diferencia. Cuando se usan 100 g no debe multiplicarse por 2 ya que el hidrómetro está calibrado en porcentajes considerando 100 g de suelo. Todo ello se sintetiza en las ecuaciones 5 – 7. Con los porcentajes obtenidos de limo, arena y arcilla se determina la textura correspondiente con el triángulo de texturas (figura 5)

$$\% \text{ Arcilla} + \% \text{ Limo} = L1 * 2 \quad \text{Ec. 5}$$

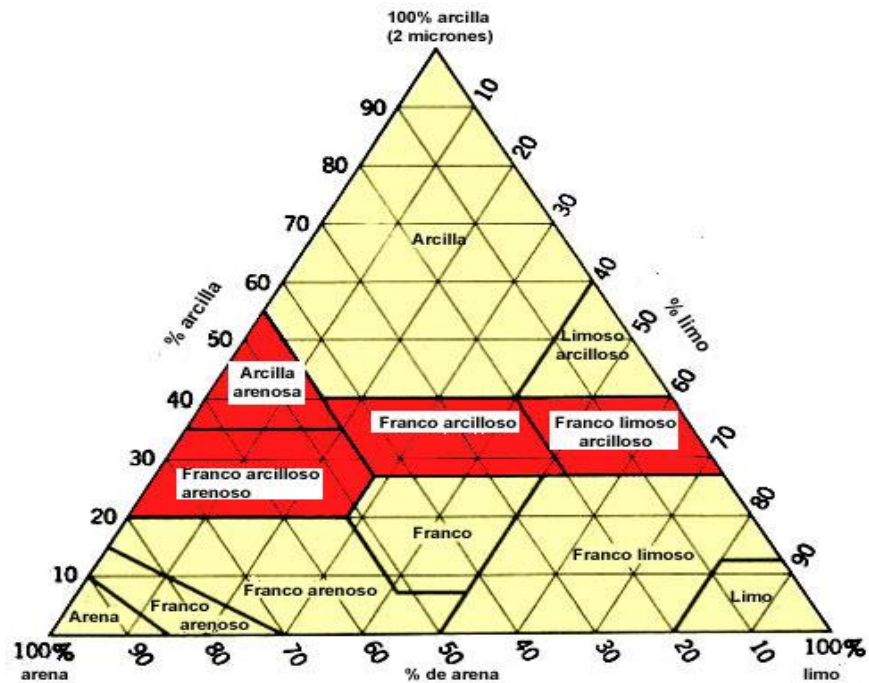
$$\% \text{ Arcilla} = L2 * 2 \quad \text{Ec. 6}$$

$$\% \text{ Arena} = 100 - (\% \text{ Arcilla} + \% \text{ Limo}) \quad \text{Ec. 7}$$

Donde :

L1 = primera lectura, a los 40 segundos      L2 = segunda lectura, a las 2 horas





**Figura 5 Diagrama triangular de las clases texturales básicas del suelo según el tamaño de las partículas, de acuerdo con el USDA (2000)**

### VIII.2.9. Determinaciones de arsénico total en suelo y partes de la planta

La determinación de arsénico (As) se realizó al inicio y al final de los experimentos. Mediante espectrofotometría de absorción atómica de flama y la técnica de generación de hidruros (método 7061A EPA).

Para la determinación, las muestras de suelo se homogenizaron, secaron y tamizaron. Se tomaron muestras representativas de cada suelo para su posterior digestión (método 3051 EPA) en un horno de microondas Mars X por triplicado para cada experimento.

Se peso 0.2 g y se colocaron en vasos de teflón y se adicionó 5 mL de ácido nítrico concentrado. Se utilizaron tres etapas para obtener una buena digestión. La primera para elevar la presión a 300 PSI por 10 minutos, la segunda para

mantener constante la presión (300 PSI) durante 10 minutos y la tercera para el enfriamiento por 5 minutos. La potencia fue de 1200 W.

Posteriormente las muestras se filtraron y se aforaron a 100 mL con agua destilada. Para la lectura de As en el equipo de absorción atómica con la técnica de generación de hidruros se preparó una solución de  $\text{NaBH}_4$  al 6% en NaOH al 0.05 % con la cual es posible la reducción a arsina.

Para las determinaciones de As se obtuvo una curva de calibración de 0, 10, 20, 30, 40, 50, y 80  $\mu\text{g.L}^{-1}$  con una solución madre de 1000  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de As

### **VIII.3. Análisis a las aguas de riego**

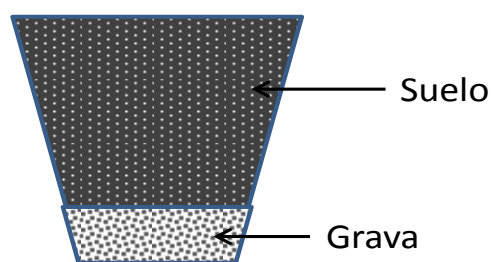
Por otra parte se realizaron análisis a las aguas para determinar pH, conductividad, potencial redox y concentración de arsénico. Haciéndose al inicio del riego y a las aguas de lixiviados de las macetas por la metodología antes descrita.

### **VIII.4. Pruebas de germinación en semillas de garbanzo (*Cicer arietinum* L).**

Las pruebas de germinación de semillas de garbanzo (*Cicer arietinum* L) se basaron en un análisis sencillo que consistió en poner a remojar las semillas por 24 horas, figura 4 (Valencia, 1992), posteriormente se colocaron sobre una cama de algodón humedecida previamente sobre una charola en condiciones de temperatura y oscuridad dentro de una cámara de crecimiento marca Biotronet Mark III para que se llevara a cabo la germinación de las mismas (Flores García 2008). Se realizó el conteo de semillas germinadas cada día y medición de la longitud de la radícula.

### VIII.5. Evaluación de la bioacumulación de arsénico por etapas del desarrollo del garbanzo. Ensayos en macetas.

Se prepararon las macetas (25 en total), para siembra de semillas de garbanzo. En cada maceta se agregó aproximadamente 1 kg de suelo; previamente adicionando en el fondo, una capa de unos dos cm de altura de gravilla, con la finalidad de evitar o minimizar las pérdidas de suelos durante los riegos (figura 3).



**Figura 3. Maceta para capacidad de 1Kg de suelo, se observa en la parte del fondo con una capa de arena de 2cm.**

Los riegos se realizaron una vez al mes con adiciones de 500 ml de agua por maceta. Para ello se utilizó: agua de Zimapán (ensayo) contaminada con As, agua de Bella Vista del Río, agua de Querétaro (control negativo), como agua no contaminada y agua de Querétaro a la que se le adicionó una concentración de iones arseniato entre veces superiores a la que presente el agua natural del Salitre, Zimapán (control positivo). El montaje de todo el estudio en maceta se realizó según el esquema que se muestra en el cuadro 12. Se colocaron 5 réplicas de macetas por cada serie (de la A a la F)

**Cuadro 11. Condiciones experimentales para los ensayos en macetas.**

<b>A<sub>g</sub></b>	<b>B<sub>g</sub></b>	<b>C<sub>g</sub></b>	<b>D<sub>g</sub></b>	<b>E<sub>g</sub></b>	<b>F<sub>g</sub></b>
1-SZ/AZ	1-SZ/AQ	1-SBV/ABV	1-SBV/AQ	1-SQ/AC*	1-SQ/AQ**
2-SZ/AZ	2-SZ/AQ	2-SBV/ABV	2-SBV/AQ	2-SQ/AC*	2-SQ/AQ**
3-SZ/AZ	3-SZ/AQ	3-SBV/ABV	3-SBV/AQ	3-SQ/AC*	3-SQ/AQ**
4-SZ/AZ	4-SZ/AQ	4-SBV/ABV	4-SBV/AQ	4-SQ/AC*	4-SQ/AQ**
5-SZ/AZ	5-SZ/AQ	5-SBV/ABV	5-SBV/AQ	5-SQ/AC*	5-SQ/AQ**

Leyenda:

g: garbanzo

A<sub>g</sub>: **SZ**-Suelo de Salitre (Zimapán), regado con **AZ**-Agua del Salitre (Distribuidor).

B<sub>g</sub>: **SZ**-Suelo de Salitre (Zimapán), regado con **AQ**-Agua de Querétaro

C<sub>g</sub>: **SBV**-Suelo de Bella Vista, Qro., regado con **ABV**-Agua de Bella Vista, Qro

D<sub>g</sub>: **SBV**-Suelo de Bella Vista, Qro., regado con **AQ**-Agua Querétaro.

E<sub>g</sub>: **SQ**-Suelo de Querétaro sin contaminar, regado con **AC**-Agua contaminada con arseniatos. Control Positivo\*.

F<sub>g</sub> : **SQ**-Suelo de Querétaro sin contaminar regado con **AQ**-Agua de Querétaro.

Control Negativo \*\* en cinco replicas respectivamente

En cada maceta se sembraron 5 semillas, posicionándolas en distancias aproximadamente iguales, según esquema de la figura 4.



**Figura 4. Esquema representativo de la distribución de semillas sembradas en macetas y estructura para la captura de lixiviados.**

Por cada una de las etapas de crecimiento y desarrollo de las plantas, se tomo una de cada una de las cinco réplicas del garbanzo, comenzando a partir de la formación del coleóptilo. Cada parte de la planta se secó y trituro para su posterior digestión (se contemplo para cada etapa de desarrollo de la planta de raíz, tallo, hoja, vaina y grano).

#### **VIII.5.1. Determinación del índice de bioacumulación de arsénico en (raíz, tallo, hoja vaina y grano) del garbanzo**

La bioacumulación de arsénico se evaluó como un índice relativo a sus contenidos en suelos. Para ello se tomó en cuenta la concentración media bioacumulada por cada parte del cultivo (raíz, tallo, hoja vaina y grano) en cada etapa del desarrollo del garbanzo, con relación a la cantidad en suelos. Utilizando la ecuación que aparece a continuación:

$$IBAs = \frac{[As]_{pp}}{[As]_s} \quad \text{Ec. 8}$$

donde:  $[As]_{pp}$  es la concentración de As, en  $\text{mg.kg}^{-1}$  en la parte de la planta en evaluación

$[As]_s$  es la concentración total de As en  $\text{mg.kg}^{-1}$  en el suelo al inicio de los experimentos.

## **VIII.6. Bioensayos para determinar el efecto genotóxico de los lixiviados provenientes de los ensayos en macetas.**

### **VIII.6.1. Tradescantia clon 4430**

Se evaluó el efecto genotóxico del arsénico en *Tradescantia*, tomando a esta planta como un sistema de ensayo en Genética Toxicológica, para analizar aberraciones cromosómicas. En este estudio se determinó la inducción de micronúcleos por presencia de As en el agua utilizada en el proceso de tratamiento. Luego de las respectivas preparaciones, se observó el daño mediante el microscopio estereoscópico, de los diferentes tratamientos, tanto en muestras sometidas a aguas de Zimapán como de Bella Vista del Río, como las muestras testigos o definidas como las que fueron tratadas con agua (sin presencia de As) de Querétaro.

#### **VIII.6.1.1 Micronúcleos en células meioticas (TRAD-MCN)**

##### *Selección de cortes de Tradescantia*

Se seleccionaron inflorescencias con un tallo de aproximado de 10 cm. y se colocaron en las muestras de lixiviados acuosos mientras que los testigos negativos se sometieron en agua de la llave de Querétaro, se emplearon aproximadamente de 10 a 15 cortes para cada muestra a analizar, los tratamientos se efectuaron dentro de un invernadero con condiciones controladas de humedad, temperatura y luz. Los tiempos de exposición fueron de 12 horas por cada punto muestreado.

##### *Recuperación*

Después de la exposición de las plantas se les dió un tiempo de recuperación que va en función al tiempo de tratamiento, haciendo un total de 30 ó 36 horas en total. Posteriormente los cortes son llevados a otro invernadero con

condiciones controladas hasta cumplir el tiempo de recuperación que es necesario para que las células dañadas en profase I continúen su división hasta la etapa de tétrada, fase en la cual se realiza la observación. Durante este tiempo los tallos se encuentran sumergidos en agua de la llave, con el fin de que los cortes resistan el tiempo de exposición.

### *Fijación*

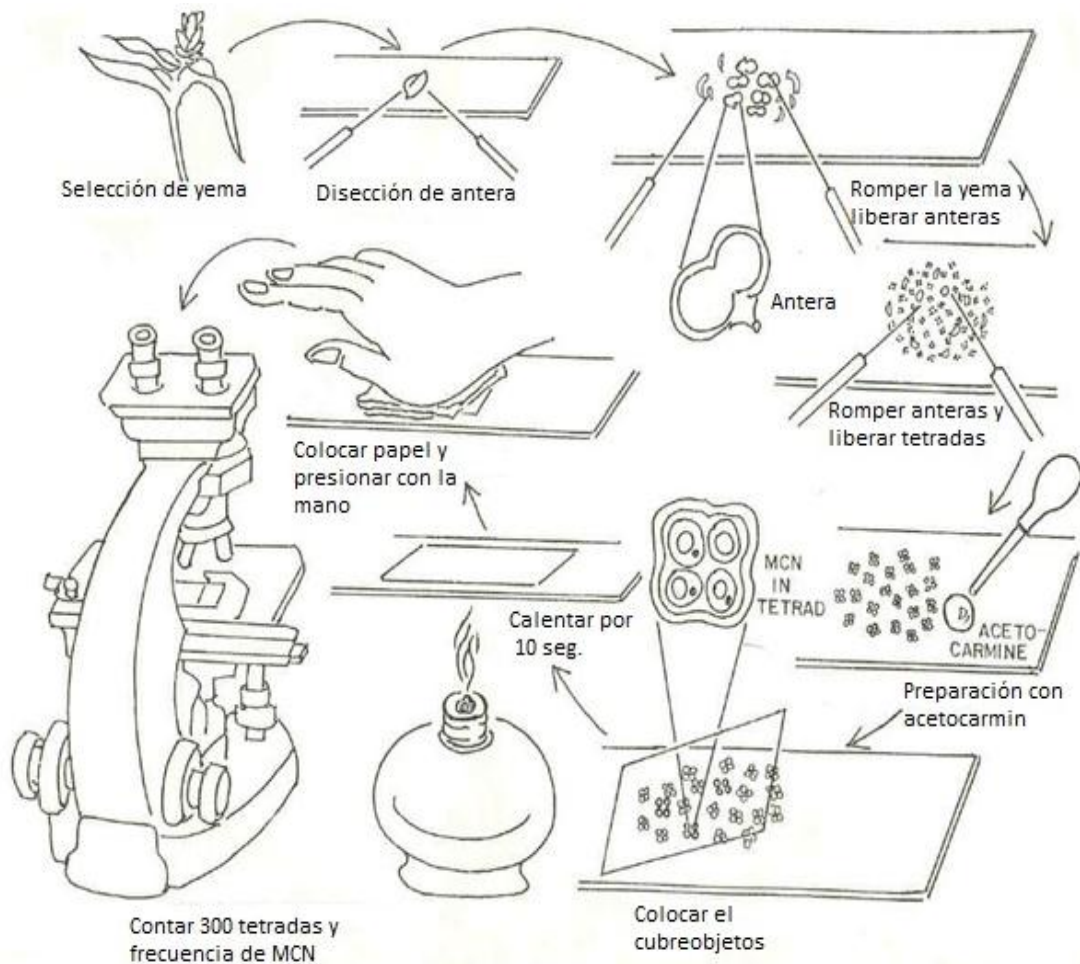
En este paso las inflorescencias son cortadas de sus tallos y colocadas en una solución de etanol - ácido acético (3:1) por un período de 24 horas. Una vez concluido éste, las inflorescencias pueden disectarse para realizar preparaciones o conservarse en etanol al 70 %.

### *Obtención de preparaciones*

Se eligió la yema que contiene células en etapa de tétrada, se disectó, separándose las anteras sobre un portaobjetos y se perforaron para liberar las células meióticas, posteriormente se tiñieron con acetocarmín al 0.5% se quitaron los desechos y se colocó el cubreobjetos. La preparación se calienta de 2 a 3 veces en un plato caliente, luego se presiona suavemente con la palma de la mano, amortiguando con una toalla de papel.

### *Observación microscópica*

Se registran el número de células en etapa de tétrada que contengan 1, 2, 3 ó más micronúcleos y se cuentan 300 células por cada preparación. Los datos obtenidos de los resultados un análisis de varianza, posteriormente la " t " de dunett entre los diferentes grupos (Castaño y Dominguez 2003). Figura 5.



**Figura 6. Metodología propuesta para la observación de micronúcleos, Tomado de Ma 1982.**

### **VIII.6.1.2. Mutaciones somáticas en pelos estaminales (TRAD-MSPE)**

Se utilizaron plantas de *Tradescantia* clon 4430. El procedimiento general es el descrito por Underbrink y colaboradores (1973), Gichner y colaboradores (1980, 2000), en el que los tallos de las inflorescencias son sumergidos en una solución que contenga las aguas a probar o los extractos de los suelos, en las que permanecieron por un período de 30 horas. Pasando este tiempo se enjuagaron con agua y se pasaron a una solución nutritiva de Hoagland, permaneciendo



durante 17 días con cambios de solución de cada tercer día. En estudios realizados por los autores, se ha encontrado que el pico de la frecuencia de mutaciones es entre el 8o. y 14o. día, razón por la cual los conteos se hicieron cada tercer día a partir del quinto y terminando el decimoséptimo día, las células mutantes que ocurren durante el desarrollo temprano de los pelos estaminales se pueden dividir repetidamente y dar origen a una secuencia de células rosas que se originan de una célula alterada. En los días que correspondieron, se contaron 6 flores obteniendo la frecuencia de mutaciones registradas en los días que se realizó el conteo el cual se calculó en base al número de eventos de mutaciones rosas dividido entre el número promedio de pelos por flor y se expresó como eventos de mutaciones rosas por cada 1000 pelos

#### **VIII.6.2. Células meristemáticas de las raíces del garbanzo (*C. arietinum*)**

Esta evaluación se realizó con la finalidad de observar que tan factible es determinar el daño genotóxico mediante la observación de micronúcleos (Foltête *et al.* 2011) en las raíces de garbanzo utilizando la metodología para *Vicia faba* (haba). Se expusieron las raíces de garbanzo a los lixiviados provenientes de las distintas etapas de desarrollo de los seis grupos experimentales de las por un período de 48 horas (figura 7),



**Figura 7. Exposición de las raíces de garbanzo a los diferentes lixiviados**

posteriormente se cortaron 2 mm del meristemo apical y se fijaron en una solución de etanol – ácido acético (3:1). Se procedió a la tinción, colocando los meristemos apicales en etanol 70% (v/v) durante 15 min para deshidratar las células de la raíz y facilitar que penetre mejor el HCl durante la hidrólisis (Foltête *et al.* 2011) la cual fue realizada con HCl 5M durante 30 min. Para eliminar el exceso de HCl y poder teñir las células, se decantó el HCl y se lavó 3 veces con agua destilada. La tinción se realizó con aceto-orceína por 40 min y se agregó a los meristemos ácido acético al 45% (v/v) con la finalidad de eliminar el exceso de colorante. El aplastamiento en monocapa se realizó luego de la tinción para lo cual se colocó un cubreobjetos y se presionó ligeramente; esto permite que quede una capa uniforme de células, esto permite una mejor observación al microscopio (Valencia, 1992).

## IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### IX.1. Caracterización de los tres suelos.

Las características como pH, potencial redox (Eh), conductividad eléctrica (CE) y potencial zeta (pZ) de los suelos analizados mostraron algunas diferencias entre las tres regiones estudiadas. La determinación del pH en los tres suelos en estudio, mostraron valores que los clasifican como neutros (NOM-021-SEMARNAT-2000; Boulding, 1995) para los suelos de Querétaro y como moderadamente alcalinos los suelos de Bella Vista, Qro. y de Salitre en Zimapán, Hgo. En el cuadro 12 se muestran estos resultados.

**Cuadro 12. Resultados de pH, CE, Eh y pZ en los suelos de las tres regiones en estudio**

Suelo	Parámetro	pH	CE(mS/cm)	Eh (mV)	pZ (mV)
Querétaro, Qro.	Media	7.10	0.26	1.75	-18.2
	Desv. Est.	0.05	0.01	0.37	0.32
	%CV	0.77	3.65	21.12	1.27
Bella Vista, Qro.	Media	8.18	0.24	-61.2	-30.6
	Desv. Est.	0.01	0.02	0.48	0.42
	%CV	0.12	2.06	0.78	1.37
El Salitre	Media	8.11	0.27	-57.7	-29.4
	Desv. Est.	0.06	0.01	2.38	0.51
	%CV	0.73	4.7	4.12	1.73

Estos valores de pH son característicos de zonas semiáridas. Valores extremos de pH alcalinos pueden provocar precipitación de ciertos nutrientes, los que permanecen en los suelos en forma no asimilable para las plantas. También se puede modificar significativamente el pH del suelo mediante el riego, drenaje, uso de pesticidas y fertilizantes. En el caso del suelo de Querétaro el valor es más bajo con respecto a los suelos de Bella Vista y el Salitre, ya que son suelos de riego

más que temporal propiciando un lavado continuo y un uso excesivo de fertilizantes. lo que El pH de 8.5 o mayores, indica casi siempre 15% o más de sodio intercambiable y la presencia de carbonatos de metales alcalino-térreos (Ferrerías *et al.*, 2007).

En México los suelos fuertemente básicos son aquellos con pH > 8.5 (NOM-021-SEMARNAT-2000). Estos suelos ocupan el 4.1% del total de suelos del país, localizándose fundamentalmente en las zonas más áridas (con menos de 300 mm de precipitación) o en litorales fuertemente salinos. El grupo de suelos denominados moderadamente básicos o alcalinos, pH entre 7.4 y 8.5 (NOM-021-SEMARNAT-2000), se dispersan por casi la mitad del país (48.3% de la superficie total nacional) y tienen por lo general un alto contenido de calcio y magnesio. Se ubican principalmente al norte y centro de México. Los suelos neutros (pH entre 6.6 y 7.3) ocupan cerca del 25.6% del territorio nacional y se distribuyen en las zonas central y sur principalmente.

Los valores de la CE señalan que los tres suelos presentan características similares (0.24-0.27 mS/cm) y clasifican (Boluding, 1995) como suelos con efectos despreciables de salinidad.

Según los potenciales redox (Eh) clasifican como reductores intermedios, sin embargo entre los suelos de Bella Vista, Qro. y de Salitre en Hidalgo no hay diferencias significativas en este parámetro y sí con el suelo de Querétaro. Los valores de potencial redox (Eh), que definen el carácter oxidante o reductor asociado a los suelos, indican que los suelos evaluados resultaron ser poco reductores propiciando ciertas propiedades para que se encuentre con mayor frecuencia el As V<sup>+</sup>. De forma similar los valores de potencial zeta (pZ) en los extractos de saturación los muestran como suelos que presentan suspensiones coloidales de partículas moderadamente estables; estos resultados y criterios de clasificación se reportan por vez primera para estos suelos. La estabilidad del suelo sirve también como un indicador cualitativo de la actividad biológica, flujo de energía, y desarrollo del ciclo de nutrientes. La agregación de las partículas del suelo debe ser constantemente renovada por los procesos biológicos (USDA, 2000). Los suelos de Querétaro (pH=7.10) mostraron el valor más bajo de pZ (-

18.2 mV); es oportuno indicar que valores < -30 mV indican una elevada estabilidad en las fracciones coloidales en la fase líquida de los suelos (Malvern, 2004). Con base a esto se puede decir que el suelo de Bella Vista, Qro. y del Salitre en Zimapán, Hgo., son de elevada estabilidad en sus fracciones coloidales formadas por micelas negativas de materia orgánica mientras que los suelos de Querétaro se ve disminuida por exceso de riego y uso de estos suelos para la agricultura.

Los contenidos de humedad (cuadro 13) de todos los suelos resultaron ser de moderados (Bella Vista y Salitre) a altos (Querétaro) lo cual se debe corresponder a suelos con contenidos en arcillas de alrededor de 60% por cuanto sus capacidades para retener el agua (CRA) son moderadas. En el cuadro 14 se aprecian los resultados de texturas. No se aprecian diferencias significativas entre las texturas de los suelos de Querétaro y Bella Vista que resultan ser arcillosos. Los suelos arenosos, condicionan que puede debilitar el crecimiento, y volumen del sistema radicular de las plantas, disminuye la disponibilidad de los nutrimentos, perjudica la capacidad de retención del agua, limita la capacidad de intercambio catiónico.

**Cuadro 13. Contenidos de humedad en los suelos**

Suelos	Querétaro	Bella Vista	Salitre
	<b>% Humedad en suelos</b>		
<b>Media</b>	<b>25.32</b>	<b>13.89</b>	<b>11.67</b>
<b>Desv. Est</b>	0.55	0.79	0.34
<b>%CV</b>	2.16	5.72	2.91

**Cuadro 14. Resultados de texturas de los suelos en estudio. Entre paréntesis se muestra el porcentaje del coeficiente de variabilidad**

Suelos	Querétaro	Bella Vista, Qro.	Salitre, Zimapán
Textura	arcilloso	arcilloso	arcill-aren
Arena (%)	16.88 (1.24)	18.96 (1.88)	40.89 (2.33)
Arcilla (%)	64.27 (1.93)	61.21 (1.50)	36.51 (1.63)
Limo (%)	17.96 (2.27)	20.67 (2.31)	22.59 (2.63)

En el cuadro 15, se muestran los resultados de densidad real y aparente, los porcentajes de capacidad de campo (CC), agregados estables y de saturación de bases; asimismo se muestra el resultado de velocidad de infiltración y de espesor del horizonte A. Se observa una semejanza entre los suelos de Querétaro y Bella Vista; es el suelo de Salitre el que menor capacidad de campo presentó, coincidiendo con el de menor porcentaje de humedad; igualmente fue el suelo de mayor velocidad de infiltración lo cual se corresponde con el suelo más rico en arena (más arenoso) y con menor capacidad para retener humedad.

**Cuadro15. Parámetros físicos de los suelos en estudio**

Parámetro	Suelo de Querétaro	Suelo de Bella Vista Qro.	Suelo de Salitre, Zimapán
Densidad real ( Mg/m <sup>3</sup> )	2.09	2.04	1.9
Densidad aparente ( Mg/m <sup>3</sup> )	1.162	1.09	1.02
Cap. de campo %	13.46	12.37	7.84
Agregados estables %	30.79	28.42	17.19
Saturación de bases %	33.57	86.19	82.59
Cap. de inter catiónico (cmol <sup>(+)</sup> Kg <sup>-1</sup> )	12.96	82.59	8.36

La determinación de la materia orgánica (MO) resulta fundamental para el conocimiento de la productividad agrícola y forestal de los suelos (Álvarez y

Steinbach, 2006; La Manna et al., 2007). Los resultados de MO se muestran en la tabla 16. Se puede observar que clasifican según la normatividad mexicana (NOM-021-SEMARNAT-2000; Boulding, 1995) como suelos con contenidos muy bajos de MO los suelos de Salitre y Querétaro y como de bajos contenidos el suelo de Bella Vista.

**Cuadro 16. Resultados de los contenidos de materia orgánica en los suelos en estudio**

Suelos	Querétaro	Bella Vista, Qro.	Salitre, Zimapán
	<b>% Materia Orgánica en suelos</b>		
<b>Media</b>	2.27	5.05	3.74
<b>Desv. Est</b>	0.24	0.15	0.27
<b>%CV</b>	10.43	2.94	7.22

Por análisis elemental se determinó % de Carbono orgánico y % de Nitrógeno; los resultados se muestran en los cuadros 17 y 18. Se puede observar que existen diferencias significativas en cuanto a los % C y % de N<sub>2</sub>O. Por los contenidos de nitrógeno y según NOM-021-SEMARNAT-2000, el suelo de Querétaro clasifica de contenidos medios en tanto los suelos de Bella Vista y Salitre con contenidos bajos, sobre todo este último.

**Cuadro17. Resultados del análisis elemental de Nitrógeno (total)**

Suelos	Querétaro	Bella Vista, Qro.	Salitre Zimapán
	<b>Nitrógeno Total</b>		
Promedio	0.78	0.53	0.21
Des Est.	0.02	0.1	0.01
%CV	2.85	2.6	5.61

**Cuadro 18. Resultados del análisis elemental de %C Orgánico**

Suelos	Querétaro	Bella Vista, Qro.	Salitre, Zimapán
	Carbono Orgánico (% C)		
Promedio	1.28	2.86	2.11
Des Est.	0.13	0.1	0.15
%CV	10.13	3.5	7.11

Los contenidos de arsénico en los suelos se muestran en la tabla 7. Se observa la elevada contaminación que presenta el suelo de la región de Salitre en Zimapán, Hgo., mismo que se ha señalado que es de origen geomorfológico. Este resultado resulta una dos veces más bajo que el mínimo que reportó Lechuga et al. (2002) en esta misma zona; sin embargo cabe mencionar que el trabajo citado no se indican las coordenadas geográficas de la toma de muestra de suelo por tanto no pueden compararse con el mismo rigor. Le siguen en orden decreciente de la contaminación natural (origen geomorfológico) por arsénico, el suelo de Bella Vista, Qro., con un nivel de concentración arsenical diez veces menor que el suelo de El Salitre en Zimapán Hgo. (Cuadro 19). En estos dos casos se pueden señalar nuevamente la característica de proximidad geográfica considerándose como un suelo no contaminado por arsénico (< 40 µg/kg), el suelo de Querétaro.

**Cuadro 19. Contenido de (As) de los suelos en estudio**

Suelos	Querétaro <sup>(-)</sup>	Bella Vista	Salitre, Zimapán <sup>(+)</sup>
	As µg/kg		
muestra 1	12.044	72.448	692.223
muestra 2	11.979	72.503	774.752
muestra 3	13.995	74.806	713.149
<b>Media</b>	<b>12.67</b>	<b>73.25**</b>	<b>726.71**</b>
Des Est.	1.15	1.35	42.90
CV %	9.04	1.84	5.90

Diferencia significativa P<0.01\*\* Control negativo (-), Control positivo (+)



## IX.2 Análisis de las aguas de riego

### *Potencial Hidrógeno (pH)*

En el cuadro 20, se presentan los resultados encontrados en el agua de Querétaro el valor de 8.1 correspondiente al promedio de tres replicas y se puede considerada como moderadamente alcalinas, el agua de el Salitre Hgo y Bella Vista también pertenecen a esta categoría. Con valores de 7.85 y 8.28. Se podría decir que en agua dulce el pH oscila desde 6,5 hasta 8,7; en lagos alcalinos con carbonato sódico es mayor de 9; cuando existen ácidos sulfúrico, húmicos se da hasta un pH de 3 (en suelos ricos en SH<sup>2</sup>). A pH menores de 3 o mayores de 9 pueden considerarse tóxicos para el protoplasma de plantas vasculares debido a las concentraciones de iones H<sup>+</sup> y OH<sup>-</sup> respectivamente. También se menciona que en suelos alcalinos pueden quedar inmovilizados los nutrientes como Mn<sup>+2</sup>, Fe<sup>+3</sup> o los fosfatos. Las bacterias prefieren aguas más alcalinas, los hongos aguas más ácidas y la algas cianofíceas desaparecen prácticamente a pH menor de 4. Por lo que estas aguas favorecen al crecimiento de microorganismos promoviendo la adsorción o la transformación de algunos compuestos debido a la actividad biológica dentro del suelo

**Cuadro 20. Resultados de pH, en las aguas utilizadas en los experimentos de cultivo de garbanzo de las tres regiones en estudio**

Agua	Querétaro	Bella Vista	El Salitre
	pH	pH	pH
muestra 1	8.16	8.32	7.88
muestra 2	8.18	8.26	7.85
muestra 3	8.19	8.25	7.83
<b>Media</b>	<b>8.18</b>	<b>Media</b>	<b>7.85</b>
<b>DSm</b>	<b>0.02</b>	<b>Dsm</b>	<b>0.03</b>
<b>CV %</b>	<b>1.55</b>	<b>CV%</b>	<b>1.68</b>

### Conductividad Eléctrica (CE)

La CE señala que las tres muestras de agua presentan características similares: Querétaro (0.37 mS/cm), Salitre Hgo (0.34 mS/cm) y Bella Vista (0.38 mS/cm) y clasificadas como aguas con efectos despreciables de salinidad (cuadro 21). Estos valores son importantes debido a que el aumento de la salinidad puede incrementar la movilización de metales y su retención por dos mecanismos. Primeramente, los cationes Na y K pueden reemplazar a metales pesados en lugares de intercambio catiónico.

**Cuadro 21. Resultados de la CE en las aguas utilizadas en los experimentos de cultivo de garbanzo de las tres regiones en estudio**

Agua	Querétaro	Bella Vista	El Salitre
	CE mS/cm		
muestra 1	0.37	0.38	0.35
muestra 2	0.38	0.37	0.34
muestra 3	0.37	0.38	0.34
<b>Media</b>	<b>0.37</b>	<b>0.38</b>	<b>0.34</b>
DSm	0.01	0.01	0.01
CV %	1.55	1.53	1.68

En una segunda fase, los aniones cloruro y sulfato pueden formar compuestos más estables con metales tales como Pb, Zn, Cu, Cd y Hg. Por otra parte, las sales normalmente dan pH alcalino. Los resultados de un estudio de sorción para este metaloide, se obtuvo que el arsénico se adsorbe cuando la incrustación en tuberías de agua es sometida a pH ácidos y tiempo de contacto de 6 horas. El arsénico se desprende de la incrustación bajo condiciones de pH alcalino (8.5)

### Potencial REDOX (Eh)

Los resultados para este parámetro dentro de las tres aguas en estudio mostraron ser moderadamente reductoras (Cuadro 22). Según los potenciales redox (Eh) clasifican como reductores intermedios, sin embargo entre los suelos de Bella Vista, Qro. y de Salitre en Hidalgo no hay diferencias significativas en este parámetro y sí con el suelo de Querétaro. Los valores de potencial redox (Eh), que definen el carácter oxidante o reductor asociado a los suelos, indican que las aguas evaluadas resultaron ser poco reductores. Este valor lo que puede promover que predomine el As<sup>5</sup> en la solución del suelo mientras la forma de As<sup>III</sup> es más abundante cuando el valor está por debajo de 500 mV (Masscheleyn, Delaune & Patrick, 1991). En otro estudio demostraron que las incrustaciones presentes en la red de distribución, podrían adsorber y desprender arsénico si cambian las condiciones redox de la red.

**Cuadro 22. Resultados de Eh, en las aguas utilizadas en los experimentos del cultivo de garbanzo de las tres regiones en estudio**

<b>Agua</b>	<b>Querétaro</b>	<b>Bella Vista</b>	<b>El Salitre</b>
	<b>Eh (mV)</b>		
muestra 1	-60.3	-69.3	-44.2
muestra 2	-61.1	-65.8	-42.2
muestra 3	-61.7	-65.2	-41.2
<b>Media</b>	<b>-61.03</b>	<b>-66.77</b>	<b>-42.53</b>
<b>DSm</b>	<b>0.70</b>	<b>2.21</b>	<b>1.53</b>
<b>CV %</b>	<b>1.15</b>	<b>3.32</b>	<b>3.59</b>

### Contenido de arsénico (As)

Como antecedente se reconocen los resultados de los análisis de agua de los pozos y distribuidor general que fueron reportados en un trabajo previo (Prieto *et al.*, 2005) y en todos los casos exceden al valor máximo permisible de As (0,025

mg·L<sup>-1</sup>). Esto se relaciona con lo encontrado en este estudio (cuadro 23), las concentraciones determinadas en agua de Querétaro demuestran que la cantidad de arsénico es muy inferior con respecto a los sitios localizados en el Salitre Hgo y Bella Vista. Salitre presenta el doble de concentración de arsénico (68.14 µg/L) como era de esperarse, en la realización de monitoreos en 1998, concluyeron de cerrar algunos pozos ya que presentaban concentraciones de hasta 1,5 mg/L<sup>-1</sup>.

**Cuadro 23. Resultados de la concentración de arsénico, en las aguas utilizadas en los experimentos del cultivo de garbanzo de las tres regiones en estudio**

Agua	Querétaro(-)	Bella Vista	El Salitre(+)
As µg/L			
muestra 1	2.719	46.486	66.205
muestra 2	2.643	44.659	68.444
muestra 3	2.267	45.064	69.785
<b>Media</b>	<b>2.54</b>	<b>45.40**</b>	<b>68.14**</b>
<b>DSm</b>	<b>0.24</b>	<b>0.96</b>	<b>1.81</b>
<b>CV %</b>	<b>9.52</b>	<b>2.11</b>	<b>2.65</b>

Diferencia significativa P<0.01\*\* Control negativo (-), Control positivo (+)

## IX.2.1 Contenido de arsénico en los lixiviados

### **1ª Etapa de desarrollo**

En el cuadro 24, se presenta el promedio de la concentración de As determinada de tres réplicas de los lixiviados obtenidos después del primer riego. Los suelos de el Salitre en Zimapán, Hgo, presentan altas concentraciones de arsénico como lo demostró Prieto *et al.* (2006) que además se menciona sobre los contenidos de este elemento durante el periodo marzo 92-marzo 93, confirmó que dichos pozos están contaminados con arsénico y que rebasan los límites

máximos permisibles por la Normativa Mexicana NOM-127-SSA1-1994. (0,010 mg.L<sup>-1</sup>)

El lixiviado del suelo de Bella Vista presenta una promedio en la concentración de 46.76 y cuando es lavado con agua de Querétaro disminuye la concentración (33.08) debido a que el agua de Querétaro presentó en estudios anteriores una concentración muy baja de arsénico, los lixiviados de los suelos de Querétaro presentan una diferencia comparado con las concentraciones de arsénico presentes para el suelo irrigado con agua contaminada con arseniatos, el valor fue de 48.92 µg/L y 5.38 µg/L respectivamente.

**Cuadro 24. Resultados de la concentración de arsénico en los lixiviados provenientes de los suelos de los seis experimentos de la 1ª etapa de desarrollo del Garbanzo.**

Lixiviado 1 <sup>a</sup> etapa	SZ/AZ	SZ/AQ	SBV/ABV	SBV/AQ	SQ/AC*	SQ/AQ**
	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L
muestra 1	128.12	60.96	45.93	31.25	48.67	5.48
muestra 2	133.09	76.44	50.31	34.24	48.92	5.88
muestra 3	115.68	73.99	41.45	33.74	49.16	5.88
<b>Media</b>	<b>125.63<sup>a</sup></b>	<b>70.46<sup>b</sup></b>	<b>45.90<sup>c,d</sup></b>	<b>33.08<sup>d</sup></b>	<b>48.92<sup>c</sup></b>	<b>5.75<sup>e</sup></b>
DSm	9.0	8.3	4.4	1.6	0.2	0.2
CV %	7.1	11.8	9.7	4.8	0.5	4.0

Letras diferentes, existe una diferencia significativa  $p > 0.05$ . Control positivo\*. Control negativo\*\*

## 2ª Etapa de desarrollo

Como antecedente se reconocen los resultados de los análisis de agua de los pozos y distribuidor general que fueron reportados en un trabajo previo (Prieto *et al.*, 2005) y en todos los casos exceden al valor máximo permisible de As (0,025 mg·L<sup>-1</sup>). Esto se relaciona con lo encontrado en este estudio (cuadro 25), las concentraciones determinadas en agua de Querétaro demuestran que la cantidad de arsénico es muy inferior con respecto a los sitios localizados en el Salitre Hgo y Bella Vista. Salitre presenta el doble de concentración de arsénico (68.14 µg/L )

como era de esperarse, en la realización de monitoreos en 1998, concluyeron de cerrar algunos pozos ya que presentaban concentraciones de hasta 1,5 mg/L<sup>1</sup>. Las características de la región y la génesis de los suelos difieren la textura, cantidad de materia orgánica, la flora y fauna constituyen elementos importantes para que existan diferencias en los contenidos de arsénico en los suelos (Waqar y col. 2009) de estas regiones las concentraciones de As tanto para los lixiviados

**Cuadro 25. Resultados de la concentración de arsénico en los lixiviados provenientes de los suelos de seis experimentos de la 2ª etapa de desarrollo del garbanzo**

Lixiviado 2ª etapa	SZ/AZ	SZ/AQ	SBV/ABV	SBV/AQ	SQ/AQC*	SQ/AQ**
	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L
muestra 1	150.5	125.1	98.3	81.3	153.6	41.1
muestra 2	144.4	125.5	91.5	85.4	165.1	34.4
muestra 3	145.4	135.2	94.8	95.3	158.3	44.2
<b>Media</b>	<b>146.8<sup>a</sup></b>	<b>128.6<sup>b</sup></b>	<b>94.8<sup>c</sup></b>	<b>87.4<sup>c</sup></b>	<b>159.0<sup>a</sup></b>	<b>39.9<sup>d</sup></b>
DSm	3.3	5.7	3.4	7.2	5.8	5.0
CV%	2.2	4.4	3.6	8.2	3.7	12.6

Letras diferentes diferencia significativa p>0.05. Control positivo\*. Control negativo\*\*

provenientes de SZ/AZ y SQ/AQC se presentaron 3 veces mayor a el grupo control SQ/AQ, los demás lixiviados también presentaron diferencias significativas (p<0.05 Dunnet) con respecto al grupo SQ/AQ. El comportamiento de de las concentraciones de As para cada experimento en sus distintas etapas varió.

### 3ª Etapa de desarrollo

Al evaluar los niveles de concentraciones de As en los lixiviados se llego a los resultados que se muestran en el cuadro 26, para cada experimento, al igual a la etapa II, la concentración es mayor en el experimento SZ/AZ. También se puede

observar que el valor del experimento SQ/AQC es el siguiente en cuanto a concentración importante de As y como era de esperarse.

**Cuadro 26 Resultados de la concentración de arsénico en los lixiviados provenientes de los suelos de los seis experimentos de la 3ª etapa de desarrollo del garbanzo**

Lixiviado 3ª etapa	SZ/AZ	SZ/AQ	SBV/ABV	SBV/AQ	SQ/AQC*	SQ/AQ**
	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L
muestra 1	137.346	147.453	115.563	55.326	152.53	22.128
muestra 2	135.232	142.331	110.234	65.325	155.436	25.126
muestra 3	134.391	144.391	104.391	64.965	157.327	23.132
<b>Media</b>	<b>135.7<sup>b</sup></b>	<b>144.7<sup>b</sup></b>	<b>110.1<sup>c</sup></b>	<b>61.9<sup>d</sup></b>	<b>155.1<sup>a</sup></b>	<b>23.5<sup>e</sup></b>
DSm	1.5	2.6	5.6	5.7	2.4	1.5
CV%	1.1	1.8	5.1	9.2	1.6	6.5

Letras diferentes diferencia significativa  $p > 0.05$ . Control positivo\*. Control negativo\*\*

#### 4ª Etapa de desarrollo

En la etapa IV, las concentraciones siguieron el mismo patrón en comparación con las etapas anteriores, solo el experimento marcado como SQ/AQC fue el que mayor concentración de As se determinó. La tendencia de los lixiviados durante estas etapas analizadas presentan un mismo comportamiento, las concentraciones varían en cada uno de ellos y entre cada etapa analizada pero los valores más altos los presentan los experimentos SZ/AZ Y SQ/AQC (cuadro 27). A diferencia del control negativo ( $24.8 \text{ As } \mu\text{g/L}^{-1}$ ). Con estos resultados se demuestra que no es recomendable la siembra de este cultivo en suelos de el Salitre en Zimapán debido a que los tejidos de estas plantas pueden transferir a la cadena alimentaria del ser humano al arsénico.

**Cuadro 27. Resultados de la concentración de arsénico en los lixiviados provenientes de los suelos de los seis experimentos de la 4ª etapa de desarrollo del garbanzo**

Lixiviado 4ª etapa	SZ/AZ	SZ/AQ	SBV/ABV	SBV/AQ	SQ/AQC*	SQ/AQ**
	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L
muestra 1	119.9	93.3	96.1	69.3	153.9	22.5
muestra 2	121.9	82.3	94.4	54.4	152.4	28.5
muestra 3	125.0	72.3	86.1	64.4	163.9	23.3
<b>Media</b>	<b>122.3<sup>b</sup></b>	<b>82.7<sup>c</sup></b>	<b>92.2<sup>c</sup></b>	<b>62.7<sup>d</sup></b>	<b>156.8<sup>a</sup></b>	<b>24.8<sup>e</sup></b>
DSm	2.5	10.5	5.3	7.6	6.3	3.2
CV%	2.1	12.7	5.8	12.1	4.0	13.0

Letras diferentes diferencia significativa  $p > 0.05$ . Control positivo\*. Control negativo\*\*

### 5ª Etapa de desarrollo

Esta etapa de desarrollo del garbanzo se caracterizó por dejar secar por completo la planta y obtener el fruto como parte final del desarrollo del garbanzo, al analizar los contenidos de Arsénico en los lixiviados se encontró un decremento en las concentraciones de As, a diferencia de la etapa anterior, Para el lixiviado SZ/AZ de la etapa 4, el valor fue de  $116.9 \pm 7.0$  comparado con el valor del mismo grupo pero en la 5ª etapa ( $104.1 \pm 5.9$ )  $p < 0.05$ . Así mismo para los diferentes grupos comparados con la etapa anterior se observó una disminución en las concentraciones de arsénico.

La concentración mas alta para esta etapa fue el grupo SQ/AQC\* ( $123.0 \pm 5.5$ ) como era de esperarse posteriormente le siguieron los lixiviados del grupo SZ/AZ >SBV/ABV>SZ/AQ >SBV/AQ y por último el grupo SQ/AQ ( $18.9 \pm 2.6$ ). Al aplicar el estadístico de Tukey, a los datos, se observó que el promedio de mayor valor fue el de SQ/AQC\* con una diferencia significativa con respecto al control SQ/AQ\*\*. Como se observa en el cuadro 28, letras similares no existe diferencia significativa  $p > 0.05$  y letras diferentes, hay diferencia entre los promedios  $p > 0.05$ .



**Cuadro 28. . Resultados de la concentración de arsénico en los lixiviados provenientes de los suelos de los seis experimentos de la 5ª etapa de desarrollo del garbanzo**

Lixiviado 5ª etapa	SZ/AZ	SZ/AQ	SBV/ABV	SBV/AQ	SQ/AQC*	SQ/AQ**
	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L	As µg/L
muestra 1	110.3	78.4	88.5	54.4	120.3	16.1
muestra 2	98.5	71.9	82.0	49.4	129.4	21.3
muestra 3	103.8	69.9	80.2	49.9	119.5	19.3
<b>Media</b>	<b>104.1<sup>b</sup></b>	<b>73.3<sup>c</sup></b>	<b>83.5<sup>c</sup></b>	<b>51.2<sup>d</sup></b>	<b>123.0<sup>a</sup></b>	<b>18.9<sup>e</sup></b>
DSm	5.9	4.4	4.3	2.7	5.5	2.6
CV%	5.7	6.0	5.2	5.3	4.4	13.8

Letras diferentes diferencia significativa  $p>0.05$ . Control positivo\*. Control negativo\*\*

### IX.3. Prueba de germinación en semillas de garbanzo (*Cicer arietinum* L).

A continuación se presenta en los resultados de las semillas de garbanzo (*C. arietinum*) que germinaron y la longitud alcanzada de la radícula por día. En el cuadro 29, se refiere a las semillas de garbanzo suministradas por el INIFAP de Celaya, Guanajuato y semillas no certificadas de grado comercial.

**Cuadro 29. Análisis de germinación y crecimiento radicular de las semillas de garbanzo certificado. *Cicer arietinum* Var Kabuli (noreste) INIFAP-Celaya, Guanajuato y no certificado. Entre paréntesis la desviación estándar**

Semilla de:	Long mm (1 día)	Long mm (2 día)	Long mm (3 día)	Long mm (4 día)	Long mm (5 día)	Long mm (6 día)
Var. Kabuli (noreste) INIFAP Celaya, Guanajuato	0.00	0.631 (0.059) <sup>a</sup>	1.526 (0.058) <sup>a</sup>	2.158 (0.088) <sup>a</sup>	2.658 (0.095) <sup>a</sup>	3.526 (0.121) <sup>a</sup>
Garbanzo no certificado	0.00	0.263 (0.045) <sup>b</sup>	1.000 (0.055) <sup>b</sup>	1.139 (0.095) <sup>b</sup>	1.447 (0.120) <sup>b</sup>	1.821 (0.148) <sup>b</sup>

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ( $p<0.05$ )

Como se puede apreciar existen diferencias importantes entre estas dos condiciones de semillas certificadas y no certificadas. Cuando se trata de semillas certificadas, 18 de 20 semillas (90%) germinan perfectamente y su raíz alcanza los

4 mm de longitud, aproximadamente al sexto día; en promedio alcanzaron 3.53 mm. Para semillas comerciales sólo 12 de 20 semillas germinaron (60%) y sus raíces alcanzaron tamaños entre 2.0 y 3.5 mm. En promedio alcanzaron 1.82 mm, es decir aproximadamente la mitad que en semillas certificadas. A partir de 10°C el garbanzo (*Cicer arietinum* L) es capaz de germinar, aunque la temperatura óptima de germinación oscila entre 25-35°C. Si las temperaturas son más bajas se incrementa el tiempo de la germinación. Para este caso la temperatura fue de 25°C, obteniéndose buenos resultados para el caso de la variedad Kabuli (Noralite), pues se observa que las semillas alcanzaron al cuarto día buena longitud en su raíz principal para que con ellas se puedan realizar estudios de genotoxicidad. Aunque algunas semillas lograron germinar tardíamente al final del sexto día murieron, las que germinaron alcanzaron buena longitud de raíz hasta el sexto día. Este comportamiento se atribuye fundamentalmente a diferencias genéticas, a las condiciones de maduración, tamaño de las semillas, intensidad de la dormancia, etc. (Sánchez et al. 2004). En la figura 8, se observa las dos semillas empleadas en este experimento y algunas plantas de garbanzo (*Cicer arietinum* L) desarrolladas.



**Figura 8. Germinación en una cámara de crecimiento (Biotronete, mark III) con condiciones de temperatura y fotoperiodo controlado**

#### **IX.4. Evaluación de la bioacumulación de arsénico por etapas crecimiento en la planta del garbanzo.**

##### ***1ª etapa de desarrollo del garbanzo.***

Otro problema es el de la ingestión de plantas de cultivo que se cosechan de sitios con antecedentes de actividad minera, ya que acumulan en sus tejidos algunos elementos tóxicos suelo y que al ser ingeridos en grandes cantidades por el ser humano, pueden provocar daños a la salud (Watanabe y Hirayama 2001). Algunos estudios mencionan que en suelos contaminados con arsénico pueden acumularse en plantas (Aguilar *et al.*2007). Como era de esperarse en el cuadro 30, se puede observar que la primera etapa de crecimiento del garbanzo (plántula de aproximadamente 2.5 cm + raíz) concentro As en promedio de 0.87 mg/kg cuando este se sembró en suelo del Salitre regado con agua de esta misma región y que además fue la que se presento con mayor concentración de As (726.71 mg/kg) También el suelo de esta misma zona pero irrigada con agua de Querétaro se encontró un promedio de 0.80 mg/kg de As. Posteriormente los valores encontrados para el suelo de Bella Vista (BV) irrigados con agua de BV y agua de Querétaro, tienden a presentar diferencia con respecto al grupo control (Suelo de Querétaro irrigado con agua Querétaro) con una concentración de 0.003 mg/kg de As, Esto corresponde al promedio encontrado para los suelos de Querétaro (0.013 mg/kg de As) y mientras que la concentración presente en la plántula de garbanzo en esta etapa para el suelo de Querétaro irrigado con agua contaminada con arseniatos ( $100 \text{ mg/L}^{-1}$ ) el valor comparado con el anteriormente mencionado fue dos veces mayor .

**Cuadro 30. Resultados de las concentraciones de arsénico en las la primer etapa de desarrollo (plántula de aproximadamente 2.5 cm + raíz de garbanzo sembrado en macetas con suelo de las tres regiones en estudio**

Partes de la planta	SZ/AZ	SZ/AQ	SBV/ABV	SBV/AQ	SQ/AC*	SQ/AQ**
	As mg/Kg					
muestra 1	0.84	0.82	0.59	0.63	0.56	0.003
muestra 2	0.95	0.81	0.59	0.66	0.48	0.002
muestra 3	0.81	0.79	0.65	0.72	0.48	0.003
<b>Media</b>	<b>0.87</b>	<b>0.80</b>	<b>0.61</b>	<b>0.67</b>	<b>0.50</b>	<b>0.003</b>
<b>Des. Est</b>	<b>0.074</b>	<b>0.016</b>	<b>0.034</b>	<b>0.044</b>	<b>0.047</b>	<b>0.0001</b>
<b>CV %</b>	<b>8.6</b>	<b>1.9</b>	<b>5.6</b>	<b>6.6</b>	<b>9.3</b>	<b>9.6</b>

Control positivo\*. Control negativo\*\*

## 2ª Etapa de desarrollo del garbanzo

La colecta de las plantas se siguió con el mismo intervalo que fue de 23 días después de la siembra y las concentraciones encontradas en raíz, tallo y hoja son expresadas como mg/Kg, los valores ese encuentran en el cuadro 31 para cada una de las partes durante la segunda etapa de crecimiento del garbanzo , asi como eln los resultados anteriores (etapa I) la raíz es la parte de la planta que bioacumula mayor concentración de As para todos los experimentos y el experimento SZ/AZ, fue el de mayor concentración, 7.97 mg/Kg, le siguió el SQ/AQC con 7.46 mg/Kg de As. Así mismo se identifica en la figura 8 el comportamiento de los diferentes experimentos realizados con garbanzo con los diferentes suelos. La concentración de As en las tres partes de la planta, en el control negativo, está hasta siete veces menos en comparación con las concentraciones más altas en raíz. Al parecer las plantas entre más tiempo estén

en contacto con el As tienden a bioacumular hasta llegar a una concentración tope.

**Cuadro 31. Resultados de las concentraciones de arsénico en raíz, tallo y hoja de garbanzo de la segunda etapa de desarrollo.**

Partes de la planta	SZ/AZ	SZ/AQ	SBV/ABV	SBV/AQ	SQ/AQC*	SQ/AQ**
	As mg/Kg					
<b>Raíz</b>	<b>7.97±0.58</b>	<b>7.23±0.40</b>	<b>4.50±0.96</b>	<b>6.84±0.76</b>	<b>7.46±0.10</b>	<b>0.059±0.00</b>
CV%	7.3	21.9	1.9	5.6	30.2	28.7
<b>Tallo</b>	<b>5.88±1.29</b>	<b>5.95±1.80</b>	<b>3.42±2.29</b>	<b>4.43±1.90</b>	<b>5.99±0.55</b>	<b>0.016±0.00</b>
CV%	21.3	66.9	42.3	11.2	42.8	35.8
<b>Hoja</b>	<b>2.25±0.04</b>	<b>4.20±1.21</b>	<b>2.34±0.99</b>	<b>4.83±1.73</b>	<b>6.55±0.67</b>	<b>0.077±0.05</b>
CV%	1.4	9.2	10.3	96.1	46.1	75.3

Control positivo\*. Control negativo\*\*

En la primer etapa en el experimento SZ/AZ la raíz presento una concentración de 0.84 mg/Kg de As para la segunda etapa esta incremento a 7.97 mg/kg de As, la tercera etapa fue de 28.2 mg/Kg y en la cuarta etapa de 26.7 mg/kg, la cantidad o el aporte que provee el agua de riego de cada región magnifica la cantidad de As encontrado en cada parte de la planta de garbanzo.

### **3ª Etapa de desarrollo del garbanzo**

En el cuadro 32, nos presenta las concentraciones de As en las diferentes partes del garbanzo durante la colecta de la 3ª etapa. En esta etapa la concentración más elevada fue la del experimento SQ/AQC con un valor de 32.1 mg/Kg en raíz y el valor en tallo de 34.8 mg/Kg mientras que el control negativo se mantuvo en un valor ocho veces menor.

**Cuadro 32. Resultados de las concentraciones de arsénico en raíz, tallo y hoja de garbanzo de la tercera etapa de desarrollo.**

Partes de la planta	SZ/AZ	SZ/AQ	SBV/ABV	SBV/AQ	SQ/AQC *	SQ/AQ **
	As mg/Kg					
<b>Raíz</b>	<b>28.2±2.3</b>	<b>13.4±0.7</b>	<b>24.2±1.8</b>	<b>22.6±1.5</b>	<b>32.1±1.1</b>	<b>0.012±0.1</b>
CV%	8.1	5.5	7.3	6.49	3.35	4.63
<b>Tallo</b>	<b>19.5±1.7</b>	<b>0.4.9±0.3</b>	<b>24.3±1.5</b>	<b>11.5±0.9</b>	<b>34.8±0.6.9</b>	<b>0.012±0.1</b>
CV%	9.0	5.7	6.350	7.95	9.34	8.23
<b>Hoja</b>	<b>48.7±4.4</b>	<b>0.9.4±0.6</b>	<b>25.8±2.5</b>	<b>18.5±1.0</b>	<b>27.4±3.4</b>	<b>0.015±0.1</b>
CV%	9.0	6.7	9.6	5.2	6.6	6.8

Control positivo \* Control negativo \*\*

#### **4ª etapa de desarrollo del garbanzo**

Los resultados para la etapa IV del cuadro 33, el valor del experimento SQ/AQC fue menor a la etapa III, y si observamos en los demás experimentos de esta etapa, paso lo mismo las concentración de As disminuyo lo que podría sugerirse que la planta pudiera estar activando un mecanismo de defensa y pueda lograr eliminar el As de sus tejidos.

**Cuadro 33. Resultados de las concentraciones de arsénico en raíz, tallo y hoja de garbanzo de la IV etapa de desarrollo**

Partes de la planta	SZ/AZ	SZ/AQ	SBV/ABV	SBV/AQ	SQ/AQC *	SQ/AQ **
	As mg/Kg					
<b>Raíz</b>	<b>32.9 ± 3.5</b>	<b>27.4 ± 2.4</b>	<b>12.7 ± 0.4</b>	<b>8.6 ± 0.6</b>	<b>32.3 ± 2.0</b>	<b>0.12 ± 0.1</b>
CV%	10.50	8.81	3.01	7.27		9.45
<b>Tallo</b>	<b>9.0 ± 0.2</b>	<b>8.3 ± 0.9</b>	<b>7.0 ± 0.2</b>	<b>5.3 ± 0.4</b>	<b>11.6 ± 1.1</b>	<b>0.13 ± 0.1</b>
CV%	2.56	10.74	2.72	6.62	9.72	9.55
<b>Hoja</b>	<b>15.8 ± 1.2</b>	<b>10.3 ± 1.0</b>	<b>8.9 ± 0.6</b>	<b>7.2 ± 1.0</b>	<b>20.8 ± 0.5</b>	<b>0.17 ± 0.1</b>
CV%	7.59	9.62	6.31	13.45	2.34	7.29

Control positivo \* Control negativo\*\*

### 5ª etapa de desarrollo del garbanzo

En esta etapa la planta está completamente seca para posteriormente ser cosechada, se obtuvieron además de la raíz, tallo y hoja y la vaina que reviste al grano. Los resultados se presentan en la tabla 34. Se puede observar el que dentro de los grupos experimentales las plantas que crecieron en el suelo **SZ/AQ** presentaron los valores más altos de arsénico ( $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ) en cuanto se refiere a la raíz  $34.7\pm 2.2$  y **SQ/AQC\*** ( $27.9\pm 2.1$ ), mientras que el valor del fruto en el experimento SZ/AZ ( $20.0\pm 2.1$ ) fue un dato importante debido a que esta parte de la planta está incluida dentro de la dieta humana y que podría ser una entrada a la cadena alimentaria, sin embargo para los demás grupos experimentales solo el grupo SBV/AQ, resultó con un valor cercano al encontrado en SZ/AZ. La parte de la planta con una concentración importante fue la hoja, los valores se encontraron en el siguiente orden **SQ/AQC \* > SZ/AQ > SBV/AQ > SZ/AZ > SBV/ABV > SQ/AQ** \*\*. Esta parte de la planta es utilizada como forraje por lo que es una fuente importante de entrada de As en los tejidos de animales domésticos, y como consecuencia sus posibles repercusiones en el ser humano al consumir productos de estos animales.

**Cuadro 34. Resultados de las concentraciones de arsénico en raíz, tallo, hoja y vaina de la 5ª etapa de desarrollo del garbanzo**

Partes de la planta	SZ/AZ	SZ/AQ	SBV/ABV	SBV/AQ	SQ/AQC *	SQ/AQ **
	As mg/Kg					
<b>Raíz</b>	<b>24.0 ± 2.0</b>	<b>34.7 ± 2.2</b>	<b>13.5 ± 1.3</b>	<b>8.8 ± 0.6</b>	<b>27.9 ± 2.1</b>	<b>0.9 ± 0.1</b>
CV%	8.2	6.4	9.4	7.1	7.4	6
<b>Tallo</b>	<b>7.8 ± 0.7</b>	<b>7.7 ± 0.4</b>	<b>2.2 ± 0.1</b>	<b>0.7 ± 0.1</b>	<b>12.3 ± 0.8</b>	<b>1.3 ± 0.1</b>
CV%	9.1	5.5	3.5	8.9	6.8	4.30
<b>Hoja</b>	<b>13.4 ± 1.5</b>	<b>19.6 ± 2.3</b>	<b>6.0 ± 0.1</b>	<b>7.1 ± 1.8</b>	<b>27.1 ± 2.2</b>	<b>1.4 ± 0.1</b>
CV%	11.5	11.5	1.8	10.8	8	2.5
<b>Grano</b>	<b>20.0 ± 2.1</b>	<b>2.0 ± 0.1</b>	<b>3.3 ± 0.3</b>	<b>0.8 ± 0.1</b>	<b>16.0 ± 1.4</b>	<b>0.8 ± 0.1</b>
CV%	10.5	4.3	10	8.7	7	12.5
<b>Vaina</b>	<b>0.7 ± 0.1</b>	<b>0.8 ± 0.01</b>	<b>1.2 ± 0.1</b>	<b>1.1 ± 0.1</b>	<b>1.1 ± 0.1</b>	<b>0.01 ± 0.001</b>
CV%	9.1	1.25	11.2	9.0	5.3	10

Control positivo\*. Control negativo\*\*

## **IX.5. Índices de bioacumulación de arsénico en los diferentes órganos por etapas de crecimiento en garbanzo (*C. arietinum*)**

A continuación se presenta el cuadro 35 de los índices de bioacumulación (IBA) para cada experimento durante el desarrollo del garbanzo. Durante la primera etapa que consistió de la colecta de cada grupo experimental (plántula de aproximadamente 2.5 cm + raíz) y se observó que el índice más alto se encontró en el experimento suelo de Querétaro irrigado con agua contaminada con arseniatos SQ/AQC\* (72.5). Este valor demuestra que el agua incide en que esta parte de la planta se encuentra en contacto directo con la solución del suelo permitiendo que el arsénico se encuentre disponible para que sea absorbido por la raíz, además la característica física de los suelos puede permitir el intercambio entre la raíz y el arsénico (López 2009). Los análisis de textura mostraron que los suelos del sitio Querétaro, se encuentran clasificados como arcillosos y que tal vez esta propiedad permita ver esta diferencia si lo comparamos con el experimento SQ/AQ donde el índice fue de (0.2) tanto el suelo como el agua no contenía concentraciones elevadas de arsénico, (0.012 mg/kg y 0.002mg/L<sup>-1</sup>) razón por la cual se determinó este sitio como control negativo.

Mientras que los grupos experimentales SBV/ABV y SBV/AQ para esta etapa se determinaron valores muy similares a índice de bioacumulación y más altos que los grupos de Zimapán donde se debería esperar lo contrario, pues las concentraciones de As en agua y suelos fueron las más altas (0.068mg/L<sup>-1</sup> y 0.726 mg/kg) respectivamente. Las características de los suelos de Bella Vista permitieron que el arsénico estuviera más disponible, y cabe recordar que el suelo más apropiado para el cultivo del garbanzo tiende a ser con mayor cantidad de arena y bien aireados (Riaz *et al.* 2010) al comparar los suelos del Salitre en Zimapán (arcillosos/arenosos) y Bella Vista del Río, los primeros tienen un porcentaje mayor (40.89) y en menor proporción los segundos (18.96) y de esta forma las mejores condiciones tanto para las plantas como para la especie de arsénico presente sería la gran diferencia de la disponibilidad. El grupo experimental (SQ/AQC) suelo de Querétaro irrigado con agua intencionalmente



contaminada con arseniatos  $100\text{mg/L}^{-1}$ , presento el índice de bioacumulación mas alto, como era de esperarse aunque es un suelo con concentraciones de  $12.67\ \mu\text{g/kg}^{-1}$  el más bajo en comparación con los otros dos sitios, El agua contaminada y las características físicas del suelo promovieron que el (IBA) fuera importante en esta etapa de desarrollo del garbanzo.

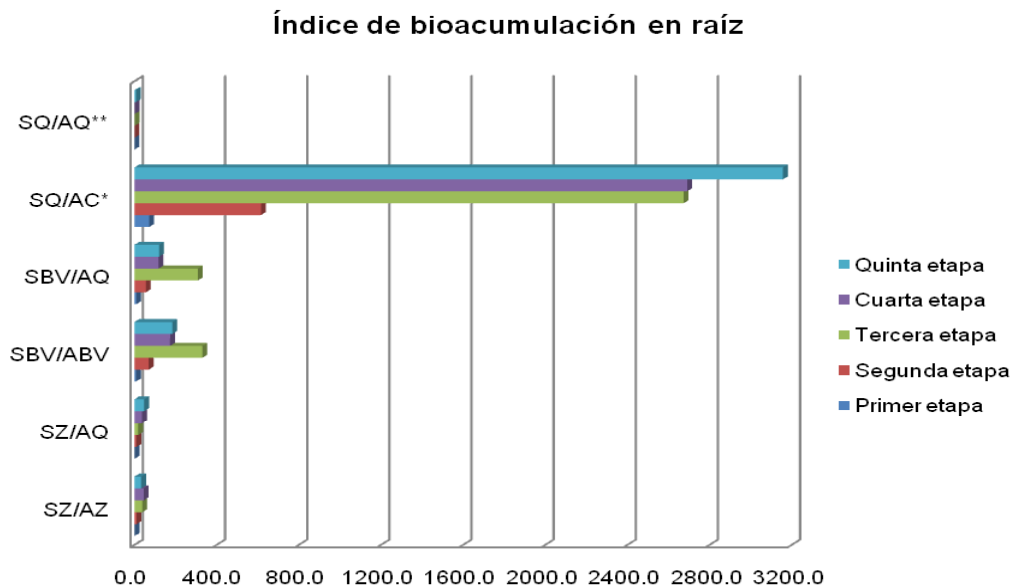
**Cuadro 35. Índice de bioacumulación (IBA) de los diferentes órganos del garbanzo en los seis grupos experimentales durante las diferentes etapas de desarrollo.**

Partes de la planta	As mg/Kg					
	SZ/AZ	SZ/AQ	SBV/ABV	SBV/AQ	SQ/AC*	SQ/AQ**
<b>1ª etapa</b>						
<b>Raíz</b>	$1.1 \pm 0.07$	$1.1 \pm 0.01$	$8.3 \pm 0.3$	$9.1 \pm 0.04$	$72.5 \pm 0.01$	$0.2 \pm 0.003$
<b>2ª etapa</b>						
<b>Raíz</b>	$10.8 \pm 0.6$	$9.9 \pm 0.4$	$69.8 \pm 1.2$	$56.1 \pm 0.29$	$616.6 \pm 1.1$	$0.80 \pm 0.04$
<b>Tallo</b>	$3.0 \pm 0.4$	$3.5 \pm 0.5$	$16.4 \pm 1.2$	$31.5 \pm 0.35$	$491.6 \pm 0.9$	$0.91 \pm 0.03$
<b>Hoja</b>	$10.1 \pm 0.2$	$7.0 \pm 0.5$	$45.2 \pm 0.2$	$43.8 \pm 0.2$	$541.6 \pm 1.1$	$0.83 \pm 0.03$
<b>3ª etapa</b>						
<b>Raíz</b>	$38.8 \pm 2.3$	$18.4 \pm 0.7$	$333.0 \pm 1.8$	$309.5 \pm 1.5$	$2675 \pm 1.1$	$1.0 \pm 0.01$
<b>Tallo</b>	$26.8 \pm 1.7$	$6.74 \pm 0.03$	$332.0 \pm 1.5$	$157.5 \pm 0.9$	$2066 \pm 0.6$	$1.0 \pm 0.01$
<b>Hoja</b>	$67.0 \pm 4.4$	$12.9 \pm 0.6$	$353.4 \pm 2.5$	$253.4 \pm 1.0$	$2283 \pm 3.4$	$1.2 \pm 0.01$
<b>4ª etapa</b>						
<b>Raíz</b>	$45.3 \pm 3.5$	$37.7 \pm 2.4$	$173.9 \pm 0.4$	$117.8 \pm 0.6$	$2691 \pm 2.0$	$1.00 \pm 0.01$
<b>Tallo</b>	$12.3 \pm 0.2$	$11.4 \pm 0.9$	$95.8 \pm 0.2$	$72.6 \pm 0.4$	$966 \pm 1.1$	$1.08 \pm 0.01$
<b>Hoja</b>	$21.7 \pm 1.2$	$14.1 \pm 1.0$	$121.9 \pm 1.0$	$98.6 \pm 1.0$	$1733 \pm 0.5$	$1.41 \pm 0.01$
<b>5ª etapa</b>						
<b>Raíz</b>	$30.0 \pm 2.0$	$47.7 \pm 2.2$	$184.9 \pm 1.3$	$120.5 \pm 0.6$	$3158 \pm 2.1$	$7.5 \pm 0.01$
<b>Tallo</b>	$10.0 \pm 0.7$	$10.6 \pm 0.4$	$30.1 \pm 0.1$	$9.5 \pm 0.1$	$1858 \pm 1.8$	$10.8 \pm 0.01$
<b>Hoja</b>	$18.0 \pm 1.5$	$26.9 \pm 2.3$	$82.1 \pm 0.1$	$97.2 \pm 1.8$	$3091 \pm 2.2$	$11.6 \pm 1.01$
<b>Vaina</b>	$0.7 \pm 0.1$	$0.8 \pm 0.01$	$1.2 \pm 0.1$	$1.1 \pm 0.1$	$91.1 \pm 0.1$	$3.3 \pm 0.01$
<b>Grano</b>	$27 \pm 0.1$	$2.7 \pm 0.7$	$45.2 \pm 0.1$	$10.9 \pm 1.1$	$133.3 \pm 1.0$	$4.2 \pm 0.01$

En la segunda etapa se puede observar que los IBA son más elevados, se encontraron en la raíz para cinco grupos experimentales en comparación con el grupo control negativo (SQ/AQ) debido a que la células de la raíz se encuentran

en contacto directo con la solución del suelo. Según Cabezas *et al.* (2004), la absorción de metales por la planta aumenta al incrementarse la concentración total de metales en suelos, hasta que alcanza un valor máximo o umbral a partir del cual la planta no responde a mayores aplicaciones, pero si comparamos los valores de As de los distintos suelos el de (SZ/AZ) el del grupo experimental SBV/ABV resulto que este último, el IBA, fue más elevado, y tal vez la textura y cantidad de materia orgánica entre otros factores influyeron en la disponibilidad del As. Además se sabe que una gran cantidad de plantas tienen la habilidad de acumular, absorber, translocar sustancias y metales dentro de sus tejidos (Ernst *et al.*, 1992, Lasat 2000). En la figura 9 se resume el IBA durante todas las etapas de desarrollo del garbanzo en correspondencia con cada grupo experimental, se distingue el valor más alto las raíces que estuvieron expuestas al grupo SQ/AQC\*, ( $3158 \pm 2.1$ ) en la quinta etapa de desarrollo de la planta como era de esperarse (Callejas 2005) que fue el control positivo y le siguió SBV/ABV y SBV/AQ. Las características de los suelos de Bella Vista permitieron que el permitieron que el As estuviera más disponible.

El control negativo como se puede observar en la figura 9 el valor más alto del IAB se encontró de ( $7.5 \pm 0.01$ ) lo que sugiere que el consumo de la raíz por el ganado no provoca riesgos a la cadena alimentaria (Bergmann, 1993), por su bajo contenido de As en estos suelos sin embargo al agregarle agua contaminada con As como se observó para el grupo SQ/AQC\*, si existe este riesgo. Por lo general, la absorción de Hg desde el suelo a las plantas es baja, constituyéndose en una barrera para la traslocación desde las raíces a las partes aéreas de las plantas (Patra y Sharma, 2000)



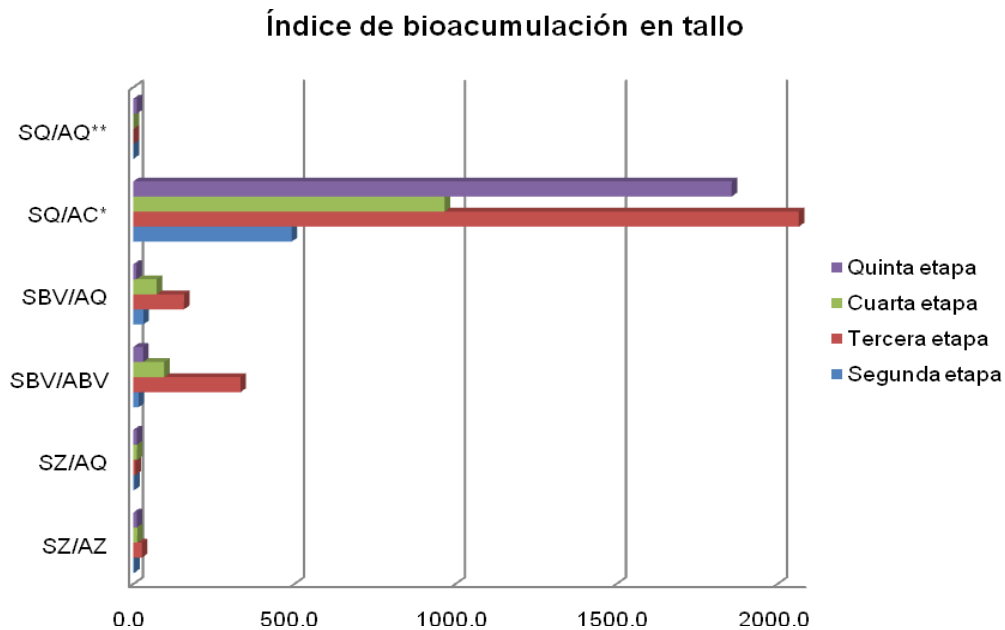
**Figura 9. Índice de bioacumulación en raíz de garbanzo por etapa de desarrollo para los seis grupos experimentales**

La figura 10 se presentan los IBA del tallo para los seis grupos experimentales la tendencia de los valores se observa bien acentuada para el grupo experimental SQ/AQC\* durante la tercera etapa de desarrollo de la planta, durante la cuarta etapa el IBA disminuyo casi un 50% y esto pudiera deberse a la capacidad de las plantas a tender a detoxificarse por algún mecanismo todavía poco estudiado (Alonso-Castro *et al.* 2009).

También se menciona en algunos trabajos que las plantas pueden liberar exudados, evapotranspiración o por la volatilización e incluso las plantas lo concentran en las hojas para después dejar caerlas al suelo como una medida en contra de plagas por insectos o patógenos.

Suñe *et al.* (2007) En su trabajo observó que los mecanismos de acumulación de metales en plantas , todavía no se describen a profundidad, en su estudio se demostró con plantas acuáticas en la bioacumulación del cromo (Cr) y cadmio (Cd) que en diferentes etapas de desarrollo de la planta *Pistia stratiotes* y *Salvinia*

*herzogii* están envueltos dos procesos para la acumulación de estos metales, lo que los llamo fase rápida y fase lenta durante sus experimentos.



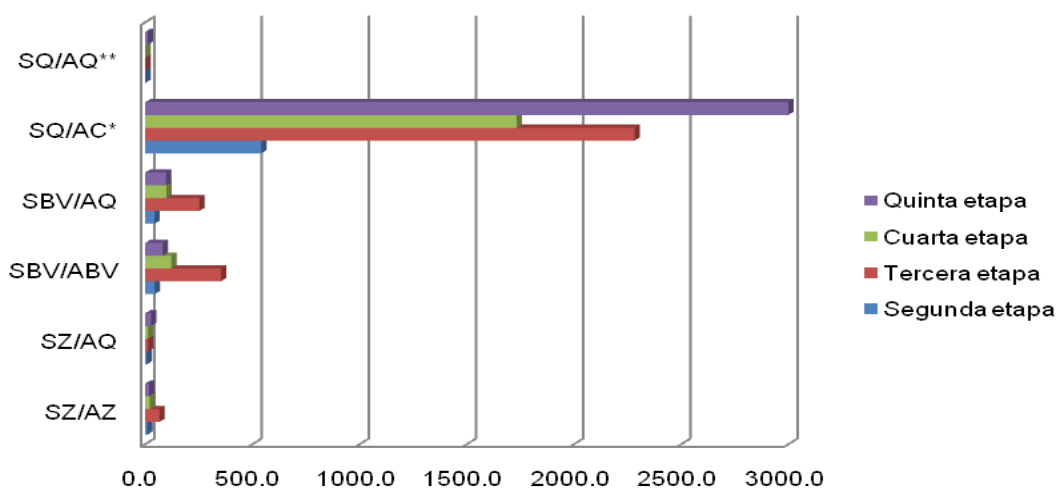
**Figura 10. Índice de bioacumulación en tallo de garbanzo por etapa de desarrollo para los seis grupos experimentales**

Si se compara lo observado en la siguiente figura 11 los valores promedio (IBA) para las hojas se encuentra una gran diferencia debido a que el As no se almacena en su totalidad en el tallo ya que esta parte de la planta posee los tejidos de conducción, xilema y floema (Cambell *et al.* 2001) su constitución es meramente la de conducir los nutrientes provenientes de las raíces a diferencia de los tejidos de las hojas, pues en este órgano se encuentran tejidos de almacenamiento como el parénquima esponjoso lo que permite mayor área de alojamiento del As.

Los IBA se de mayor valor se observaron para el grupo experimental SQ/AQC\* en la quinta etapa de desarrollo. En todas las etapas analizadas para el grupo SQ/AQC\* la acumulación de As provino del agua contaminada con arseniatos y no

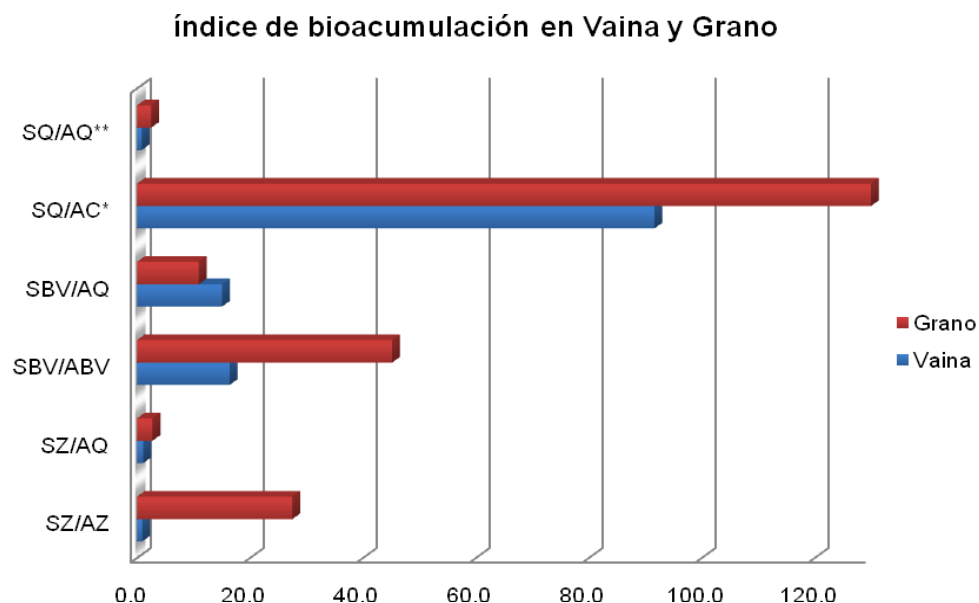
tanto del suelo, mientras que para los otros grupos como el de SZ/AZ y SZ/AQ, los IBA están muy cercanos lo que hace suponer que la concentración de As en el suelo no fue lo suficientemente disponible para presentar valores más elevados que el grupo SBV.

### Índice de bioacumulación en hoja



### etapa de desarrollo para los seis grupos experimentales

Para el caso del grano y vaina, se puede observar en la figura 12 los IBA para cada grupo experimental y se puede mencionar que el grupo SQ/AQC\* tanto el grano como vaina presentaron valores de  $(133.3 \pm 1.0)$  y  $(91.1 \pm 0.1)$  respectivamente estos resultados rebasan el límite propuesto de As en alimentos en el Reino Unido (normas indican un límite general de 1 mg/kg del total de arsénico en los alimentos y un límite específico de 0,1 mg/kg, La India estableció NM para el total de arsénico en muchos alimentos, con disposiciones del Reglamento 8.1.1 (1) que van de 0,05 mg/l (ppm) para las leches para lactantes, hasta 5 mg/kg para las hierbas secas y las especias, así como para los colorantes secos para alimentos distintos de los colorante sintéticos, la riboflavina (Comisión del Codex Alimentarius 2011). Aunque no existe un margen de la cantidad de As en algunos alimentos.



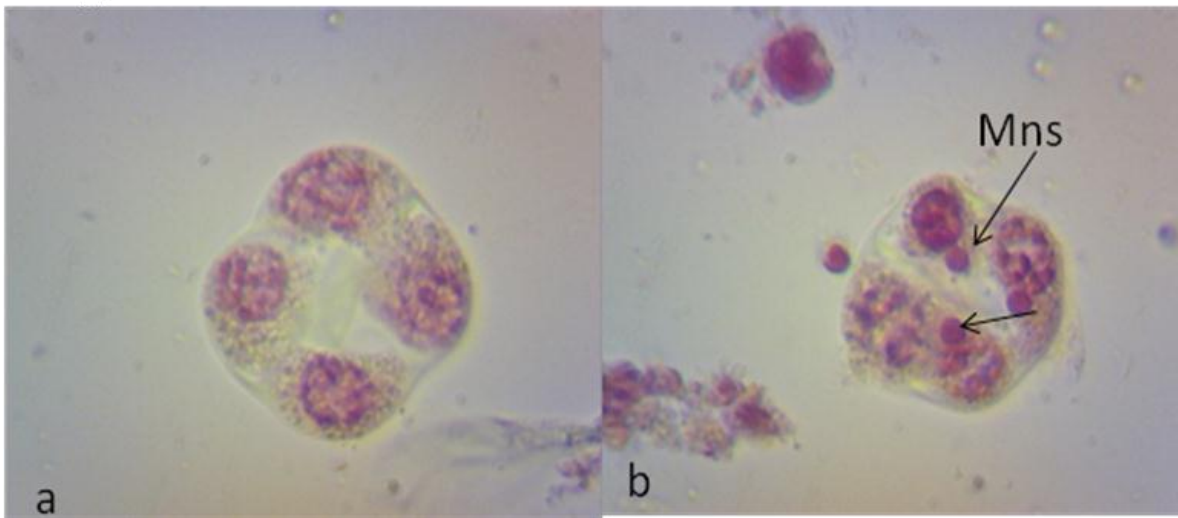
**Figura 12. Índice de bioacumulación en vaina y grano en la quinta etapa de desarrollo para los seis grupos experimentales**

Los grupos experimentales SBV también presentaron valores elevados ( $45.2 \pm 0.1$  y  $10.9 \pm 1.1$ ) el primero dos veces mayor que el grupo SZ/AZ por lo que se puede deducir que para el sitio Bella Vista, no es conveniente o un riesgo de ingerir dentro de la dieta diaria el garbanzo se tendrán que establecer estrategias de obtención de granos como lo es la siembra en invernaderos con sustratos diferentes al suelo de esa región lo mismo se podría comentar del sitio del Salitre en Zimapan.

## IX.6. Bioensayos para determinar el efecto genotóxico del arsénico

### IX.6.1. Inducción de Micronúcleos por los lixiviados (TRAD-MCN)

En esta parte del estudio se analizó la actividad genotóxica de los lixiviados, por medio de la observación de micronúcleos figura (17). Existen antecedentes que mencionan que suelos pueden contener compuestos genotóxicos como es el caso del estudio realizado por Lah *et al.* (2008) encontrando un incremento en la frecuencia de micronúcleos en *Tradescantia* clon 4430 al exponer cortes de esta planta a lixiviados provenientes de suelos contaminados con metales pesados demostrando que este bioensayo es sensible a concentraciones traza.



La figura 13. Microfotografía de una tétrada normal(a) y una con micronúcleos (b) observada a magnificación 40X

Los resultados encontrados en cuanto a la genotoxicidad de los lixiviados de los suelos de los tres sitios en estudio. Como se puede observar en el cuadro (34) el lixiviado **SQ/ AQ** se tomo como control negativo, debido a que el agua de este sitio, la concentración de (As) está por debajo del límite permisible establecido por la NOM-127-SSA1-1994. Presentando valores en todas las etapas analizadas un valor de  $1.2 \pm 0.21$  a  $1.6 \pm 0.34$  micronúcleos, le siguió el **SZ/AZ** con  $10.7 \pm 2.5$  a  $7.1 \pm 0.21$  presentando una diferencia significativa  $P < 0.01$  con respecto al control

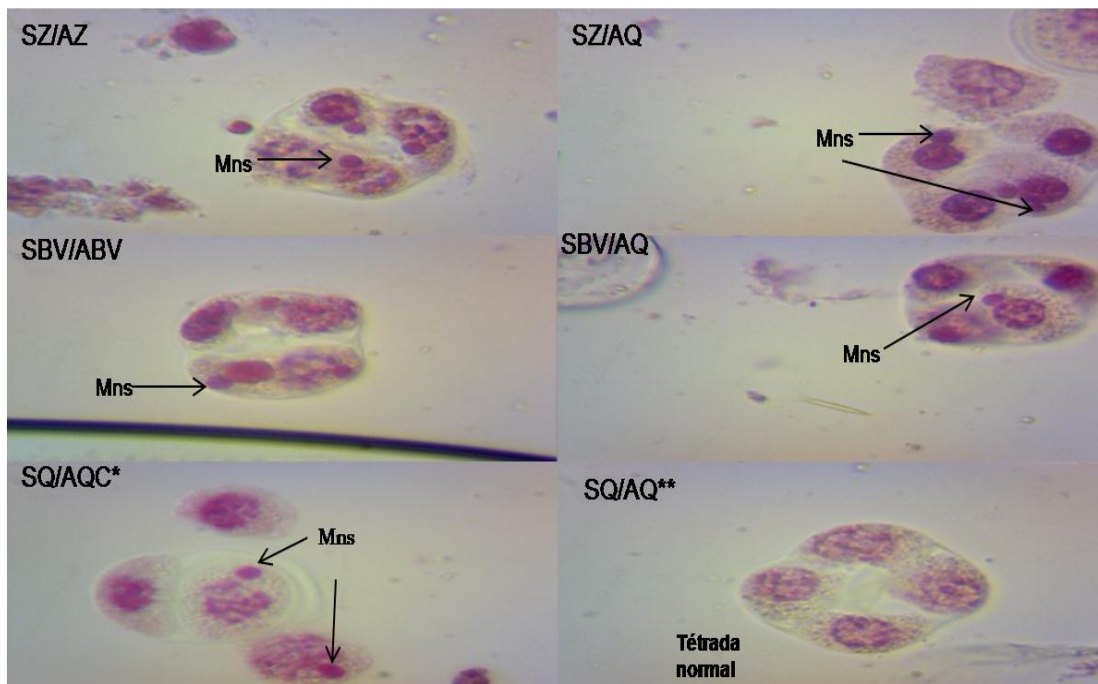
esta diferencia mostrada en la frecuencia de micronúcleos se le atribuye a la concentración de arseniatos agregada al suelo y la ya existente, Estos suelos presentaron la mayor concentración (726.71  $\mu\text{g}/\text{kg}$  As) y debido a esto se podría decir que el lixiviado que más daño provocó fue el de **SZ/AQ**, que corresponde con lo analizado en un estudio realizado por Prieto *et al.*(2006), encontró que el número de MNs encontrados en las muestras control y experimentales de las aguas de Zimapán, presentaron diferencias significativas en células del meristemo apical de Vicia faba. Por último los lixiviados provenientes de los suelos de Bella Vista SBV/ABV, se encontró que este presentó daño genotóxico con una frecuencia  $5.9 \pm 0.80$  a  $7.0 \pm 0.83$  y el de SBV/AQ con un valor de  $5.2 \pm 0.57$  a  $6.0 \pm 0.65$ , entre estos dos lixiviados no se presentó diferencia significativa  $P > 0.05$ , pero si con respecto al grupo control SQ/AQ,  $P < 0.01$ , los valores encontrados de arsénico (73.25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) para este sitio estuvieron diez veces menor comparado al encontrado en suelo del Salitre Hgo. En la figura 18 se observan micronúcleos para cada grupo experimental

**Cuadro 36. Resultados de la frecuencia de micronúcleos/100 tétradas, expuestos a lixiviados de suelos de Querétaro, Qro., Salitre Hgo. y Bella Vista Qro**

Lixiviado	Trad-MCN/100tétradas				
	1ª Etapa	2ª Etapa	3ª Etapa	4ª Etapa	5ª Etapa
	X $\pm$ DSm	X $\pm$ DSm	X $\pm$ DSm	X $\pm$ DSm	X $\pm$ DSm
<b>SZ/AZ</b>	7.1 $\pm$ 0.21**	10.7 $\pm$ 2.5**	9.2 $\pm$ 1.5**	7.2 $\pm$ 0.76**	10.8 $\pm$ 1.1**
<b>SZ/AQ</b>	4.8 $\pm$ 0.33**	7.0 $\pm$ 0.25**	7.5 $\pm$ 0.29**	6.4 $\pm$ 0.59**	8.8 $\pm$ 0.67**
<b>SBV/ABV</b>	5.9 $\pm$ 0.80**	7.0 $\pm$ 0.83**	6.7 $\pm$ 0.85**	6.6 $\pm$ 0.55**	7.2 $\pm$ 0.75**
<b>SBV/AQ</b>	5.2 $\pm$ 0.57**	5.2 $\pm$ 0.10**	5.4 $\pm$ 0.45**	6.0 $\pm$ 0.65**	6.9 $\pm$ 0.87**
<b>SQ/AQC</b>	4.5 $\pm$ 0.37**	9.5 $\pm$ 1.03**	8.9 $\pm$ 0.61**	8.0 $\pm$ 0.35**	10.9 $\pm$ 0.89**
<b>SQ/AQ</b>	1.6 $\pm$ 0.34	1.2 $\pm$ 0.21	1.3 $\pm$ 0.10	1.5 $\pm$ 0.06	1.6 $\pm$ 0.2

Diferencias significativas  $P < 0.01$





**Figura 14. Microfotografías que muestran las tétradas y micronúcleos de *Tradescantia* clon 4430 expuestos a los lixiviados provenientes de los suelos en estudio (Observados a aumento 40X)**

### **IX.6.2 Inducción de mutaciones en pelos estaminales por los lixiviados (TRAS-MPE).**

La prueba de inducción de mutaciones en pelos estaminales de *Tradescantia* se basa en el conteo de células que poseen una coloración rosa que se expresa como un gen recesivo a diferencia de la coloración azul gen dominante entre el promedio de pelos analizados (figura 15). En estudios realizados por (Gichner et al 1980; Rodríguez et al. 1997) se ha encontrado que el pico de la frecuencia de mutaciones es entre el 9o. y 14o. día, razón por la cual los conteos se hicieron cada tercer día a partir del séptimo y terminando el decimocuarto día, las células mutantes que ocurren durante el desarrollo temprano de los pelos estaminales se pueden dividir repetidamente y dar origen a una secuencia de células con pigmentación rosa, que se originan de una célula alterada ha sido utilizada en una gran variedad de experimentos figura 20.



Figura 15. Pelos estaminales con el color dominante azul

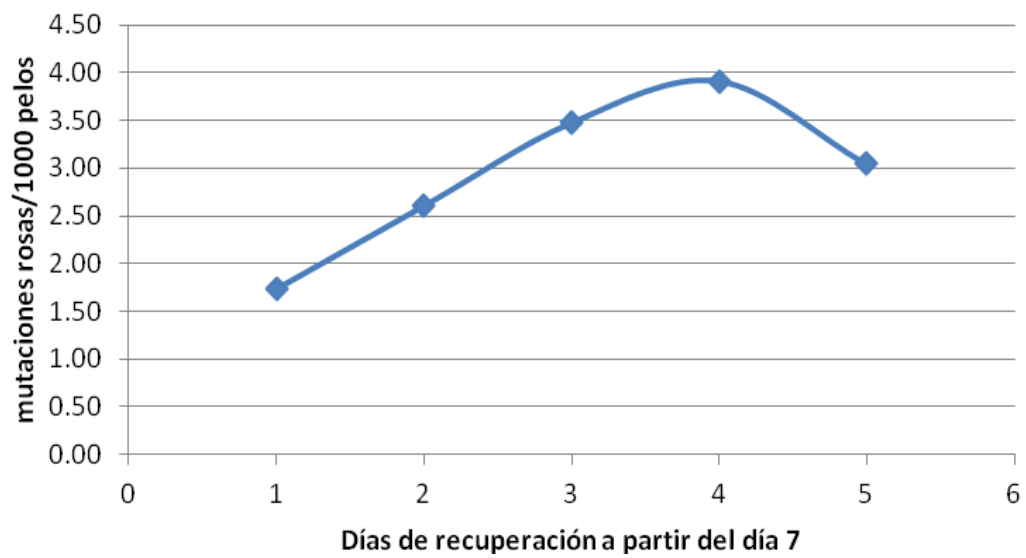
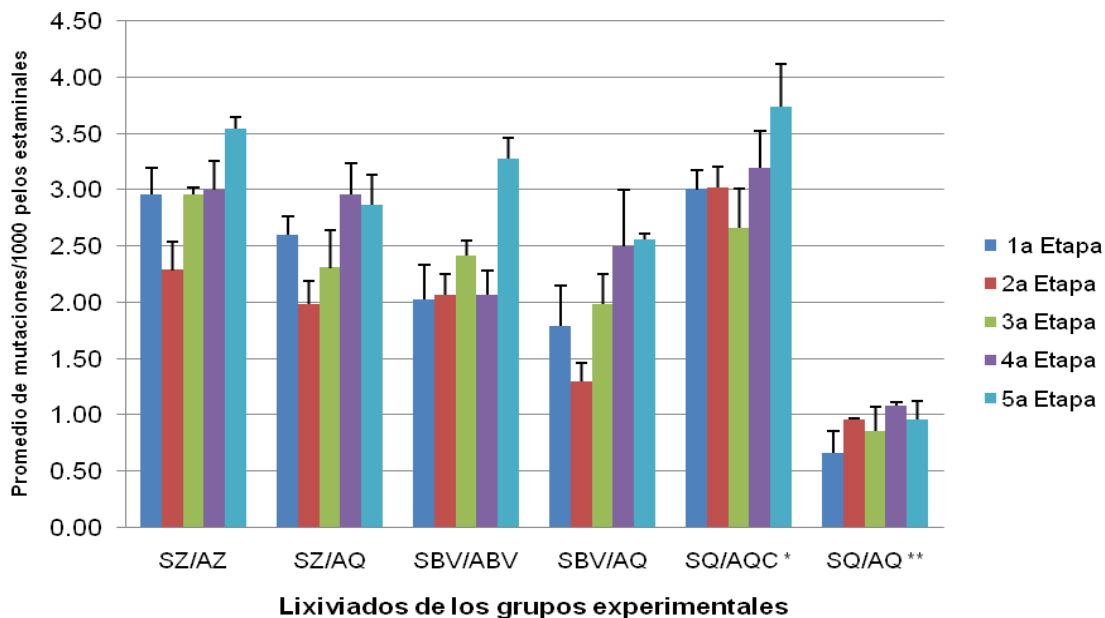


Figura 16. Aparición de mutaciones al 7<sup>o</sup> día de haber iniciado los experimentos. El valor más alto se presenta entre el 13<sup>o</sup> y 15<sup>o</sup> día (Gichner *et al.* 1980).

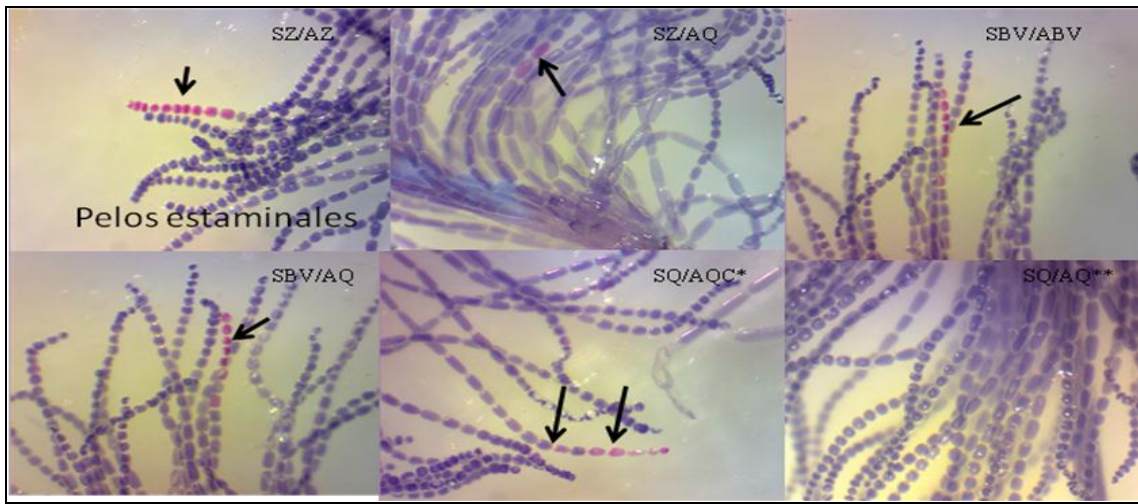
Los análisis en la aparición de mutaciones corrobora lo mencionado con anterioridad, significando que la prueba reacciona al estar sometida a los lixiviados de la primera etapa de obtención de lixiviados. Los valores más altos corresponden a los suelos de Zimapán y el control positivo (Suelo de Querétaro regado con agua contaminada intencionalmente con arseniatos 100 ppm SQ/AQC) figura 9. El control negativo mantuvo el valor por debajo del 1.0 % en mutaciones, que se considera como mutación espontánea algo similar en los experimentos de Gichner *et al.* 1980, al realizar experimentos con dimetilsulfonato en los pelos estaminales de Tradescantia, los valores se mantuvieron en mutaciones para el suelo de Zimapán disminuyó 0.7 veces, en comparación al lixiviado de la etapa 1, esto puede surgir por el tipo de suelo. La segunda etapa de obtención de los lixiviados, los promedios de presenta en este sitio (arenoso) que este permitiendo el lavado continuo de los suelos y que en esta etapa gran cantidad de arsénico ya no se encuentre en el segunda etapa podría ser la causa mientras que el suelo del control positivo (SQ/AQC\*) se mantuvo en el mismo promedio, este suelo puede retener mayor tiempo el arsénico por sus características arcillosas. El control negativo (SQ/AQ\*\*) incremento el promedio de mutaciones, más aún así, se encuentra por debajo de la mutación espontánea (Gichner *et al.* 1980).

La tercera etapa, el incremento se vuelve a notar en los lixiviados provenientes de suelo de Zimapán, el valor llega hasta un promedio cercano a 3.0 mutaciones/1000 pelos, el control positivo disminuye la producción de mutaciones y el control negativo se mantiene por debajo del 1 %. La etapa cuatro los lixiviados provenientes de los suelos de SZ/AZ Y SQ/AQC\* se mantienen con los valores más altos de producción de mutaciones sin embargo el lixiviados de SBV/ABV incrementa desde 1.9 hasta 2.9 y se pudiera deber a que en las primeras etapas de riego las plantas estuviesen asimilando mayor concentración de arsénico y posteriormente se saturan y dejan de realizarlo en alguna medida. El control positivo incremento y se observa una diferencia en comparación del grupo control, esto significa el aporte de arsénico proviene en su totalidad del agua y sugiere que la calidad del agua influye en el estado de contaminación por metales en los

suelos. La etapa cinco y última de obtención de lixiviados, se aprecia que los lixiviados que durante todo el experimento produjeron la mayor cantidad de mutaciones, siguen con el mismo patrón, el grupo contro positivo incremento a su máximo valor de 3.74 mutaciones /1000 pelos, valores similares a los encontrados en pruebas con lixiviados (Knasmuller *et al.* 1998). El concentrado de datos por etapa se presenta en la figura 21. Mientras que en la figura 22, se pueden observar los efectos del arsénico en los cambios de coloración de las células de los pelos estaminales de tradescantia clon 4430 y se nota el color característico de las células mutadas (Sumita *et al.*, 2004)



**Figura 17 Muestra los promedios de mutaciones/1000 pelos en las diferentes etapas de obtención de los lixiviados de los diferentes experimentos.**

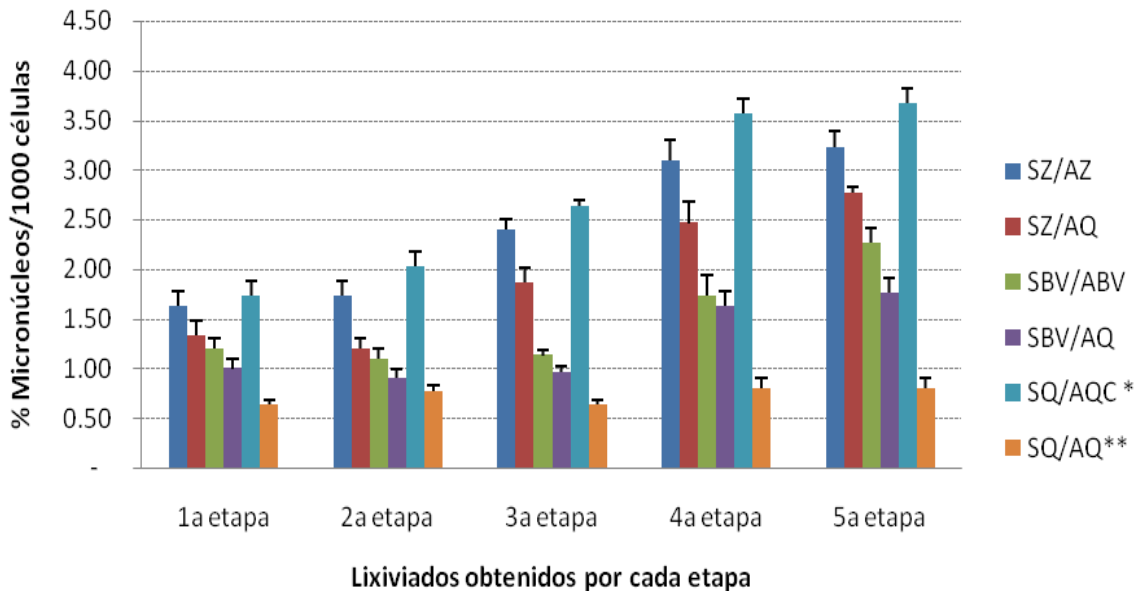


**Figura 18. Se observan los pelos estaminales analizados para cada grupo experimental. Células mutadas en color rosa y células normales en color azul**

### **IX.6.3. Inducción de micronúcleos por los lixiviados en células meristemáticas de las raíces del garbanzo (*Cicer arietinum* L).**

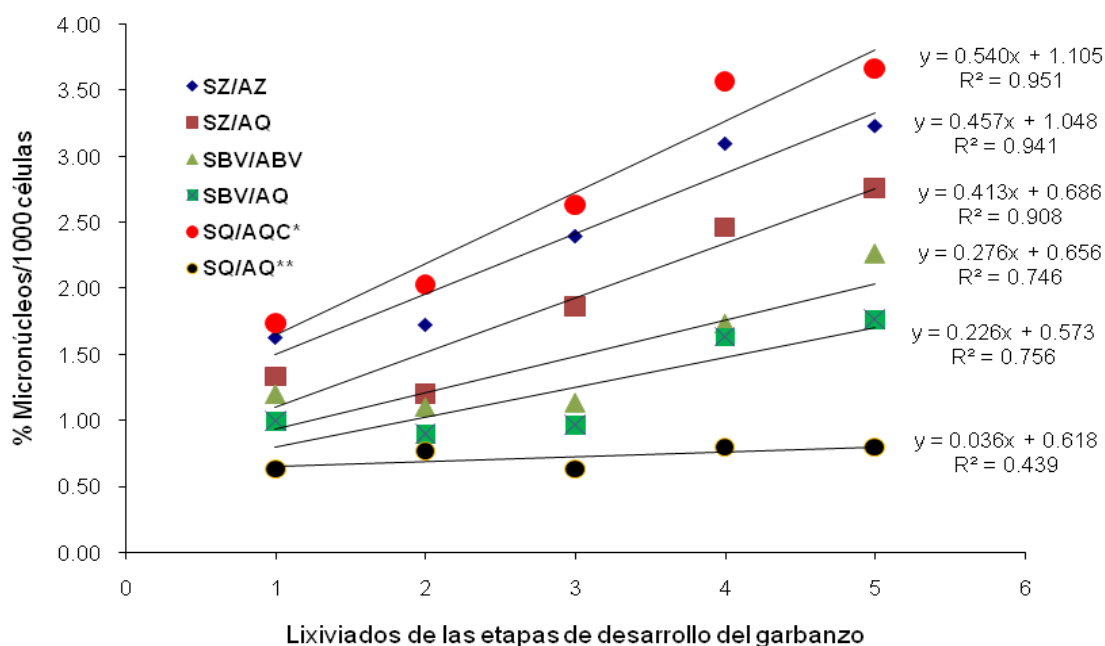
La prueba de micronúcleos ha sido ampliamente utilizada tanto en organismos animales como vegetales para detectar contaminantes ambientales ya sea como elementos o como mezclas complejas (Fomin *et al.* 1999; Carreras *et al.* 2006). Esto se demostró aplicando la metodología propuesta por (Banerjee A. 1992; Prieto *et al.* 2006) y aplicada en células meristemáticas de garbanzo, y que presentaron buena respuesta ante las diferentes concentraciones de arsénico presente en los distintos lixiviados de los suelos colectados durante las cinco fechas. Los resultados se presentan en la figura 19, y se puede observar que los lixiviados de la 1ª etapa, presentaron un valor muy diferente al grupo control (SQ/AQ) los valores mas altos se presentaron para los lixiviados de los suelos SZ irrigados con agua de Zimapán (1.60 a 3.4 micronúcleos /1000 células) Así mismo

le siguió el suelo SQ (1.8 a 3.7 micronúcleos/1000 células) regado con agua contaminada con arseniatos (100 mg/L).



**Figura 19. Resultados de los porcentajes de micronúcleos/1000 células, expuestos a lixiviados de suelos de Querétaro, Qro., Salitre Hgo. y Bella Vista Qro**

También se puede observar que conforme se incrementa la fecha de colecta de los lixiviados el porcentaje de micronúcleos incrementa además, la tendencia de los datos sigue un mismo patrón de incremento para todos los tratamientos, figura 20. Cotelle *et al.* 1999 encuentra este mismo dato para el cadmio en células del meristemo apical de las raíces de *Allium cepa* y concluye que la intensidad depende de la concentración y el tiempo de exposición. Por primera vez se emplea esta técnica modificada de micronúcleos para obtener mejores resultados. Estos datos nos demuestran el efecto genotóxico de los lixiviados en un ser vivo, es una medida para determinar el riesgo de exposición. Se tendrán que tomar medidas de eliminación de As en las aguas de consumo humano por los efectos que ya se han demostrado con este bioensayo.



**Figura 20. Se observa un incremento de los micronúcleos en células de la raíz de garbanzo en las diferentes etapas de obtención de los lixiviados.**

Existe una gran cantidad de estudios enfocados a la evaluación genotóxica de muestras de suelos, obteniendo buenos resultados, enfocándose a la preparación de lixiviados y realizar exposiciones con diferentes bioensayos (Békaert *et al.*, 2002; White y Claxton 2004). Por lo anterior podríamos decir que los bioensayos sobre mutagenicidad proveen medidas para evaluar la genotoxicidad de mezclas complejas sin la necesidad de precisar la caracterización química de la muestra, determinando el daño genético organismos vivos (Chenon *et al.* 2003; Martin *et al.* 2005; Mouchet *et al.* 2006). Esta información rápida como lo consideran algunos autores "de corto plazo" y de bajo costo (Ma *et al.* 1980; Gichner *et al.* 2000), pueden dar una respuesta de los riesgos que pueden sufrir los seres vivos al estar expuestos a estos contaminantes. Dentro del campo de la mutagénesis ambiental se han desarrollado diversos sistemas de monitoreo mediante la utilización de

bioindicadores que permiten evaluar los riesgos de contaminantes ambientales sobre la información genética de los organismos vivos (Gichner *et al.*, 2000).



## X. CONCLUSIONES

- Por primera vez se reporta los análisis fisicoquímicos y las concentraciones de arsénico en la región de Bella Vista Querétaro y existe la posibilidad que el agua que se extrae en esta región para abastecer a la ciudad de Querétaro contenga concentraciones apreciables de este metaloide.
- Los tres suelos estudiados presentaron algunas similitudes en los parámetros fisicoquímicos sin embargo las texturas de estos infirieron en que los IBA fueran diferentes para el caso de el sitio SBV aunque se presentó 10 veces menor al SZ/AZ el IBA de BV fue mayor pero menor al control positivo SQ/AQC. La proporción relativa de grupos dimensionales de partículas, Arena 19% SBV en comparación con SZ 40.89% y 61.21% de arcilla contra 36.51% lo que puede marcar la diferencia en la retención del % de humedad, además el % de materia orgánica y la capacidad de intercambio catiónico fue mayor para el primer caso.
- Los datos encontrados con los lixiviados de los suelos de la región del Salitre en Zimapán, Bella Vista del Río, Querétaro demuestran que existe un riesgo al utilizar esta agua para consumo en base a los resultados encontrados, se pone de manifiesto que el cultivo de garbanzo que se cosecha con el recurso suelo-agua presentan apreciables concentraciones de As en estos suelos.
- Una vez más se demuestra que la raíz de la planta fue la que mayor concentración de As mg/kg bioacumuló el trabajo de Callejas(2005) lo observo en un cultivo de habas y cebada.Las características de estar en contacto con el suelo y por ser las primeras células que están en contacto directo con la solución del suelo permite que las células puedan secuestrar en sus vacuolas el arsénico.

- El tallo fue una de las partes de la planta que en menor orden se concentro el As esto debido a que el tallo posee tejidos de conducción a diferencia de la hoja que contiene tejidos de reserva. Almacenando mayor concentración de As.
- 
- El IBA obtenido para los seis experimentos durante las distintas etapas de desarrollo del garbanzo nos permiten clasificar a este cultivo el grado de acumulación en suelos con distintas características.
- Las especies de plantas, ha sido muy utilizadas para tales fines debido a que son organismos que permite obtener meristemas radiculares en cortos tiempos, pueden ser mantenidos en espacios pequeños a bajo costo y son fáciles de trabajar para la observación de células en división, por lo tanto permite visualizar daños asociados a material genético con relativa facilidad.
- En el bioensayo *Tradescantia* se observó la inducción de micronúcleos en las células madres de polen por la presencia de As en los lixiviados del Salitre , Bella Vista del Río Querétaro y el control positivo.
- Los resultados de las mutaciones en los pelos de *Tradescantia* clon 4430, no se comportaron con un patrón similar al porcentaje de micronúcleos pero se encontró respuesta ante las muestras de lixiviados de los distintos suelos. Cabe destacar que en la mayoría de los trabajos se reporta para compuestos orgánicos volátiles o contaminantes en el aire (Rodrigues *et al.* 1997; Gichner y Veleminsky 1999; Gichner *et al.* 2000) y no al Arsénico, sin Fomin *et al.* (1999), llevó a cabo un trabajo similar a este al exponer cortes de *tradescantia* a lixiviados de jales mineros se observó un incremento de mutaciones en los pelos estaminales a diferencia del grupo control.

- Por primera vez se aplica la metodología de inducción de micronúcleos en células meristemáticas de la raíz del garbanzo (*Cicer arietinum*) encontrándose una buena correlación  $R^2= 0.951$  para SQ/AQC\* (control positivo) y un valor para el control negativo de  $R^2= 0.439$  estando el porcentaje de micronúcleos por debajo de 1 lo que significa que es el valor normal tomado para la mutación espontánea para las especies.

## **XI. PERSPECTIVAS**

- Recomendar ante autoridades que no se deberán cultivar el garbanzo en las zonas de el Salitre en Zimapán Hgo. Y Bella Vista del Río , Querétaro
- Implementar tecnologías de invernaderos para estas zonas utilizando sistemas hidropónicos o la utilización de diferentes sustratos, así se permitirá que los cultivos no asimilen el As del suelo, la desventaja es que el agua de estas regiones posee As en concentraciones apreciables.
- La prohibición de cultivos alimenticios por cultivos de especies arbóreas o de ornato y que de alguna forma le deje utilidades económicas a las diferentes comunidades.
- Es inminente la aplicación por medio de la investigación la eliminación de As al menos en el agua de consumo humano.

## XII. BIBLIOGRAFÍA

Alonso-Castro A., Carranza-Alvarez, C., Alfaro-De la Torre M.C., Chavez-Guerrero E. García-De la Cruz R (2009) Removal and Accumulation of Cadmium and Lead by *Typha latifolia* Exposed to Single and Mixed Metal Solutions. *Arch Environ Contam Toxicol* (2009) 57:688–696

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (2007) Toxicological Profile for arsenic. Atlanta, Ga.: Syracuse Research Corporation, US Dept of health and human services Public Health Services, September.

Aguilar J., Dorronsoro C., Fernández E., Fernández J., García I., Martín F., Sierra M. y Simón M. (2007) Arsenic Contamination in Soils Affected by a Pyrite-mine

Álvarez, R. y H. Steinbach. (2006). Valor agronómico de la materia orgánica. Pp. 13-29 En: *Materia orgánica. Valor agronómico y dinámica en suelos pampeanos*. Ed. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

Anuario Estadístico de Querétaro (2013) Secretaria de Desarrollo Social, Gobierno del Estado de Querétaro.

Armienta, M. A.; Rodríguez, R.; Aguayo, A.; Cenicerros, N.; Juárez, F.; Cruz, O. and G. Villaseñor. 1995. Point and regional sources of arsenic in the groundwater of Zimapan, Mexico. *Acta Univ. Carol., Geol.* 39(2), 285-290.

Batsheba, A. G. 1996. Drinking water regulations in the United States of America. pp. 1-15  
Bergmann, W. 1993. *Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen*. Gustav Fischer Verlag, Jena, Alemania.

Berman, E. 1980. Toxic metals and their analysis. Ed. Heyden International topics in Science. London. 293 pp

Békaert, C., Ferrier, V., Marty, J., Pfohl-Leszkowicz, A., Bispo, A., Jourdain, M. J (2002). Evaluation of toxic and genotoxic potential of stabilized industrial waste and contaminated soils. *Waste Management*, **22**, 241–247.

Békaert, C., Rast, C., Ferrier, V., Bispo, A., Jourdain, M. J., Vasseur, P. (1999). Use of in vitro (Ames and Mutatoxtests) assays to assess the genotoxicity of leachates from contaminated soil. *Organic Geochemistry*, **30**, 953–962.

Boulding JR. (1995). Description and sampling of contaminated soils. A field guide, 2nd ed. Boca Raton, FL7 Lewis Publishers; Chapter 3.

BOE. 1985. Boletín Oficial del Estado (BOE) del 8 de Agosto de 1985. Ley 29 de 1985. Ley de aguas. Vigente desde 13.08.85. pp.25-123.

B.O.E. 1989. “Orden del 13 de Octubre de 1989 por la que se determinan los métodos de caracterización de los residuos tóxicos y peligrosos”. Boletín Oficial del Estado N° 270, 10 de Noviembre de 1989.

Burriel, M. F. Arribas, J. S. Lucena, C. F. y M. J. Hernández. 1994. Química Analítica Cualitativa. Ed. Paraninfo 15th. Madrid, España.

Cambell Neil A. (2007). **Biología Conceptos y relaciones**. Edit. Pearson. 3ª edición, México DF

Cardenas, V. J. 1992. Geological-Mining monograph of the State of Hidalgo. Secretaria de Energía Minas e Industria Paraestatal, Subsecretaria de Minas e Industria básica. Consejo de recursos Minerales. Pub. M-3e. 96 pag.

Carreón-Freyre, D., Cerca, M., Luna-González, L., Gámez-González, F.J., 2005, Influencia de la estratigrafía y estructura geológica en el flujo de agua subterránea del Valle de Querétaro: Revista Mexicana de Ciencias Geológicas, 22(1), 1-18.

CNA. 1992-1998. Comisión Nacional del Agua (CNA). Gerencia Regional Golfo Norte. Gerencia Estatal en Hidalgo. Metales pesados en fuentes de abastecimiento en el Municipio de Zimapán, Hgo. Informe. Inédito.

Chang R. (2007). **Química**. Novena edición. Edit. Mc Graw Hill. Mexico DF

Chenon, P., Gauthier, L., Loubieres, P., Severac, A., & Delpoux, M. (2003). Evaluation of the genotoxic and teratogenic potential of a municipal sludge and sludgeamended soil using the amphibian *Xenopus laevis* and the tobacco: *Nicotina tabacum* L. var *xanthi* Dulieu. Science of the Total Environment, 301, 139-150

Cheng Wang; Zhang Guo-Ping; Yao Hai-Gen; Wu Wei; Xu Min. (2006). Genotypic and environmental variation in cadmium, chromium, arsenic, nickel, and lead concentrations in rice grains. J Zhejiang Univ Science B. 7(7):565-571.

Corey, O. G. y L. A. C. Galvão. 1989. Plomo. Serie Vigilancia 8. Ed. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. 103 pag

Das, A. K. Chakraborty, R. Cervera, M. L. M. De la Guardia. 1995. Metal speciation in solid matrices. Review. Talanta. 42: 1007-1030.

Diario Oficial de la República de Chile (1984). Norma Chilena Oficial N°409/1 Of. N°84. Agua potable. Parte I: Requisitos. Aprobada por el Ministerio de Salud mediante Decreto Supremo N°11, 3 de marzo de 1984.

Dorota, D.; Dörner, J.; Orsolya, B.; Rainer, H. (2008). Effect of bulk density on hydraulic properties of homogenized and structured soils. J. Soil Sc. Plant Nutr. 8 (1):1-13.

Eduardo Castaño Tostado y Jorge Domínguez Domínguez (2003). Experimentos: Estrategia y Análisis en Ciencia y Tecnología. Centro de Investigaciones en Matemáticas, Guanajuato México. pp 1-91.

El Universal (2010) Pobladores de Zimapán Hgo., consumen agua con arsénico!. 23 de marzo

Ernst WHO, Verkleji JAC, Schat H (1992). Metal tolerance in plants. Acta Bot Neerl 41: 229-248.

Memon A., Aktoprakligül, R., Qzdemür D., Vertii A (2001) heavy Metal Accumulation and Detoxification Mechanisms in Plants. Turk J Bot **25** 111-121

Evans H J, Neary G J y Williams F S. 1959. "The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gamma-rays on *Vicia faba* roots and the effect of oxygen" Cap II. Chromosome damage: the production by micronuclei. Int J Radiat Biology 3 pp 216-229.

Fedorova, A. I., Kalaev, V. N., Prosvirina Yu. G., and Goryainova, S. A. 2007. Mutagenic Activity of Heavy Metals in Soils of Wayside Slopes. Eurasian Soil Science, Vol. 40, No. 8, pp. 893–899.

Ferguson, J. E. 1990. The heavy metals elements: Chemistry environmental impact and health effects. Pergamon Press. Oxford. pp. 211-212

Ferreras, L; Magra, G; Besson, P.; Ovalevski, E.; García, F. (2007). Indicadores de calidad física en suelos de la región pampeana Norte de Argentina bajo siembra directa. Ci. Suel. 25(2): 159-172.

Foltête A S., Dhyèvre D., Féraud JF., Cotelle S.(2011)Improvement of *Vicia*-micronucleus test for assessment of soil quality: A proposal for international standardization. Mutat. Res.**85** (10) 1624–1629

Fomin, A., Pasche, A. and Arndt, U. (1999).Assessment of the Genotoxicity of Mine Dump Material Using the *Tradescantia* Stamen Hair (Trad. SHM) and the *Tradescantia* Micronucleus (Trad.MCN) Bioassays', Mutat. Res. **426**, 173–181.

Flores García, A.; Álvarez Moctezuma, J. G.;Rodríguez de la O, J. L.;Corona Ambris, A. (2008). Germinación in vitro de semillas de *Nolina parviflora* (H.B.K.) Hemsl. Foresta Veracruzana, Vol. 10, Núm. 2 : 27-33.

Galvão, L. A. C. y G. Corey. 1987a. Arsénico. Serie Vigilancia 3. Ed. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. 70 pag.

Galvão, L. A. C. y G. Corey. 1987b. Manganeso. Serie Vigilancia 3. Ed. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. 64 pag.

Gichner T., Veleminsky J., Underbrink A.G. (1980). Induction of somatic mutations by the promutagen dimethyl-nitrosamine in Hairs of *Tradescantia* stamen. Mutat. Res. **78**,351-384.

Gichner, T., Veleminsky, J. 1999. Monitoring the genotoxicity of soil extracts from two heavily polluted sites in Prague using the *Tradescantia* stamen hair and micronucleus (MNC) assays. Mutat. Res., 426, 163–166.

Gill B. S., Cabrera G.L., Rodríguez D.M.G., Martínez G. M.G., Cabrera L.M.L. (1995) Comparative studies on genotoxic effects of environmental chemicals using plant, animal and human test systems. Informe final Centro de Estudios Académicos sobre Contaminación Ambiental, U.A.Q México.

Guzmán Bazán D.P. 1997. "Evaluación de la Frecuencia de Micronúcleos en Células Epiteliales como prueba para detectar exposición crónica a arsénico". Tesis Maestría. UNAM México, D. F

Hirner, A. V. 1992. Trace element speciation in soils and sediments using sequential chemical extraction methods. Intern. J. Environ. Anal. Chem. 46: 77-85.

Jolly, J. (1905). Sur l'evolution des globules rouges dans le sang des embryons de mammiferes. C.r. Seanc. Soc. Biol. Paris 58: 593

<http://www.fao.org/search/es/>

Jomova, K., Jenisova, Z., Feszterova, M., Baros, S., Liska, J., Hudecova, D., Rhodes, C. J. and Valko M. (2011). Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. J. Appl. Toxicol.; 31: 95–107

Kanaya, N., Gill, B. S., Grover, I. S., Murín, A., Osiecka, R., Sandhu, S. S. and Andersson, H. C. (1994), 'Vicia Faba Chromosomal Aberration Assay', Mutat. Res. **310**, 231–247.

Knasmüller S., Gottmann, E., Steinkellner H., Fomin A., Pickl C., Paschke A., God R., Kundi M. (1998). Detection of genotoxic effects of heavy metal contaminated soils with plant bioassays. Mutat. Res. **420**, 37-48

Lah, B., Vidic, T., Glasencnik, E., Cepeljnik, T., Gorjanc, G., Marinsek-Logar R (2008). Genotoxicity evaluation of water soil leachates by Ames test, comet assay, and preliminary Tradescantia micronucleus assay. Environ Monit Assess 139:107–118

Lasat, M.M. 2000. The use of plants for the removal of toxic metals from contaminated soil. American Association for the Advancement of Science, Environmental Protection Agency (EPA), Washington DC.

La Manna, L; V Alonso; C Buduba; M Davel; C Puentes y J Irisarri. (2007). Contenido de materia orgánica del suelo en la Región Andino Patagónica: comparación entre métodos analíticos. Actas del XX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Salta y Jujuy, Argentina

Lechuga, M. A. (2002). Evaluación de los posibles daños genotóxicos en tejidos vegetales de alta sensibilidad, provocados por la bioacumulación de especies arsenicales. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Lalwani S., Dogra T.D., Bhardwaj D.N, Sharma R.K., Murty O.P. (2006) Study on arsenic level in public water supply of Delhi using Hydride generator accessory coupled with atomic absorption spectrophotometer. Indian Journal of Clinical Biochemistry, **21** (1) 70-76



- López D. M G (2009) Distribución y fitodisponibilidad de metales pesados (Sb, Hg, As) en los jales de la mina de Wadley, Estado de San Luis Potosí. Tesis de Maestría en Ciencias de la Tierra, UNAM.
- Muhammad I. and Safdar A. (2009) Effect of integrated application of sulphur and phosphorus on nitrogen fixation and nutrient uptake by Chickpea (*Cicer arietinum* L.) *Agrociencia* v.43 n.8 México nov./dic
- Ma T.H., Sparrow A.H., Schairer L.A. Y Nauman A.F (1978) Effect of 1,2-dibromoethane (DBE) on meiotic chromosomes of *Tradescantia* *Mutat. Res.* 58,251-258
- Ma T.H. (1982)a *Tradescantia* cytogenetic test (root-tip mitosis, pollen mitosis, pollen mother-cells meiosis). A report of the U.S. Environmental Protection Agency, Gene-Tox Program. *Mutat.Res.* 99,293-30
- Ma T.H (1982)b *Tradescantia* cytogenetic test (root-tip mitosis, pollen mitosis, pollen mother-cells meiosis). A report of the U.S. Environmental Protection Agency, Gene-Tox Program. *Mutat. Res.* 99,293-302
- Ma T.H., Anderson V.A., Harris M.M., Neas R.E. y Lee T.S (1985). Mutagenicity of drinking water detected by the *Tradescantia* micronucleus test. *Can. J. Genet. Cytol.* 27,143-150.
- Ma T.H. Xiaodong Zhou, G.F. Loarca, G.G. Arreola, and S.U. Lecona, (1988) Mutagenesis, Mouse-Peripheral-Blood-Erythrocyte-Micronucleos (mus-PEMN) assay on the cronic clatogenicity of industrial wastewater.
- Martin, F. L., Pearce, T. G., Hower, A., Phillips, D. H., & Semple, K. T. (2005). A biomarker model of sublethal genotoxicity (DNA single-strand breaks and adducts) using the sentinel organism *Aporrectodea longa* in spiked soil. *Environmental Pollution*, **138**, 307–315.
- Majer B J., Grummt T., Uhl M, Knasmüller S. (2005). Use of Plant Bioassays for the Detection of Genotoxins in the Aquatic Environment. *Acta hydrochem. hydrobiol.* **33** 1 45-55
- Malvern Instrument, Inc. (2004). **Potencial Zeta. Un curso completo en cinco minutos.** Ed. Malver Inst. Catálogo Zeta-Meter. Westborough, MA, 01581-1042, USA.
- Magalhaes, M. C. 2002. Arsenic. An environmental problem limited by solubility. *Pure Appl. Chem.* **74**: 1843–1850.
- Mandal B. K, Suzuki K. T. (2002) Arsenic round the world: a review. *Talanta* **58**; 201–235
- Matter B y Schmid W. 1971. "Trenimon induced chromosomal damage in bone marrow cells of six mammalian species, evaluated by the micronucleus test". *Mutat Res* 12pp 417-725.
- Mohan D. y Pittman J.C.U. (2007). Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents – A critical review. *J. Hazard. Mater.* 142, 1-53.

Mouchet, F., Gauthier, L., Mailhes, C., Jourdain, M. J., Ferrier, V., Triffault, G., (2006). Biomonitoring of the genotoxic potential of aqueous extracts of soils and bottom ash resulting from municipal solid waste incineration using the comet and micronucleus tests on amphibian (*Xenopus laevis*) larvae and bacterial assays (Mutatox® and Ames tests). *Science of the Total Environment*, **355**, 232–246.

Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Salud ambiental, agua para uso y consumo humano- Límites permisibles de calidad y tratamiento a que debe someterse para su potabilización. Diario Oficial de la Federación del 18 de enero de 1996.

Núñez, B. J. 1999. Evaluación Hidrológica de la Cuenca de Zimapán y sus implicaciones con la presencia de Arsénico. Informe final. IICT-UAEH. Inédito.

NOM-021-RECNAT-2000. Norma Oficial Mexicana que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y análisis

Panczer, W.D., **Minerals of Mexico**. Van Nostrand Reinhold Co. Nueva York, 1987.

Patra, M. y A. Sharma. 2000. Mercury toxicity in plants. *Bot. Rev.* 66, 379-422.

Prieto G F., J. Callejas, M. de los Á. Lechuga, J. Gaytán y E. Barrado. 2005. Acumulación en tejidos vegetales de arsénico proveniente de aguas y suelos de Zimapán, estado de Hidalgo, México. *Bioagro* **17**(3): 129-137

Prieto G F., Lechuga V. M.A., Méndez M. M.A., Barrado E. E y, Oyarzún G. J. (2006) Daños tóxicos en tejidos vegetales, producidos por aguas contaminadas con arsénico en Zimapán, Hidalgo México. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, **26**(1): 94-97.

Riaz S., Faisal M., Hasnain S. (2010). *Cicer arietinum* growth promotion by *Ochrobactrum intermedium* and *Bacillus cereus* in the presence of CrCl<sub>3</sub> and K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>. *Ann Microbiol* **60**:729–733

Rico-Rodríguez, M. A. (2006) Evaluación de las posibles alteraciones gaméticas en *Tradescantia* producidas por insecticidas piretroides liberados por vaporizadores eléctricos. Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México México DF.

Rodríguez, S.G., Ma T.-H., Pimentel D & Weinstein L., (1997) *Tradescantia* bioassays as monitoring systems for environmental mutagenesis: A review. *Critical Reviews in Plant Sciences* 16 (4): 325-359.

Ruiz-Flores, E., Valtierra-Rabago, M.E., Lecona S., Perez A., Ma TH. (1992). *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) bioassay on clastogenicity of wastewater and in situ monitoring. *Mutat Res.* **270** (1) 45–51

Solenska M., Karol M., and Misik M. (2006) Plant bioassays for an in situ monitoring of air near an industrial area and municipal solid waste-Zilina (Slovakia). *Environ Monitor and Asses.* **115**: 499–508

Sanchez, J.A., Muñoz, B.C., Montejo, L.A., Fresneda, J.A. y Reino, J. (2004). Estudio ecofisiológico de semilla de interés agroforestal. *Biotecnología Aplicada* **21** 3: 172-174.

Sumita, N.M., M.E. Mendes, M. Macchione, E.T. Guimaraes, A.J. de Lichtenfels, D.J. de Lobo. 2003. *Tradescantia pallida* cv. *purpurea* boom in the characterization of air pollution by accumulation of trace elements. *J. Air Waste Manage. Assoc.* 53:574-579.

Suñe N, Sánchez G, Caffaratti S, Maine MA (2007) Cadmium and chromium removal kinetics from solution by two aquatic macrophytes. *Environ Pollut* 145:467–473

Thomas D J., Styblo M, and Lin S. (2001).The Cellular Metabolism and Systemic Toxicity of Arsenic.*Toxicol and Applied Pharmacol* **176**, 127–144

Thoday J. M. (1951) The effect of ionizing radiations on the broad bean root. Part IX. (Concluded), *Br. J. Radiol.* 24, 622–628

Uede K, Furukawa F. 2003. Skin manifestations in acute arsenic poisoning from the Wakayama curry poisoning incident. *Br. J. Dermatol.* 149: 757–762.

Underbrink A.G., L.A. Schairer, A.H. Sparrow. 1973. *Tradescantia* stamen hairs: a radiological test system applicable to chemi-cal mutagenesis, in: A. Hollaender \_Ed., *Chemical Mutagens, Principle and Methods for their Detection*, Vol. 3, Plenum, New York, ,pp. 171–207.

USDA (2000). Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica. Guía para la Evaluación de la Calidad y Salud del Suelo. Traducción al Español del: “Soil Quality Test Kit Guide”. Instituto de Suelos. CRN–CNIA–INTA. Argentina. p.20-22.

USEPA (2001). EPA-816-K-02-18. Implementation guidance for the arsenic rule. Office of Ground Water and Drinking Water, United States Environmental Protection Agency. Manual. Washington, DC. 6978 p.

Vargas, P. 1994. Datos demográficos del Estado de Hidalgo. Editora UAEH. 94-96.

Vegas, T. J. C. 1997. Estudio de la estequiometría de ferritas. Tesis de Licenciatura. Universidad de Valladolid, España.

Vine M F. 1990. “**Micronuclei Biological Markers in Epidemiology**” Ed. B. Hulka, Wilcolsky y J J Griffith New York. Oxford University pp 125-146.

Von Ledebur M, Schmid W (1973) The micronucleus.Methodological aspects *Mutation Res* **19**:109-117

Viessman, Jr. W. and M. J. Hammer. 1993. **Water Supply and Pollution Control**. Fifth Ed. Ed. Harper Collins College Publishers.

Valencia, P. R. (1992). Efecto de los insecticidas carbámicos Metomil y Oxamil sobre los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF

White, P. A., & Claxton, L. D. (2004). Mutagens in contaminated soil: A review. *Mutation Research*, **567**, 227–345.

Waqar A; Stanislav V.I.; Fang-Jie Z.; Fans J.M. (2009) Arsenite transport in plants. *Cell.Mol.Life Sci.* **66**:2329-2339.

Watanabe, T., & Hirayama, T. (2001). Genotoxicity of soil. *Journal of Health Science*, **47**, 433–438.

WHO (2004). Guidelines for drinking water quality. World Health Organization. Manual. Ginebra, Suiza. 515 p.

Yakamoto K I y Kikuchi Y. 1980. "A comparison of diometers of micronuclei induced by clastogens and by spindle poisons". *Mutat Res* **71** pp 127-131.

Zalacain, M., L. Sierra sesúmaga, A. Patiño. (2005) El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *Anales Sis San Navarra* **28** 2 Pamplona España.

### **XIII. ARTÍCULOS**

#### **XIII.1. Publicados**

Miguel Ángel Rico-Rodríguez ,Elena María Otazo-Sánchez, Francisco Prieto-García, Alma Delia Román-Gutiérrez y Otilio Arturo Acevedo-Sandoval (2013). Caracterización de tres suelos en Hidalgo y Querétaro, México: disponibilidad y daño tóxico por arsénico en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) Rev. FCA UNCUYO 45(1): 225-246.

#### **XIII.2. Enviados**

Genotoxicity analysis of leachates of three arsenic containing soils by the micronucleus test Tradescantia clon 4430 (Trad-MCN) Bulletin Environmental Toxicology and Contamination.

### **XIV. CONGRESOS**

Disponibilidad y afectaciones de arsénico en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en tres regiones de los Estados de Hidalgo y Querétaro (2012) Resumen en extenso en la Cátedra Nacional de Química "Dr. Mario Molina". Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Presentación en cartel: Caracterización de los suelos de tres sitios y su importancia en la disponibilidad del arsénico en el garbanzo" IX Encuentro (Participación de la mujer en la ciencia) del 18 al 20 de mayo del 2011 en León, Guanajuato

Presentación oral: Evaluación genotóxica de los lixiviados de tres suelos de la región semidesértica de los estados de Hidalgo y Querétaro en el: XI Congreso Internacional y XVII Congreso Nacional de Ciencias Ambientales en la Universidad Autónoma Indígena de Mazatlán, Sinaloa, los días 5, 6 y 7 de junio 2012.

Presentación en cartel: Evaluación genotóxica de extractos de suelos con arsénico As mediante la prueba de micronúcleos en células meristemáticas en garbanzo (*Cicer arietinum*) XII Congreso Internacional y XVIII Congreso Nacional de Ciencias Ambientales en la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, los días 5, 6 y 7 de junio 2013.