



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA  
DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**TESIS**

**EVALUACIÓN DE RIESGO ECOTOXICOLÓGICO  
EN UNA ZONA AGRÍCOLA-INDUSTRIAL DE  
TLAXCALA**

Para obtener el grado de

**Doctora en Ciencias Ambientales**

**PRESENTA**

M. en C. Miriam Acosta Tlapalamatl

**Directora**

Dra. Claudia Romo Gómez

**Codirectora**

Dra. Edelmira García Nieto

**Comité tutorial**

Dr. Juan Carlos Gaytán Oyarzún  
Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval  
Dra. Libertad Juárez Santacruz

Pachuca de Soto, Hgo, México, enero de 2023



Mineral de la Reforma, Hgo. a 12 de enero de 2023

**Número de control:** ICBI-D/011/2023

**Asunto:** Autorización de impresión de tesis.

**MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO**  
**DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH**

Por este conducto le comunico que el comité revisor asignado a la M. en C. Miriam Acosta Tlapalamatl, alumna del Doctorado en Ciencias Ambientales (Tradicional) con número de cuenta 409820, autoriza la impresión del proyecto de tesis titulado "Evaluación de riesgo ecotoxicológico en una zona agrícola-industrial de Tlaxcala" en virtud de que se han efectuado las revisiones y correcciones pertinentes.

A continuación, se registran las firmas de conformidad de los integrantes del comité revisor.

PRESIDENTE	Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval	_____
SECRETARIO	Dr. Juan Carlos Gaytán Oyarzún	_____
1er VOCAL	Dra. Claudia Romo Gómez	_____
2do VOCAL	Dra. Edelmira García Nieto	_____
1er SUPLENTE	Dra. Libertad Juárez Santacruz	_____

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

Atentamente  
 "Amor, Orden y Progreso"

Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval  
 Director del ICBI



OAAS/CRG

Ciudad del Conocimiento  
 Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5 Colonia  
 Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo,  
 México. C.P. 42184  
 Teléfono: 771 71 720 00 ext. 2231 Fax 2109  
 direccion\_icbi@uaeh.edu.mx



[www.uaeh.edu.mx](http://www.uaeh.edu.mx)

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A instituciones**

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por darme la oportunidad de complementar mi formación profesional como Doctora en Ciencias Ambientales.

Al Centro de Investigación en Genética y Ambiente de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, por alojarme en sus instalaciones y brindarme todas las facilidades para la realización de esta investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado durante mis estudios de doctorado (No. beca 725203).

### **A personas**

A la Dra. Claudia Romo Gómez por la dirección este trabajo, por todas sus enseñanzas y apoyo para la realización y culminación de esta investigación.

A la Dra. Edelmira García Nieto con respeto y admiración por sus atinados consejos y aportes profesionales. Muchas gracias por la confianza depositada, el apoyo incondicional y motivación para concluir este trabajo.

A la Dra. Libertad Juárez Santacruz un especial agradecimiento por su valioso apoyo y seguimiento a este trabajo.

A los miembros del comité tutorial Dr. Juan Carlos Gaytán Oyarzún, Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval por el tiempo dedicado, sus sugerencias y acertados comentarios durante la elaboración de este proyecto.

A mis padres: Juana y José Luis por su amor y apoyo incondicional que me han brindado siempre.

A mis hermanos y sobrinos por su apoyo y motivación.

## ÍNDICE

ACRÓNIMOS.....	v
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 El suelo desde un enfoque ambiental.....	1
1.2 Contaminación del suelo.....	2
1.2.1 Los Compuestos Orgánicos Persistentes (COP).....	3
1.2.1.1 Comportamiento ambiental de los COP.....	5
1.2.1.2 Efectos asociados a los COP.....	6
1.2.2 Los Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT).....	7
1.2.3 Comportamiento ambiental de los EPT.....	9
1.3 Evaluación de riesgo potencial.....	11
1.4 Bioindicadores.....	13
1.5 Biomarcadores.....	14
1.5.1 Biomarcadores de exposición.....	14
1.5.2 Biomarcadores de efecto.....	14
2. ANTECEDENTES.....	16
3. JUSTIFICACIÓN.....	20
4. OBJETIVOS.....	39
4.1 Objetivo general.....	39
4.2. Objetivos específicos.....	39
5. METODOLOGÍA.....	40
5.1 Ubicación del área de estudio.....	40
5.1.1 Descripción del área.....	41
5.2 Muestreo exploratorio de suelo.....	41
5.2.1 Determinación de las propiedades fisicoquímicas del suelo.....	42
5.2.1.1 Determinación de pH.....	42
5.2.1.2 Materia orgánica.....	42
5.2.1.3 Capacidad de intercambio catiónico.....	44
5.2.1.4 Textura.....	44
5.3 Determinación de COP en suelo.....	46
5.3.1 Extracción orgánica de COP en suelo.....	46
5.3.2 Cuantificación de COP por CG-EM.....	46
5.4 Muestreo sistemático de suelo.....	47

5.5 Muestreo biológico .....	48
5.5.1 Plantas silvestres .....	48
5.5.2 Animales de traspatio.....	48
5.5.2.1 Grupo de referencia.....	48
5.5.2.2 Grupo expuesto .....	48
5.5.3 Cuantificación de COP en plantas silvestres .....	49
5.5.3.1 Extracción de COP en hojas de <i>Cynodon sp.</i> y <i>Argenome sp.</i> .....	49
5.5.3.2 Extracción de COP en <i>Opuntia sp.</i> .....	49
5.5.3.3 Extracción de COP en <i>Agave sp.</i> .....	49
5.5.4 Cuantificación de COP en gallinas de traspatio.....	50
5.5.4.1 Extracción de COP en plasma, hígado y músculo .....	50
5.5.5 Determinación de EPT en suelo.....	51
5.5.5.1 Digestión de las muestras .....	51
5.5.5.2 Cuantificación de EPT en suelo por EAA.....	51
5.5.6 Ensayo de Micronúcleos en eritrocitos de gallinas de traspatio.....	51
5.5.6.1 Preparación y tinción de laminillas.....	51
5.5.6.2 Análisis microscópico de anomalías nucleares .....	52
5.6 Estimación de exposición a COP en población humana .....	53
5.7 Dosis de exposición en biota .....	55
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
6.1 Descripción general del área de estudio .....	56
6.1.1 Clima.....	56
6.1.2 Hidrología .....	57
6.1.3 Suelo .....	57
6.1.4 Vegetación .....	57
6.1.5 Fauna.....	58
6.1.6 Características sociodemográficas.....	58
6.1.7 Actividades productivas .....	59
6.1.7.1 Agricultura y ganadería.....	59
6.1.7.2 Industria.....	59
6.2 Propiedades fisicoquímicas del suelo .....	59
6.3 Cuantificación de COP en suelo .....	62
6.4 Cuantificación de EPT en suelo .....	69
6.5 Cuantificación de COP en plantas silvestres.....	71

6.6 Cuantificación de COP en gallinas de traspatio .....	72
6.7 Ensayo de Micronúcleos en eritrocitos de gallina de traspatio .....	72
6.8 Estimación de la exposición en población humana .....	77
6.9 Estimación de la exposición en biota .....	81
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	82
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	84

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación del municipio de El Carmen Tequexquitla, Tlaxcala. (Fuente propia).....	40
Figura 2. Ubicación de los puntos del muestreo exploratorio .....	42
Figura 3. Ubicación de los sitios del muestreo sistemático radial .....	47

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos para cálculo de dosis de exposición .....	55
Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de suelo de El Carmen Tequexquitla .....	61
Tabla 3. Repetibilidad del método para la cuantificación de COP .....	63
Tabla 4. Reproducibilidad del método para la cuantificación de COP .....	63
Tabla 5. Límites de detección y cuantificación de los 17 plaguicidas organoclorados .....	63
Tabla 6. Plaguicidas organoclorados cuantificados en suelo del muestreo exploratorio .....	64
Tabla 7. Resultados de PO en suelo reportados por el CIATEJ .....	69
Tabla 8. Elementos Potencialmente Tóxicos en suelo de El Carmen Tequexquitla .....	70
Tabla 9. Cálculo de la Guía de Evaluación de Medios Ambientales (EMEG) .....	77
Tabla 10. Cálculo de la dosis de exposición y cociente de peligro en infantes .....	78
Tabla 11. Cálculo del riesgo carcinógeno individual en adultos.....	78
Tabla 12. Cálculo del riesgo carcinógeno poblacional en adultos .....	79
Tabla 13. Dosis de exposición en mamíferos .....	81
Tabla 14. Dosis de exposición en aves .....	81

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Concentración de hexaclorobenceno.....	62
Gráfica 2. Genotoxicidad del grupo expuesto y grupo control.. ..	74
Gráfica 3. Apoptosis del grupo expuesto y grupo control .....	76
Gráfica 4. Necrosis en el grupo expuesto y grupo control .....	76

# ACRÓNIMOS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
Al	Aluminio
AN	Anormalidades nucleares
AP	Células apoptóticas
As	Arsénico
ATSDR	Agencia para las Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades del Departamento de Salud Pública
Ba	Bario
BN	Brotos nucleares
BPC	Bifenilos policlorados
CB	Clorobencenos
Cd	Cadmio
CG-EM	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
CIATEJ	Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A
CIC	Capacidad de intercambio catiónico, capacidad de intercambio catiónico
Co	Cobalto
COP	Compuestos Orgánicos Persistentes
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DDD	Diclorodifenildicloroetano
DDE	Diclorodifenildicloroetileno
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
EAA	Espectrofotometría de absorción atómica
EMEG	Guía de Evaluación de Medios Ambientales
EPT	Elementos Potencialmente Tóxicos
ERE	Evaluación de Riesgo Ecológico
ERSH	Evaluación de Riesgo en Salud Humana
Fe	Hierro
HCB	Hexaclorobenceno
Hg	Mercurio
Koc	Coefficiente de partición carbono orgánico
LD	Límite de Detección
MIR	Metodología Integrada de Riesgo
Mn	Manganeso
MN	Micronúcleos
Mo	Molibdeno
MO	Materia orgánica
MRL	Nivel de riesgo mínimo
MRM	Monitorización de reacción múltiple
msnm	Metros sobre el nivel del mar
NC	Células necróticas
Ni	Níquel



OCDE	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
OMS	Organización Mundial de la Salud
Pb	Plomo
PC	Puentes de cromatina
PO	Plaguicidas Organoclorados
Sb	Antimonio
Se	Selenio
SIM	Monitorización de ión único
V	Vanadio
Zn	Zinc
$\alpha$ -HCH	$\alpha$ -Hexaclorociclohexano
$\beta$ -HCH	$\beta$ -Hexaclorociclohexano
$\gamma$ -HCH	$\gamma$ -Hexaclorociclohexano
$\delta$ -HCH	$\delta$ -Hexaclorociclohexano

## RESUMEN

En la zona agrícola-industrial de El Carmen Tequexquitla, Tlaxcala se presume un problema ambiental por Compuestos Orgánicos Persistentes (COP) como consecuencia del uso de Plaguicidas Organoclorados (PO) en actividades agrícolas y la producción de compuestos clorados de una industria de giro químico, sin embargo, no existen reportes que comprueben la presencia de estos compuestos y estimen el riesgo que representan para la biota y la población humana. En este estudio se evaluaron los COP en suelo superficial por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), para caracterizar el riesgo mediante la determinación de las propiedades fisicoquímicas del suelo (pH, materia orgánica, textura y capacidad de intercambio catiónico) que pueden influir en la cinética ambiental de dichos compuestos, la evaluación de la exposición a través de la absorción en biota (plantas y gallinas de traspatio) y la evaluación del efecto genotóxico mediante la prueba de micronúcleos (MN) y anomalías nucleares (AN) en eritrocitos de sangre periférica de gallinas de traspatio. De acuerdo con los resultados obtenidos se identificaron y cuantificaron 5 PO (HCB,  $\alpha$ -HCH, p,p'-DDT, p,p'-DDE y p,p'-DDD) en concentraciones que superan los valores de referencia de la Guía Canadiense de Calidad del Suelo para la Protección del Ambiente y Salud Humana y de los Criterios de Limpieza del Suelo. En cuanto a los parámetros fisicoquímicos, estos evidenciaron que el suelo no posee características que favorezcan la adsorción y retención de los PO facilitando así, su migración a otras matrices. Por otro lado, los niveles de PO en las 4 especies de plantas silvestres analizadas (*Argemone sp.*, *Cynodon sp.*, *Agave sp.* y *Opuntia sp.*) y en los tejidos de gallinas de traspatio (plasma, hígado y músculo) se encontraron por debajo del límite de detección. Respecto, a la genotoxicidad, las frecuencias de MN y AN presentaron diferencias significativas entre grupos, siendo menores en el grupo expuesto. Con relación a la estimación del riesgo para población humana, el DDT y DDE presentan un cociente de peligro de 2 y 3 órdenes de magnitud mayor a la unidad que es considerada como valor de riesgo bajo, este compuesto al igual que sus metabolitos representan riesgo

cancerígeno para la población humana. Para el caso de la biota el cociente de peligro indicó que ninguno de los compuestos representa riesgo para los mamíferos considerados en este estudio, pero en el caso de las aves el 4,4'-DDE representa riesgo para la especie *Passer domesticus* debido a que el valor estimado es 5 órdenes de magnitud mayor a la unidad. Estos resultados proporcionan una línea base sobre el estado de contaminación actual en la zona de estudio y del riesgo que representan para la biota y salud humana que habitan en la zona, además ponen de manifiesto la necesidad de implementar nuevos estudios de monitoreo para tener un mejor entendimiento y gestionar el riesgo.

## ABSTRACT

In the agro-industrial area of El Carmen Tequexquitla, Tlaxcala, an environmental problem due to Persistent Organic Pollutants (POPs) is suspected following the use of organochlorine pesticides (OP) in agricultural activities and the production of chlorinated compounds from the chemical industry. However, there are no reports verifying the presence of these compounds and estimating the risk they pose to biota and the human population. In this study, POPs in the surface soil were evaluated by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS), to characterize the risk by determining the physicochemical properties of the soil (pH, organic matter, texture and cation exchange capacity) that can influence the environmental kinetics of these compounds, the assessment of exposure by uptake in biota (plants and backyard chickens) and the assessment of the genotoxic effect by the test micronucleus (MN) and nuclear abnormalities (AN) in peripheral blood erythrocytes of backyard chickens. According to the results obtained, 5 OPs (HCB,  $\alpha$ -HCH, p,p'-DDT, p,p'-DDE and p,p'-DDD) were identified and quantified at concentrations exceeding the Soil Quality Guidelines for the Protection of Environmental and Human Health and Soil Cleanup Criteria. Regarding the physicochemical parameters, they showed that the soil does not have characteristics favoring the adsorption and retention of POs, thus facilitating their migration to other matrices. On the other hand, the PO levels in the 4 species of wild plants analyzed (*Argemone sp.*, *Cynodon sp.*, *Agave sp.*, and *Opuntia sp.*) and in the tissues of backyard chickens (plasma, liver, and muscle) were found below the detection limit. Regarding genotoxicity, the frequencies of MN and AN showed significant difference between the groups, being lower in the exposed group. With respect to the risk estimate for the human population, 4,4'-DDT had a risk quotient 9 orders of magnitude greater than unity, which is considered a low-risk value. This compound, like its metabolites, represents a carcinogenic risk for the human population. In the case of biota, the hazard quotient indicates that none of the compounds represents a risk for the mammals considered in this study, but in the case of birds, 4,4' DDE represents a risk for the species *Passer domesticus* because the estimated value is 5 orders of magnitude greater than unity. With

respect to the risk estimate for the human population, DDT and DDE had a risk quotient 2 and 3 orders of magnitude greater than unity, which is considered a low-risk value. These results provide a baseline on the current state of contamination in the study area and the risk they pose to the biota and human health that inhabit the area, also highlight the need to implement new monitoring studies to better understand and manage risks.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 El suelo desde un enfoque ambiental

El concepto de suelo tiene una amplia gama de definiciones enunciadas desde la perspectiva de cada una de las disciplinas que lo involucran, lo que dificulta la formulación de una definición única, por ende, el suelo desde un enfoque ambiental se puede definir como la capa superficial de material orgánico o mineral no consolidado formado a través de las interacciones de los factores: clima, topografía, biota, material parental y tiempo, que difiere en sus propiedades físicas, químicas, biológicas y morfológicas del sustrato rocoso del que se originó y además, sirve como medio para el crecimiento de organismos terrestres (SSSA, 2008).

El suelo es la base de los ecosistemas terrestres al proveer los servicios ecosistémicos necesarios para el desarrollo de la biota y la vida humana, en consecuencia, es un sistema abierto que intercambia materia y energía con la atmósfera, la biosfera y la hidrosfera adyacentes (Sposito, 1989). Desde este punto de vista, el suelo puede incrementar o reducir su volumen, modificar sus propiedades de forma cuantitativa o cualitativa, erosionarse y contaminarse (Porta et al., 1994).

Por lo tanto, la capacidad para sostener la productividad, la diversidad y los servicios ambientales depende del estado de salud que el suelo presente (ITPS, 2020), misma que puede verse comprometida por diversas actividades antrópicas que emiten una gran cantidad de sustancias tóxicas con capacidad de acumularse en las partículas o la biota del suelo, generando así, riesgo para los ecosistemas terrestres (Yu et al., 2013).

De acuerdo con lo anterior, el suelo tiene la capacidad de ser sumidero o fuente de contaminantes. Como sumidero, desempeña un papel fundamental debido a que todos los compuestos tóxicos que se acumulan pueden sufrir una serie de

procesos físicos (adsorción), químicos (reacciones redox) o biológicos (biodegradación) de los que depende su movilidad, biodisponibilidad y toxicidad (Sarkar et al., 2021).

En lo que a fuente se refiere, los contaminantes pueden ser tanto de origen geogénico como antropogénico. En el primero de los casos se incluyen principalmente los contaminantes inorgánicos como los Elementos Potencialmente Tóxicos, (EPT) que son liberados a través de procesos de meteorización de material parental, no obstante, algunas actividades como las agropecuarias e industriales también pueden liberarlos. Respecto a los contaminantes orgánicos, como los Compuestos Orgánicos Persistentes (COP) la gran mayoría provienen de actividades antropogénicas (Sarkar et al., 2021).

## **1.2 Contaminación del suelo**

La contaminación del suelo se refiere a la presencia de un químico o sustancia propia o ajena al lugar en una concentración superior a la normal que tiene efectos adversos sobre cualquier organismo al que no está dirigido (FAO, 2015a). Sin embargo, su percepción y evaluación es compleja de forma que se convierte en un peligro silencioso. Si bien, es necesario el establecimiento de “concentraciones normales o de referencia”, el proceso para determinarlas es arduo, dado que se deben considerar diversos factores que dependerán de cada región o país tales como: los niveles de fondo, condiciones climáticas, tasas de meteorización, uso y manejo del suelo (Carlson, 2007).

Por tal razón, es complicado realizar una evaluación del grado de contaminación en suelo y realizar comparaciones con otros sitios. Sin embargo, la Carta Mundial de Suelos exhorta a los gobiernos a establecer mecanismos de regulación y darles seguimiento con el fin de contrarrestar los niveles de contaminantes y garantizar la salud ambiental y el bienestar humano (FAO, 2015b).

No obstante, los países en vías de desarrollo carecen de los medios suficientes para iniciar y mantener por largo tiempo estrategias de evaluación, monitoreo y remediación de suelos contaminados. Por consiguiente, al no poseer la información suficiente y actualizada, el problema de contaminación de suelo representa uno de los grandes desafíos a los que se enfrenta el mundo, tan solo para el caso de Latinoamérica se ha identificado como la novena amenaza sobre las funciones que cumple el suelo (FAO, 2015a).

Con el escenario anterior, es evidente que se requiere maximizar esfuerzos a nivel global para incrementar la concientización del problema y desarrollar estrategias sobre la evaluación y remediación de los suelos contaminados (FAO, 2015b).

### **1.2.1 Los Compuestos Orgánicos Persistentes (COP)**

Los Compuestos Orgánicos Persistentes (COP), corresponden a un grupo de contaminantes de origen antropogénico que poseen características fisicoquímicas que les confieren una lenta tasa de degradación biológica, fotolítica y química (Rawson et al., 2009).

Además, presentan 4 características que se describen a continuación: 1) persistencia, es decir, no se degradan fácilmente en el ambiente; 2) semivolatilidad, lo que les permite ser transportados a grandes distancias a partir de su fuente de emisión; 3) bioacumulación, la capacidad de depositarse en tejidos grasos debido a su elevado coeficiente de partición octanol-agua ( $K_{ow}$ ) y poco a poco concentrarse (biomagnificarse) a medida que los organismos consumen a otros a lo largo de la cadena trófica; 4) toxicidad, tienen el potencial para causar efectos nocivos tanto en la salud humana como en organismos silvestres (Ashraf, 2017).

En consecuencia, la combinación de dichas características los convierte en grupo de compuestos peligrosos, por lo que a nivel internacional se ha eliminado o



restringido su producción, no obstante, aún se encuentran residuos en matrices ambientales y biológicas. Por tal motivo, continúan representado un problema tanto ambiental como de salud pública, puesto que han sido asociados a efectos adversos en organismos silvestres y humanos (Mansour, 2009; Zaragoza-Bastida et al., 2016; Marín-Benito et al., 2017).

A nivel internacional se han implementado acciones para hacer frente a estos compuestos, en 2001, se instauró el Convenio de Estocolmo cuyo objetivo es proteger la salud humana y el medio ambiente mediante la eliminación o restricción de su producción. Actualmente, reconoce 30 COP que son plaguicidas, productos químicos industriales y/o sustancias de producción no intencionada. Están clasificados en 3 categorías: A) sujetos a eliminación de producción y uso, B) restricción de producción y uso y C) reducción de la liberación involuntaria (UNEP, 2019).

La mayor parte de los procesos de contaminación por COP es a consecuencia de la manipulación inadecuada de dichas sustancias por el hombre, entre las fuentes importantes de emisión se encuentra la agricultura, ya que por décadas se usaron plaguicidas organoclorados (PO) en el control de plagas en cultivos, también, el sector salud empleó al DDT para el control de vectores de enfermedades humanas. A pesar de que algunos PO pueden degradarse en el suelo, la mayoría permanecen por largos periodos debido a la baja presión de vapor y resistencia a la fotooxidación (Zhao et al., 2013).

Además, otras actividades como las industriales han empleado a los PO como sustancias secundarias para la fabricación de nuevos productos químicos o incluso se ha provocado la generación y liberación de forma no intencional de algunos COP como resultado de procesos térmicos y en algunos casos de reacciones químicas con compuestos clorados (Weber et al., 2011; Wang et al., 2016).

### **1.2.1.1 Comportamiento ambiental de los COP**

La amplia gama de aplicaciones y la larga persistencia de estos compuestos han propiciado el incremento desmedido de la contaminación, además, una vez que entran al ambiente, los COP pueden presentar una cinética muy variable dependiendo de las condiciones climáticas (temperatura, humedad, viento, entre otras) que se presenten, sin embargo, si se depositan y acumulan en suelo este puede convertirse en el principal sumidero de dichos contaminantes y continuar su liberación hacia otros compartimentos ambientales (Wong & Bidleman, 2011).

Las interacciones entre los suelos y COP en el medio ambiente están relacionadas con la persistencia, la fotodegradación, la degradación química y la degradación microbiana, afectando de esta forma la movilidad, la sorción, la absorción de plantas, la volatilización, la erosión eólica, el escurrimiento y la lixiviación de estos (Ashraf, 2017; Gavrilesco, 2005).

Además, la gran afinidad que los COP tienen por el suelo les puede permitir ser absorbidos por cultivos y animales de pastoreo primordialmente en aquellos que se alojan al aire libre como en las granjas de traspatio, pues al alimentarse ingieren partículas de suelo y los COP pueden bioacumularse en ellos y, por lo tanto, llegar a la cadena alimentaria humana. Algunos estudios han reportado que más del 80% de la exposición humana a estos compuestos es a través de la ingesta de alimentos de origen animal como lácteos, carne, huevo y pescado (Waegeneers et al., 2009; Weber et al., 2019).

También pueden ser arrastrados por la escorrentía del suelo hacia el curso de agua y emitidos a la atmósfera a través de la volatilización, lo que indirectamente propicia la contaminación de la hidrosfera y la atmósfera (Bidleman & Leone, 2004; Fu et al., 2003; Zhang et al., 2006).

En cuanto a la contaminación de la vegetación, esta sucede de dos maneras: 1) por deposición atmosférica y por la interacción de las ceras y grasas propias de

las plantas en las hojas; 2) a través de la absorción por la raíz y su transporte a la parte superior de la planta. Existen ciertas características de las plantas como la pilosidad y el contenido de cera de la cutícula, que determinan el grado de acumulación de partículas lipofílicas asociadas con los contaminantes orgánicos (Sojinu et al., 2012).

### **1.2.1.2 Efectos asociados a los COP**

Estudios previos han demostrado que los COP presentan potencial capacidad para producir efectos adversos en población humana. Entre ellos, se les ha asociado a disrupción endocrina, debido a que, pueden unirse a diferentes receptores nucleares, desplazando ligandos endógenos e interactuando con vías de señalización y sistemas hormonales, de tal forma que pueden afectar el hígado, la tiroides, el páncreas, las gónadas, las suprarrenales y desencadenar diversas patologías (Asp et al., 2010; De Tata, 2014).

También se ha evidenciado que el sistema inmune es altamente sensible a los efectos tóxicos de los COP, pero se sabe poco sobre las consecuencias a largo plazo en la población general expuesta a bajas concentraciones de estos compuestos. Algunos estudios, han planteado preocupaciones sobre los efectos, ya que se ha evidenciado que los COP, son capaces de producir inmunosupresión, lo que puede afectar tanto a los componentes humorales como a los mediados por células. Los efectos observados pueden variar desde una ligera modulación de las respuestas inmunitarias, en ausencia de cualquier evidencia de deterioro de la salud, hasta el desarrollo de una enfermedad inmunológica clínica (Glynn et al., 2008).

Por otra parte, en un estudio realizado por Valvi et al. (2014) se evidenció que la exposición prenatal al diclorodifenildicloroetileno (DDE) puede promover el rápido aumento de peso en los primeros 6 meses de vida y el consiguiente sobrepeso a los 14 meses. Además, en conjunto el DDT y sus metabolitos inducen un aumento

en la adipogénesis y un mayor riesgo de peso corporal alto, resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo II y dislipidemia (Howell & Mangum, 2011).

Por otra parte, la mayoría de los BPC se han asociado significativamente con el riesgo de cáncer de mama (Wielsøe et al., 2017). Arrebola et al. (2015), encontraron que el 24.8 % de los pacientes con cáncer de mama tenían una combinación de plaguicidas organoclorados como: aldrin, DDD y DDE, mientras que ninguna persona sana tenía esta combinación de químicos. En otro estudio, se encontraron niveles significativamente más altos de  $\beta$  y  $\gamma$ -HCH en 135 pacientes con cáncer de mama en la India (Mathur et al., 2002).

### **1.2.2 Los Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT)**

En estudios de tipo ambiental, el término “Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT)”, se utiliza para incluir a los metales, metaloides, no metales y otros elementos inorgánicos que son considerados tóxicos tanto para el ambiente como para la población humana dependiendo en gran medida de su concentración, biodisponibilidad y forma química en la que estén presentes (Pourret & Hursthouse, 2019; Biliás et al., 2021).

Entre sus propiedades, destacan la capacidad de bioacumulación al entrar a la cadena alimentaria y la alta persistencia, por lo que pueden migrar de la pedosfera a la hidrosfera, la atmósfera y/o la biosfera, lo que representa peligro significativo para la salud ambiental y humana (González-Mendoza et al., 2008; Gutiérrez-Ruiz et al., 2009; Nguyen et al., 2020).

Se encuentran de manera natural en el suelo como producto de los procesos de meteorización de la roca madre y constituyen el 1% de la masa de la corteza terrestre en concentraciones que normalmente, no superan los 1000 mg/kg. (Alloway, 2013). No obstante, las actividades antrópicas modifican e incrementan las concentraciones de EPT en los diferentes componentes del medio (Teng et al., 2014).

Entre las principales fuentes de contaminación de origen antrópico se encuentran la deposición atmosférica (las emisiones de la alta carga de tráfico, partículas generadas por el escape de vehículos, desgaste de los neumáticos, combustión de carbón y gasolina, polvo por desgaste de las carreteras), actividades industriales de diferentes giros (químico, metalúrgico, minería, centrales eléctricas, construcción), uso de agroquímicos (fertilizantes, plaguicidas), entrenamiento militar y prácticas de guerra y disposición indiscriminada de residuos industriales en vertederos no controlados (Kavamura & Esposito, 2010; Jehan et al., 2020).

Según Liu et al., (2018) existen a nivel mundial alrededor de 20 millones de hectáreas contaminadas con EPT, que superan las concentraciones base o los niveles regulatorios. Siendo, los elementos bario (Ba), vanadio (V), cromo (Cr), molibdeno (Mo), hierro (Fe), cobalto (Co), plomo (Pb), mercurio (Hg), cadmio (Cd), arsénico (As), cobre (Cu), manganeso (Mn), níquel (Ni), zinc (Zn), aluminio (Al), antimonio (Sb) y selenio (Se) de gran preocupación debido a su alta toxicidad y al riesgo potencial que representan tanto para los ecosistemas como para la salud humana (Tchounwou et al., 2012; Wu et al., 2016; Rehman et al., 2018; Uchimiya et al., 2020; Pavlović et al., 2021).

En México, existen reportes de la contaminación por EPT en matrices ambientales como son: cuerpos de agua, aire y suelo, asimismo, la acumulación de estos en tejidos de organismos acuáticos que son utilizados para el consumo humano. Además, se sabe que de acuerdo a su abundancia y toxicidad los principales EPT en el país son: mercurio (Hg), arsénico (As), plomo (Pb) y en algunos lugares el cromo (Cr) (Covarrubias & Peña Cabriales, 2017).

Desde el siglo pasado, una de las principales fuentes de contaminación ha sido la actividad minera que ha dejado cientos de millones de toneladas de jales dispersos en el territorio nacional que no han sido caracterizados y, por lo tanto, se desconoce su potencial de afectación al ambiente. (Ramos-Arroyo & Siebe-Grabach, 2006). Siendo los estados de Zacatecas (Mireles-García et al., 2012),

San Luis Potosí (Yáñez et al., 2003), Hidalgo (Espinosa et al., 2009) y Querétaro (INECC, 2020) los principales afectados por esta actividad.

No obstante, la aplicación de agroquímicos de manera intensiva también ha contribuido considerablemente al incremento de EPT en suelo, debido a que se ha identificado su presencia en fertilizantes (Cd, Cr, Mo, Pb, Zn), en la formulación de plaguicidas (Cu, As, Hg, Pb, Mn, Zn), en compost derivados de residuos sólidos convencionales (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) y en estiércol (Cu, As, Zn) (Alloway, 2013; Mahecha-Pulido et al., 2015).

### **1.2.3 Comportamiento ambiental de los EPT**

En el suelo, los EPT pueden estar presentes en las fases sólidas (arcillas y minerales) y líquidas (agua intersticial) en diferentes formas, por ejemplo, en solución, como iones libres, complejos orgánicos e inorgánicos, y debido a que no se degradan pueden tardar hasta miles de años en reducir su volumen. Sin embargo, experimentan una serie de transformaciones que son dependientes de diferentes factores y características fisicoquímicas del suelo, lo cual, determina su comportamiento físico y químico, movilidad a otras matrices ambientales, su disponibilidad biológica y toxicidad (Reyez-Guzmán, 2010).

A saber, los EPT pueden quedar retenidos en el suelo por procesos de adsorción, complejación y/o precipitación o pasar a la atmósfera por volatilización, moverse a cuerpos de agua o ser absorbidos por las plantas, permitiendo su incorporación a las cadenas tróficas (Rehman et al., 2020).

Algunas de las propiedades fisicoquímicas del suelo que juegan un papel importante en el comportamiento de los EPT, se describen a continuación:

- pH. Es una propiedad esencial para la solubilidad, disponibilidad y movilidad de los EPT, por lo general, los suelos presentan valores de pH en un rango de 4.0 a 8.5, mismo que puede verse alterado por condiciones de oxido-

reducción. A medida que cambia el pH, se desencadenan procesos de precipitación, sorción y/o desorción de EPT que dependen del contenido de materia orgánica o minerales arcillosos presentes, modificando así, la composición química y las velocidades de reacción (Sinche-González, 2007).

Cuando se presentan condiciones de pH bajo, la adsorción de EPT es más débil debido a la competencia por los sitios de la superficie por parte de los protones y los efectos de la carga repulsiva, haciendo que la mayoría de los EPT se encuentren disponibles en condiciones ácidas. En cambio, en rangos de pH neutros a ligeramente alcalinos, la sorción de cationes aumenta debido a la deprotonación de los sitios y a la carga superficial más favorable de minerales y materia orgánica, por lo que, se presenta una disminución de la movilidad (Dijkstra et al., 2004; Ponting et al., 2021).

- **Materia orgánica.** En general, la materia orgánica está relacionada con la biodisponibilidad de los EPT, debido a su alta capacidad de formar complejos órgano-metálicos como consecuencia del gran número de grupos funcionales que posee y que a su vez, presentan afinidad por los iones metálicos (Reichman, 2002). Por lo tanto, al aumentar la cantidad de materia orgánica en el suelo, también aumenta la capacidad de adsorber EPT, haciendo que la biodisponibilidad disminuya, ya que las plantas no absorben complejos metálicos grandes (Dijkstra et al., 2004).
- **Minerales de arcilla.** La mayoría de las arcillas presentan cargas negativas en su superficie, lo que permite reducir el movimiento de los cationes metálicos en solución del suelo y, por lo tanto, disminuye su solubilidad y biodisponibilidad. Tanto el contenido como el tipo de arcillas juegan un papel importante en la retención de iones, por ejemplo, las arcillas montmorilloníticas presentan una capacidad mayor de retención en comparación con las kandíticas (Ramos, 2018).

- Óxidos de hierro, manganeso y aluminio. Los hidróxidos de Fe y Mn influyen en la solubilidad de Pb, Zn, Cd y Cu. Además, tienen mayor capacidad de adsorción que los hidróxidos de Al y otros minerales de arcilla. Sin embargo, al aumentar el contenido de hidróxidos de Fe, Mn y Al en el suelo aumentan los sitios de adsorción y se reduce directamente su biodisponibilidad (Rimassa et al., 2006)

Desde un punto de vista ambiental, es primordial conocer las condiciones naturales que pueden conducir a la liberación de varios EPT, ya que, las fracciones móviles y biodisponibles pueden representar un riesgo a la biota y a la salud pública de las poblaciones cercanas (Perea-Vélez, 2014).

### **1.3 Evaluación de riesgo potencial**

Históricamente, la evaluación de riesgos se estableció como un método para abordar los problemas de salud a principios de 1970. Posteriormente, la promulgación de la Ley de Responsabilidad, Compensación y Responsabilidad Integral del Medio Ambiente de 1980 (CERCLA, por sus siglas en inglés), fue el principal impulso para la evaluación de los sitios contaminados, la cual estableció un programa nacional para la remediación de sitios impactados por emisiones de sustancias peligrosas con el objetivo de proteger la salud humana y el medio ambiente (EPA, 2018).

En los sitios contaminados es común que la problemática ambiental involucre múltiples factores estresantes y varios medios impactados. En este contexto surgen las metodologías que tienen como objetivo, la identificación de los riesgos y la determinación de las magnitudes de los riesgos identificados. Dos de ellas complementarias entre sí, son las más populares; una metodología fue diseñada por la Agencia para las Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades del Departamento de Salud Pública (ATSDR), la metodología de Evaluación de Riesgo en Salud Humana (ERSH), misma que se enfocó en la evaluación el riesgo en salud, con fundamento en datos ambientales y antecedentes de salud registrados en el sitio de interés (ATSDR, 1994). La otra fue originada por la



Agencia de Protección Ambiental misma que se denominó Evaluación de Riesgo Ecológico (ERE), la cual, es un proceso que “evalúa la probabilidad de que los efectos ecológicos adversos puedan ocurrir o estén ocurriendo como resultado de la exposición a uno o más estresores” (EPA, 1998)(EPA, 1998).

Las metodologías antes descritas, por razones prácticas, se han desarrollado de manera independiente para la evaluación de riesgo en salud humana y para biota (riesgo ecológico); sin embargo, es necesario establecer mejores niveles de protección tanto al ser humano como a los otros componentes del ambiente, por ello fue imprescindible diseñar una metodología de evaluación de riesgo integrada que contemplara tanto a la población humana como a los otros receptores ecológicos en un solo proceso, esta es la Metodología Integrada de Riesgo (MIR) (INE, 2005).

Dicha metodología, evalúa de manera simultánea a diferentes componentes del ecosistema, enfocándose a los escenarios reales, tales como: la presencia de mezclas de contaminantes, diferentes compartimentos ambientales, varias rutas de exposición y sobre todo el impacto simultáneo sobre los diversos receptores. Además, plantea el uso de biomarcadores de exposición y efecto, dando un plus al mejorar el entendimiento de los efectos biológicos de los xenobióticos en poblaciones silvestres en un contexto real reduciendo las incertidumbres de las evaluaciones ambientales y de estudios con organismos de laboratorio en un sistema controlado (Díaz-Barriga, 1999).

La MIR comprende 3 etapas principales: 1) Evaluación general del sitio: que consiste en realizar la visita al lugar para obtener datos de identidad tales como: actividades que se desempeñan, información geográfica y demográfica, características ecológicas, posibles contaminantes, poblaciones receptoras, rutas y vías de exposición; 2) Evaluación de la exposición y efectos: se evalúa la contaminación ambiental mediante un plan de muestreo, en este caso en la matriz suelo lo que permite definir el contaminante crítico. Posteriormente se realiza un estudio con las especies nativas, mediante el empleo de biomarcadores de

exposición y efecto y 3) Caracterización del riesgo: implica la integración de la información para poder determinar si existe riesgo ecológico, y de ser así, debe establecerse un modelo conceptual del sitio a fin de controlar las rutas de exposición y reducir el riesgo (INE, 2005).

#### **1.4 Bioindicadores**

Las interacciones entre los organismos y el medio ambiente son parte fundamental en la comprensión de la relación entre la salud y el desarrollo de efectos adversos. Se ha evidenciado que la exposición a distintos contaminantes puede inducir cambios a nivel celular, fisiológico y de comportamiento en los organismos (Sonne et al., 2020).

Algunos organismos pueden ser de utilidad para evaluar la salud ambiental, debido a la gran susceptibilidad que presentan ante estresores ambientales. Se considera un buen bioindicador a aquellos organismos que tienen representatividad espacial y ecológica, disponibilidad, sensibilidad y longevidad (Pollack et al., 2017).

Las aves son útiles debido a su capacidad de bioacumulación, en particular, las aves de traspatio son candidatas a ser bioindicadores como consecuencia de su alta interacción con el suelo debido en parte a la adaptación que presentan sus patas para escarbar, lo que les permite encontrar sus alimentos naturales (gusanos, insectos, semillas y materiales vegetales) y en algunos casos también realizar el anidamiento directo en suelo (Cuca-García, 2018; Gutiérrez-Triay et al., 2007).

Los bioindicadores proveen información acerca de las condiciones del ambiente que habitan, por lo que son importantes en la evaluación de riesgo ecológico. Además, en estos organismos es posible evaluar ciertos biomarcadores de exposición y efecto genotóxico como las mutaciones genéticas, micronúcleos (MN), intercambio de cromátidas hermanas, aberraciones cromosómicas, estructurales y numéricas (Bonassi & Au, 2002; More et al., 2019).

## **1.5 Biomarcadores**

Un biomarcador es definido como una característica biológica que se encuentra en los fluidos o tejidos del cuerpo, y que se evalúa objetivamente como una indicación de un proceso normal o anormal, de una afección o de una enfermedad (Strimbu & Tavel, 2010).

Se pueden utilizar en la detección, el diagnóstico, la caracterización y el seguimiento de enfermedades; también en el desarrollo de tratamientos personalizados, así como, para predecir reacciones adversas a medicamentos en estudios farmacodinámicos y dosis-respuesta (Aronson & Ferner, 2017).

### **1.5.1 Biomarcadores de exposición**

Los biomarcadores de exposición son aquellos que evalúan en un organismo la presencia de una sustancia exógena, un metabolito o el producto de la interacción entre el agente xenobiótico y una molécula o célula diana (OMS, 1993).

Son útiles en la evaluación de riesgo, ya que, permiten identificar los cambios biológicos producidos por la exposición a bajas concentraciones de diferentes compuestos, además ayudan en la comprensión de los mecanismos de acción de diferentes xenobióticos y sirven de base para la elaboración de guías de biomonitoreo (Arango & Sandra, 2012).

### **1.5.2 Biomarcadores de efecto**

Los biomarcadores de efecto se definen como una “alteración inducida por un xenobiótico en componentes o procesos, estructuras o funciones celulares o bioquímicas y que es susceptible de medición en un sistema o muestra biológica” (INE, 2005).

Entre los biomarcadores de efecto se encuentran los que evalúan cambios bioquímicos, que brindan información sobre el daño oxidativo en el ácido

desoxirribonucleico (ADN) y proteínas, alteraciones en una amplia gama de enzimas, como enzimas reparadoras de ADN y proteínas de unión a xenobióticos, entre otros. Los biomarcadores de efecto también miden las alteraciones en objetivos genéticos importantes como el ADN, para los cuales se han utilizado modelos *in vitro* e *in vivo*, dichos biomarcadores son de genotoxicidad ya que, evalúan las rupturas de ADN, aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas y micronúcleos, entre otros (Sarasin, 2003).

El ensayo de MN fue desarrollado inicialmente en eritrocitos inmaduros de la médula ósea de ratones (von Ledebur & Schmid, 1973), sin embargo, la obtención de las células implicaba sacrificar a los roedores, por ello, se desarrolló un nuevo método en eritrocitos de sangre periférica (CSGMT, 1992).

Este ensayo se ha empleado como biomarcador de daño cromosómico, inestabilidad del genoma y evaluación del riesgo de cáncer, además de ser utilizado para las pruebas de genotoxicidad de sustancias químicas, en las pruebas de detección de peligros, así como, componente de las evaluaciones de riesgo basadas en la exposición (Brusick et al., 2016).

Al ser un criterio de evaluación sensible de daño cromosómico, el ensayo de MN se incluye en la batería de pruebas genotóxicas, por lo que ha sido aprobado por varias agencias internacionales como el comité de micronúcleos del Programa Gen-Tox de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (Heddle et al., 1983) y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) (OCDE, 2014).

## 2. ANTECEDENTES

A continuación, se presenta una breve descripción de diversos estudios que han abordado la evaluación de riesgo ecológico por COP, tanto en regiones agrícolas como en zonas industriales del giro químico.

En China, Ren et al. (2018), realizaron un estudio en cuatro plantas de clorobenzenos (CB). Reportando concentraciones de dioxinas y furanos que variaron de  $8.4 \times 10^3$  -  $4.0 \times 10^6$  ng TEQ/kg,  $1.5$ - $5.0 \times 10^4$  ng TEQ/kg, ND- $0.12$  ng TEQ/kg y  $6.0 \times 10^4$  -  $9.1 \times 10^4$  pg TEQ/L, en residuos, subproductos, productos y aguas residuales, respectivamente. Los congéneres más abundantes fueron 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 2,3,7,8-TeCDF y 2,3,4,7,8,-PeCDF, siendo este último el congénere dominante en la mayoría de las muestras. Los autores concluyeron que los furanos se formaron principalmente en las reacciones de cloración y que los subproductos y las aguas residuales fueron las principales vías de liberación ambiental de dichos compuestos.

Por otro lado, Qu et al. (2015), analizaron suelo superficial de tierras de cultivo en Ningde, China y reportaron la presencia de COP en un rango de concentraciones entre 3.66 a 658.42 ng/g, siendo HCH, DDT y endosulfán los compuestos predominantes. Los niveles de contaminación de COP en los suelos agrícolas al compararlos con los estándares nacionales se consideraron seguros para la producción de cultivos, sin embargo, representan riesgos carcinogénicos significativos para las poblaciones expuestas según los resultados calculados de los parámetros de riesgo de cáncer incremental de por vida (ILCR, por sus siglas en inglés).

En otro estudio, Song et al. (2012), caracterizaron los residuos de CB, hexaclorociclohexanos (HCH) y diclorodifeniltricloroetanos (DDT) en un campo agrícola cercano a una planta química en China. Sus resultados evidenciaron que todos los CB, excepto el monoclorobenceno se detectaron en suelo. Las

concentraciones de la  $\Sigma$ CB presentaron un rango de 71.06 a 716.57 ng/g. Los principales CB en las muestras de suelo fueron los diclorobencenos, triclorobencenos y tetraclorobencenos, siendo el congénere 1,2,4-triclorobenceno el de mayor concentración con un rango de 0.9 a 11.79 ng/g. Respecto a la evaluación de riesgo ecológico, se evidenció que el riesgo potencial provenía de los tri y tetraclorobencenos, de acuerdo con los cocientes de riesgo. Además, los cocientes de peligro superiores a 1 para los CB indicaron que el campo agrícola no es seguro para la producción de hortalizas y, por tanto, es necesaria la remediación.

En México se han realizado evaluaciones de riesgo ecológico principalmente en zonas mineras (Carrizales et al., 2006; Espinosa-Reyes, 2007; Jasso-Pineda et al., 2007), sin embargo, en áreas impactadas por contaminación proveniente de zonas industriales de giro químico y/o petroquímico solo se tienen reportados dos estudios realizados en Coatzacoalcos, Veracruz, sitio donde se encuentran algunos de los complejos industriales más importantes de México y América Latina y es considerado uno de los más contaminados en el país.

Uno de los estudios es el de Ilizaliturri-Hernández, (2010), quien evaluó un sistema de humedales donde evidenció la presencia de COP en suelo y tejido de sapos gigantes residentes en la región, mismos que presentaron efectos subletales relacionados directamente con la exposición a dichos contaminantes. De acuerdo con la integración de la información y caracterización del riesgo se identificó un riesgo alto tanto para las poblaciones de sapos gigantes como para otras especies del humedal, por lo que, es necesaria la intervención en el sitio.

El otro estudio es el de González-Mille et al. (2010), donde reportaron la presencia de HCB, HCH, DDT, DDE y BPC en sedimentos y tejido muscular de peces, los cuales superaron los valores de protección de guías internacionales, lo que sugirió un riesgo potencial para la vida acuática de la región. Además de que los peces presentaron daño al ADN, evaluado por ensayo cometa.

En cuanto al estado de Tlaxcala, los estudios sobre riesgo ecotoxicológico son nulos, sin embargo, existen algunas investigaciones que abordan la problemática de contaminación en matrices ambientales y sus efectos en modelos biológicos, de los cuales se hace una descripción a continuación.

Juárez-Santacruz et al. (2013), evaluaron la presencia de COP en sedimentos superficiales de los ríos Zahuapan y Atoyac, así como, su efecto genotóxico en *Vicia faba* de éstos y de suelos agrícolas del municipio de Tepetitla de Lardizabal. Analizaron isómeros de HCH, DDT y su metabolito DDE, HCB, mirex, aldrín, y 41 congéneres de BPC. Las concentraciones de HCB,  $\Sigma$ DDT,  $\Sigma$ HCH y  $\Sigma$ BPC variaron de 45 a 450, 3 a 27, 138 a 510 y 59 a 1876  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso seco, respectivamente. En el río Atoyac se encontraron los niveles más altos de HCB, isómeros de HCH, y BPC, estos compuestos tienen el potencial para causar un impacto ambiental. Por otro lado, la prueba biológica muestra que ambos, sedimentos y suelos agrícolas, poseen un potencial genotóxico, dado que se presentó un incremento en la frecuencia de MN en *V. faba*.

García-Nieto et al. (2019), evaluaron los sedimentos del río Texcalac y suelos agrícolas aledaños a éste, los valores más altos de BPC, en sedimento se ubicaron en un punto cercano a una zona de cultivo (32,547  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) y en otro cerca de la barranca San Cosme (24,538  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Estas concentraciones superan la norma de Nueva Jersey (NJDEP, 70  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) para la protección de la biota. En suelos agrícolas el valor máximo fue de 88,022  $\mu\text{g}/\text{kg}$  en una muestra localizada a la orilla de la barranca Sambrano, superando el límite máximo permisible de la norma oficial mexicana de protección ambiental (NOM-133-SEMARNAT-2000, 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

Juárez-Santacruz et al. (2015), cuantificaron algunos COP (p,p' DDT, p,p' DDE y 41 congéneres de BPC) en suelos agrícolas de los municipios de Tepetitla y Nativitas. Además, evaluaron la capacidad genotóxica de éstos y sus extractos orgánicos usando a *V. faba* como bioindicador. Los valores más altos de BPC se

encontraron en 2 muestras de Tepetitla (4 671  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y 26 983  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , T1 y T2 respectivamente) superando el límite máximo permisible de la norma oficial mexicana de protección ambiental (NOM-133-SEMARNAT-2000, 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) y de las guías canadienses sobre la calidad del suelo para el medio ambiente y la salud (SQGE=500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Respecto a la prueba de genotoxicidad, reportaron porcentajes de fragmentación de ADN más altos y estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ) que el control negativo, tanto en suelos agrícolas como en los extractos orgánicos.

Cabe mencionar que en el municipio de El Carmen Tequexquitla aún no se tienen reportados estudios sobre la problemática ambiental del sitio.



### 3. JUSTIFICACIÓN

En el estado de Tlaxcala se encuentran diferentes industrias, entre ellas la zona industrial de El Carmen Tequexquitla, dedicada a la producción de clorobencenos y sus productos derivados, la cual, de acuerdo con la literatura por los procesos que involucra puede generar COP (dioxinas, furanos, HCB, pentaclorobenceno, pentaclorofenol, BPC y clorobencenos) de manera no intencional (Weber et al., 2008, 2011; Alba-González et al., 2017). Además, esta zona industrial se estableció en la década de los ochenta y durante este periodo ha presentado explosiones en distintas ocasiones, las cuales se consideran accidentes de alto riesgo ambiental (SEMARNAT, 2016).

Por otro lado, el uso de plaguicidas en este municipio también ha sido considerable, debido a que en más del 40 % del territorio municipal se realizan actividades agrícolas mecanizadas (INEGI, 2009). Por lo que, tanto la zona industrial como la región agrícola son sitios potencialmente peligrosos.

Para determinar si estos sitios representan un riesgo para los receptores ecológicos, se han desarrollado e implementado algunas metodologías (Torres-Dosal, 2006), que en su mayoría están enfocadas en determinar la concentración de los xenobióticos en matrices ambientales e inferir el riesgo que representan para las poblaciones ecológicas. Lo que proporciona una incertidumbre al no conocer los efectos reales que pueden estar presentes en dicha población. Además, presentan limitaciones para ser aplicadas en países en vías de desarrollo debido a que estos carecen de los recursos para poder implementarlas.

Por ello, se han diseñado nuevas metodologías que se adaptan a las condiciones de los países subdesarrollados y que tienen la misma validez y confiabilidad en los resultados. Una de ellas es la Metodología Integrada de Riesgos (MIR), la cual, evalúa de manera simultánea a diferentes componentes del ecosistema, enfocándose a los escenarios reales, tales como: la presencia de mezclas de

contaminantes, diferentes compartimentos ambientales, varias rutas de exposición y sobre todo el impacto simultáneo sobre los diversos receptores. Además, plantea el uso de biomarcadores de exposición y efecto, dando un plus al mejorar el entendimiento de los efectos biológicos de los xenobióticos en poblaciones silvestres en un contexto real reduciendo las incertidumbres de las evaluaciones ambientales y de estudios con organismos de laboratorio en un sistema controlado (Díaz-Barriga, 1999).

Por lo que, mediante la aplicación de la MIR en el municipio antes mencionado, se obtendrá un modelo conceptual de la zona que sea útil para los tomadores de decisiones y como consiguiente dará pauta al desarrollo de nuevos proyectos para la región.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo general**

Evaluar los Compuestos Orgánicos Persistentes presentes en la zona agrícola-industrial de El Carmen Tequexquitla, Tlaxcala desde un enfoque ecotoxicológico, con base en la Metodología integral de riesgos para caracterizar y sustentar el riesgo de estos compuestos en la zona.

### **4.2. Objetivos específicos**

- a) Caracterizar el suelo de la zona de estudio a través de parámetros fisicoquímicos y técnicas de química analítica para conocer la cinética ambiental y estimar el riesgo potencial de Compuestos Orgánicos Persistentes.
- b) Identificar el/los contaminantes críticos mediante una Metodología de evaluación rápida para priorizar el riesgo que representen los Compuestos Orgánicos Persistentes.
- c) Evaluar el peligro a través de índices de integridad biótica sustentado en biomarcadores de exposición y daño, para contribuir al conocimiento del riesgo biológico.
- d) Evaluar la dosis absorbida a través de la estimación de la exposición mediante un método determinístico para contribuir al conocimiento del potencial de riesgo en población humana.
- e) Analizar el riesgo asociado a compuestos orgánicos persistentes y Elementos Potencialmente Tóxicos mediante una correlación estadística entre indicadores de peligro, exposición y daño, para robustecer técnicas de estudio de riesgo ecotoxicológico y sustentar la Gestión y Manejo del riesgo en la zona.

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1 Ubicación del área de estudio

La zona se sitúa al este del municipio de El Carmen Tequexquitla en el estado de Tlaxcala, entre los paralelos de 19°17' y 19°24' de latitud norte y los meridianos 97°37' y 97°44' de longitud oeste a una altitud de 2,400 msnm: Sus coordenadas geográficas son: latitud norte 19°19'53.93" y longitud oeste 97°38'34.78" (INAFED, 2010). Para delimitar dicha zona se consideró como punto central la industria de Clorobencenos S.A. de C.V. y se trazó una circunferencia con radio de 2,500 m, por lo que el área comprende un total de 19,635 km<sup>2</sup> y está integrada por 3 zonas principales: urbana, agrícola e industrial (Figura 1).

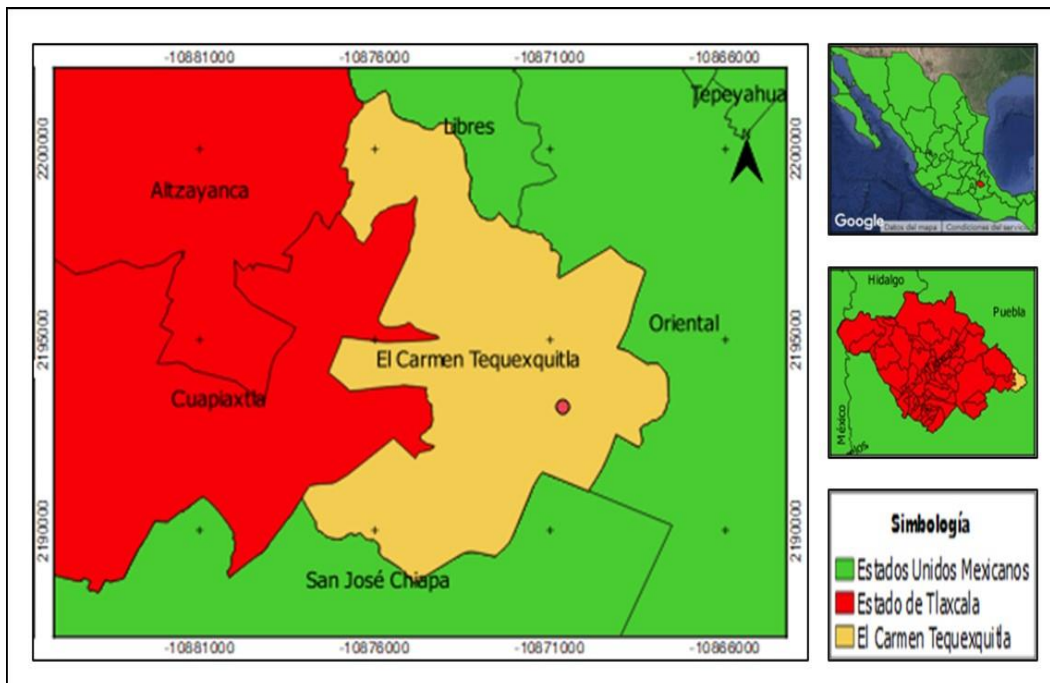


Figura 1. Ubicación del municipio de El Carmen Tequexquitla, Tlaxcala. (Fuente propia).

### **5.1.1 Descripción del área**

Se realizó una búsqueda bibliográfica, sistemática y dirigida sobre los antecedentes generales de la zona, como son: clima, fisiografía, tipo de suelo, flora, fauna, demografía y actividades productivas.

### **5.2 Muestreo exploratorio de suelo**

En diciembre de 2018, se realizó un muestreo exploratorio considerando 6 muestras aleatorias de suelo del área circundante a la zona agrícola-industrial de El Carmen Tequexquitla, Tlaxcala, para identificar cualitativamente los probables compuestos orgánicos persistentes presentes y determinar las propiedades fisicoquímicas que pueden influir en la cinética ambiental de dichos compuestos (Figura).

En cada punto se recolectó una muestra de suelo superficial (0 a 10 cm), de acuerdo con el método EPA-600/4-83-020 (Mason, 1983). Con una pala de acero inoxidable se recolectó aproximadamente 1 kg de suelo de cada punto y se almacenó en bolsas de aluminio para su transporte al laboratorio, donde se realizó el secado a temperatura ambiente y su posterior homogenización pasando el suelo por un tamiz de acero inoxidable con malla de 600  $\mu\text{m}$ . Las muestras se almacenaron a 4°C hasta su análisis correspondiente.

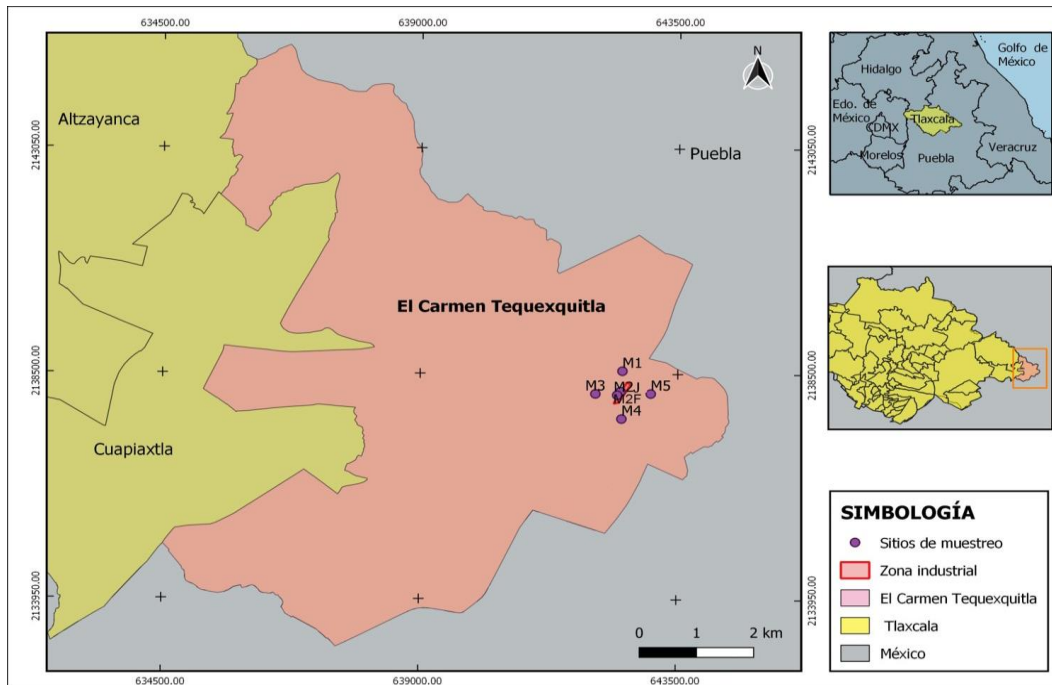


Figura 2. Ubicación de los puntos del muestreo exploratorio

## 5.2.1 Determinación de las propiedades fisicoquímicas del suelo

### 5.2.1.1 Determinación de pH

La determinación de pH se realizó mediante la relación suelo:agua 1:2 (p/v) (NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002). En un vaso de precipitados de 50 ml se colocaron 10 g de suelo y se agregaron 20 ml de agua. Se agitó de manera intermitente por 30 min y se dejó reposar 15 min. Al finalizar, nuevamente se agitó la suspensión y se midió el pH con un potenciómetro marca Denver Instruments modelo 215.

### 5.2.1.2 Materia orgánica

La materia orgánica (MO) se evalúa a través del contenido de carbono orgánico mediante el método de Walkley y Black (NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002). El principio de la técnica consiste en la oxidación del carbono orgánico del suelo al mezclarse con una disolución de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) en un medio fuertemente ácido generado por el ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4$ ). El exceso del oxidante ( $K_2Cr_2O_7$ ) se determina titulando con una solución de sulfato ferroso ( $FeSO_4$ ) cuya concentración es conocida el cual actúa como reductor. Este

procedimiento permite detectar entre un 70 % y un 84 % del carbono orgánico total por lo que se introduce un factor de corrección (1/0.77).

Se pesaron 0.5 g de muestra y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 500 ml, se añadieron 10 ml de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) 1N y 10 ml de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) concentrado. Se agitó suavemente durante 1 min para asegurar que toda la muestra estuviera en contacto con los reactivos y así evitar que partículas de suelo quedaran adheridas a la pared del matraz. Se dejó reposar 30 min y enseguida se adicionaron 200 ml de agua destilada y 5 ml de ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) concentrado, finalmente se adicionaron 5 gotas del indicador difenilamina. La titulación se realizó con sulfato ferroso ( $FeSO_4$ ) 1M previamente valorado, gota a gota hasta el punto final indicado por un color verde claro. A la par se procesó un blanco de reactivos. El contenido de materia orgánica se determinó a través de las siguientes fórmulas:

$$\%C \text{ orgánico} = \frac{(B - M)}{g} (N)(0.39)mcf \quad (1)$$

$$\%MO = (\%C \text{ orgánico})(1.724) \quad (2)$$

Donde:

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

M = Volumen de sulfato ferroso gastado para valorar la muestra (ml)

N = Normalidad del sulfato ferroso

g = Peso de la muestra empleada (g)

mcf = Factor de corrección de humedad

El porcentaje de materia orgánica se clasificó con base a la NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece los valores para suelos volcánicos, clasificándolos como: muy bajos < 4.0, bajos 4.1 - 6.0, medios 6.1 - 10.9, altos 11.0 - 16.0 y muy altos >16.1.

### 5.2.1.3 Capacidad de intercambio catiónico

La determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por McKean, (1993). Se pesaron 5 g de suelo y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 125 ml, se añadieron 25 ml de acetato de amonio y se agitó durante 30 min, en seguida se filtró al vacío y se realizaron 5 lavados con alcohol etílico al 96 %. Posteriormente, se realizaron 5 lavados de 10 ml cada uno con cloruro de sodio (NaCl) al 10 %, los cuales se recolectaron en un matraz Erlenmeyer de 125 ml, se añadieron 10 ml de formaldehído al 38 % y 3 gotas de indicador fenolftaleína. La titulación se realizó con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 M hasta un color rosa pálido permanente. Al mismo tiempo se realizó un blanco de reactivos.

Los cálculos se realizaron con la siguiente expresión:

$$CIC = \frac{\left(\frac{B * N * VE}{VA}\right) 100}{W} \quad (1)$$

Donde:

CIC=

B = Volumen de hidróxido de sodio gastado para valorar la muestra

N = Normalidad del hidróxido de sodio

VE = Volumen del extracto

VA = Volumen de la alícuota

W = Peso de la muestra

La CIC se expresa en Cmol(+)/Kg.

### 5.2.1.4 Textura

La determinación de la textura se realizó por el método del hidrómetro de Bouyoucos (NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002). Se pesaron 50 g de muestra y se



colocaron en un vaso de precipitados de 250 ml, se añadió agua destilada hasta cubrir la superficie con una lámina de 2 cm, se adicionaron 5 ml de oxalato de sodio y 5 ml de metasilicato de sodio, se agitaron y dejaron en reposo durante 15 min. En seguida, se vertió el contenido en la copa de la batidora de pie (Hamilton beach) y se dispersó durante 5 min.

Posteriormente, el contenido se vertió a una probeta de 1 L, se le colocó un hidrómetro y se adicionó agua destilada hasta completar el litro. Se retiró el hidrómetro y se suspendió el suelo con un agitador de mano durante 1 min. Se realizaron dos lecturas con el hidrómetro, la primera a los 40 segundos y la segunda 2 h después de la agitación, al mismo tiempo se anotó la temperatura de la muestra y por cada grado centígrado arriba o debajo de 19.5 °C se aplicó una corrección de 0.36 graduaciones sobre el hidrómetro.

Para determinar el contenido de arena, limo y arcilla se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ de Arena} = (100 - (\text{lectura corregida a los 40s} \times 2)) \quad (2)$$

$$\% \text{ de Arcilla} = ((\text{lectura corregida a las 2h} \times 2)) \quad (3)$$

$$\% \text{ de Limo} = (100 - (\% \text{ de arena} + \% \text{ de arcilla})) \quad (4)$$

Para identificar la clase textural del suelo se empleó el triángulo de texturas de la USDA (United States Department of Agriculture) sobreponiendo los datos.

### **5.3 Determinación de COP en suelo**

Se estandarizó el método para cuantificar 17 PO: hexaclorobenceno (HCB), diclorodifeniltricloroetano (DDT), diclorodifenildicloroetano (DDD), diclorodifenildicloroetileno (DDE), alfa, beta, gama y delta hexaclorociclohexano ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ -HCH), heptacloro, heptacloro epóxido, aldrín, endosulfán I y II, endosulfán sulfato, dieldrín, endrín, endrín aldehído) y 28 congéneres de bifenilos policlorados (BPC 49, 52, 66, 81, 95, 99, 101, 110, 114, 118, 123, 126, 128, 132, 138, 141, 149, 151, 153, 156, 157, 167, 170, 180, 183, 187, 194 y 206).

#### **5.3.1 Extracción orgánica de COP en suelo**

Para la extracción de COP en suelo se empleó la metodología propuesta por Flores-Ramírez et al. (2015), con ligeras modificaciones. En un tubo de vidrio de 50 ml se colocó 1 g de suelo y se añadieron 10 ml de una mezcla hexano/diclorometano (75:25 v/v, J.T. Baker/J. T. Baker). En el tubo de vidrio se introdujo una punta de titanio de 3 mm del procesador ultrasónico (GEX 130) aplicando una potencia de irradiación de 60 % durante 1 min, el extracto se transfirió con pipeta Pasteur a otro tubo, este proceso se realizó por duplicado. Posteriormente, el extracto se centrifugó durante 5 min a 3,500 rpm, el sobrenadante se filtró con papel Whatman No. 1 y el filtrado se evaporó a 37 °C en rotavapor (Eseve) hasta un volumen de 1 ml. La limpieza del extracto se realizó utilizando un cartucho de florisil (Thermo Scientific) previamente acondicionado con 3 ml de hexano (J.T. Baker) y se eluyó con 4 ml de hexano/diclorometano (75:25) y 4 ml de hexano/acetona (85:15). Finalmente, se evaporó a 37 °C con corriente suave de nitrógeno (Alta pureza 99.997%, INFRA) hasta obtener un volumen de 200  $\mu$ l.

#### **5.3.2 Cuantificación de COP por CG-EM**

Se empleó un cromatógrafo de gases (CG) marca Thermo-Scientific Modelo Trace GC 1310 acoplado a un espectrómetro de masas (EM) de triple cuadrupolo

Modelo TSQ 8000, usando una columna capilar HP (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ ) (Thermo-Scientific). El ajuste del horno fue el siguiente: 90 °C (2 min.), 180 °C (30 °C/min), 200 °C (1 °C/min), 265 °C (2 °C/min), 310 °C (30 °C/min) con un tiempo de ejecución de 62 min. El puerto de inyección fue operado a 230 °C en modo splitless. Como gas portador se usó helio UAP (ultra alta pureza 99.999%, INFRA) con un flujo constante de 1 ml/min.

#### 5.4 Muestreo sistemático de suelo

Para evaluar la presencia y dispersión de los 17 plaguicidas organoclorados se realizó un muestreo sistemático radial en junio de 2019; se consideraron 5 radios en un rango de 250 a 2,500 m, donde se incluyeron 20 puntos de muestreo para la recolección de suelo superficial siguiendo la metodología descrita en el muestreo exploratorio, en la determinación de propiedades fisicoquímicas y en la cuantificación de los COP (Figura 3).

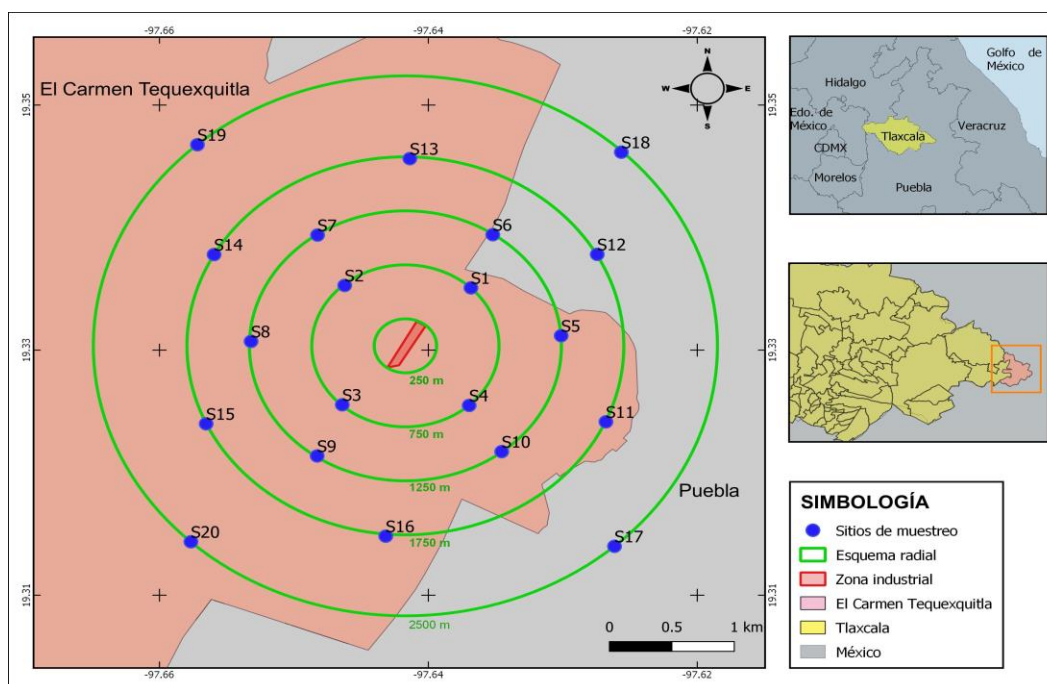


Figura 3. Ubicación de los sitios del muestreo sistemático radial

## **5.5 Muestreo biológico**

### **5.5.1 Plantas silvestres**

En junio de 2019, se recolectaron 4 especies de plantas (*Opuntia sp.*, *Cynodon sp.*, *Argemone sp.* y *Agave sp.*) que fueron seleccionadas por ser representativas de la zona, por contribuir a la prevención de erosión del suelo y por servir de alimento para ganado y/o población humana.

Las muestras se transportaron al laboratorio y se lavaron sucesivamente con agua desmineralizada para eliminar las partículas de suelo y polvo que tuvieran adheridas. En seguida, las hojas, raíces y flores fueron separadas y secadas en una estufa (HACH) a 50 °C. Posteriormente, se almacenaron en bolsas de papel de estraza y se conservaron a 4 °C hasta su análisis correspondiente.

### **5.5.2 Animales de traspatio**

#### **5.5.2.1 Grupo de referencia**

En diciembre de 2019, se adquirió un grupo de 9 gallinas adultas criadas bajo condiciones controladas de cautiverio en jaulas cuya alimentación consistió exclusivamente de alimento comercial. De cada individuo, se obtuvo una muestra de sangre, hígado y músculo para identificar y cuantificar COP. La sangre fue almacenada a 4 °C en tubos previamente heparinizados. Por otro lado, los hígados y músculos se almacenaron en bolsas de aluminio a 4 °C para su transporte al laboratorio, donde se cortó en trozos pequeños utilizando tijeras de acero inoxidable y en seguida, se procedió a al secado a 40 °C. Posteriormente, las muestras se almacenaron a 4 °C hasta su análisis correspondiente.

#### **5.5.2.2 Grupo expuesto**

En octubre de 2020, se obtuvo un grupo de 7 gallinas adultas de traspatio (6 hembras y 1 macho) procedentes de la zona de estudio. Las gallinas vivían en un sistema de campo libre, no estaban dedicadas a la producción comercial de huevo

y se les alimentaba con maíz cosechado en el mismo sitio. Todas fueron trasladadas al laboratorio de Toxicología y Química Ambiental del CIGyA, UATx para ser sacrificadas. De cada individuo se obtuvo una muestra de sangre, hígado y tejido muscular para la identificación y cuantificación de COP. Todos los individuos fueron procesados de la misma forma que las muestras de los individuos correspondientes al grupo de referencia.

### **5.5.3 Cuantificación de COP en plantas silvestres**

#### **5.5.3.1 Extracción de COP en hojas de *Cynodon sp.* y *Argenome sp.***

Se empleó la metodología descrita por Murga-Juárez et al. (2017), misma que se describe brevemente: las hojas se cortaron con tijeras de acero inoxidable y se tamizaron en una malla de 1 mm, en seguida se pesaron 2 g de muestra y se colocaron en un sistema de extracción Soxhlet (Electrothermal) usando 230 ml de una solución hexano:acetona (1:1 v/v, J.T. Baker/J. T. Baker) durante 8 h. A continuación, el extracto se concentró en un rotavapor (Eseve) hasta obtener un volumen de 5 ml. La limpieza del extracto y el análisis cromatográfico se realizaron bajo el método descrito para suelo.

#### **5.5.3.2 Extracción de COP en *Opuntia sp.***

Se empleó la metodología descrita por Adeleye et al. (2019), misma que se describe brevemente: Dos gramos de la muestra pulverizada se colocaron en un sistema de extracción Soxhlet (Electrothermal) usando 230 ml de diclorometano (J. T. Baker) durante 4 h. En seguida el extracto se concentró con un rotavapor (Eseve) a 41 °C hasta un volumen de 5 ml. La limpieza del extracto y el análisis cromatográfico se realizaron bajo el método descrito para suelo.

#### **5.5.3.3 Extracción de COP en *Agave sp.***

Se pesaron 2 g de hojas pulverizadas y se colocaron en vasos de Teflón Xpress y se añadieron 25 ml de una mezcla hexano:acetona (1:1 v/v) para realizar la extracción mediante horno de microondas marca CEM modelo MARS 6 con una

temperatura de 110 °C y una presión de 100 psi durante 15 min. Al finalizar la extracción, las muestras se filtraron con papel Whatman No. 1 y el extracto se concentró en un rotavapor (Eseve) hasta obtener un volumen de 5 ml. La limpieza del extracto y el análisis cromatográfico se realizaron bajo el método descrito para suelo.

#### **5.5.4 Cuantificación de COP en gallinas de traspatio**

##### **5.5.4.1 Extracción de COP en plasma, hígado y músculo**

Se empleó la metodología descrita por Barrera-Pérez, (2013), con ligeras modificaciones. En un tubo de cultivo de 10 ml se añadieron 2 ml de plasma o 2 g de tejido (hígado o músculo), se adicionaron 0.5 ml de ácido fórmico (J. T: Baker) y 3 ml de alcohol isopropílico (J. T: Baker), la mezcla se agitó con vórtex durante 3 min. Posteriormente se añadieron 3 ml de una mezcla éter etílico/hexano (1:1 v/v, J.T. Baker/J.T. Baker), se invirtieron por 3 min y se llevó a cabo la centrifugación a 3000 rpm durante 3 min. En seguida, la fase orgánica (fase superior) se transfirió a otro tubo de cultivo y se le agregaron 2 ml de cloruro de potasio (KCl) al 1 %, se mezcló por inversión (3 min) y se centrifugó a 3000 rpm durante 3 min. Nuevamente se recolectó la fase orgánica colocándola en un tubo cónico de 15 ml previamente etiquetado y pesado, este proceso se repitió otras dos veces. Finalmente, se evaporó el solvente con flujo de nitrógeno (alta pureza 99.997%, INFRA) a 37 °C hasta llegar a peso constante y el contenido de lípidos se determinó por gravimetría.

Los lípidos obtenidos se disolvieron en 3 ml de hexano (J.T. Baker) y se transfirieron a un tubo de cultivo, en el cual se adicionaron 2 ml de ácido sulfúrico (J.T. Baker), mezclando por inversión (2 min) y centrifugando a 3000 rpm durante 3 min. Se recuperó la fase superior en un tubo cónico y la fase inferior se trató 2 veces más con 3 ml de hexano para extraer los compuestos de interés. Los extractos recolectados en el tubo cónico se evaporaron con flujo suave de nitrógeno a 37 °C hasta llegar a un volumen de 2 ml.

Finalmente, la muestra se filtró empleando un cartucho de Florisil (Thermo Scientific) previamente acondicionado con 3 ml de acetona (J.T. Baker) y 3 ml de hexano. La elución se llevó a cabo adicionando 6 ml de hexano; el eluato se recuperó en otro tubo cónico y se evaporó con flujo de nitrógeno a 37 °C hasta obtener un volumen de 200 µl, los cuales se transfirieron al inserto con ayuda de una pipeta Pasteur. El análisis cromatográfico se realizó bajo el método descrito para suelo.

### **5.5.5 Determinación de EPT en suelo**

#### **5.5.5.1 Digestión de las muestras**

Se pesaron 0.5 g de suelo y se colocaron en vasos de teflón Xpress, a cada uno se le adicionaron 10 mL de ácido nítrico concentrado. La digestión se realizó en un horno de microondas marca CEM modelo MARS 6 bajo el método EPA 3051A (EPA, 2007). Posteriormente, las muestras se filtraron empleando papel Whatman No. 1, se aforaron a 50 mL con agua desionizada en tubos Falcon y se almacenaron a 4 °C hasta su análisis.

#### **5.5.5.2 Cuantificación de EPT en suelo por EAA**

Se realizó la cuantificación de 5 EPT (Pb, Mn, Cr, Cd y Al) en la matriz ambiental suelo mediante inyección manual en un espectrofotómetro de absorción atómica, marca VARIAN Modelo Spectr AA 880. Previo al análisis, se inyectaron estándares de cada elemento para obtener las curvas de calibración.

### **5.5.6 Ensayo de Micronúcleos en eritrocitos de gallinas de traspatio**

#### **5.5.6.1 Preparación y tinción de laminillas**

Se obtuvieron muestras de sangre de 9 individuos criados bajo condiciones controladas (grupo control) y 7 individuos de la zona de estudio (grupo expuesto). En portaobjetos previamente limpios y desengrasados se colocaron 5 µL de sangre y con ayuda de un cubreobjetos se realizó un frotis (3 por individuo), se dejaron secar por 24 h a temperatura ambiente. Posteriormente, los portaobjetos se colocaron en un vaso Coplin que contenía 40 mL de fijador (metanol-ácido

acético 3:1 v/v) durante 30 min. En seguida, se tiñeron con Eosina B y azul de metileno durante 1 min en cada colorante, transcurrido el tiempo se enjuagaron con agua destilada, se dejaron secar a temperatura ambiente y se guardaron en cajas para laminillas hasta su análisis al microscopio.

#### **5.5.6.2 Análisis microscópico de anomalías nucleares**

Se realizó la lectura en un microscopio óptico (Zeiss) con objetivo de 100x. Para cada biomarcador de efecto se consideraron las características descritas a continuación:

##### Citotoxicidad

En 500 células (por duplicado) se contabiliza la frecuencia de células apoptóticas y necróticas, tomando en cuenta los siguientes criterios:

- Las células apoptóticas tempranas presentan condensación de la cromatina dentro del núcleo, y los límites citoplasmáticos y nucleares se encuentran intactos.
- Las células apoptóticas tardías tienen fragmentación nuclear en cuerpos nucleares más pequeños dentro de un citoplasma y membrana citoplasmática intactos.
- Los fragmentos nucleares y el citoplasma presentan mayor intensidad de la tinción que en las células viables.
- Las células necróticas tempranas presentan un citoplasma pálido, numerosas vacuolas (principalmente en el citoplasma y a veces en el núcleo), la membrana citoplasmática dañada y un núcleo casi intacto.
- Las células necróticas tardías muestran pérdida y daño de citoplasma, membrana nuclear irregular con sólo una estructura nuclear parcialmente intacta a menudo con escape de material nuclear desde el límite nuclear.
- La intensidad de la tinción del núcleo y el citoplasma es generalmente menor que la observada en las células viables.



## Genotoxicidad

Se evaluaron MN, células binucleadas (BN) y puentes de cromatina (PC) en 1,000 células (por duplicado), para las cuales se consideraron los siguientes criterios:

### Criterios para MN

- El diámetro del MN oscila entre  $1/16$  -  $1/3$  de la media del diámetro del núcleo principal.
- Los MN son no refractarios.
- La intensidad de tinción de los MN es similar al núcleo principal.
- Los MN no están conectados con el núcleo principal.

### Criterios para BN

- Los BN son similares a los MN en apariencia con la excepción de que están conectados con el núcleo principal a través de un puente que puede ser ligeramente más estrecho que el diámetro del brote o por un puente mucho más delgado dependiendo de la etapa del proceso de extrusión.
- Los BN tienen la misma intensidad de tinción que los MN.

### Criterios para PC

- La anchura de un PC puede variar considerablemente, pero usualmente no excede  $1/4$  del diámetro de los núcleos principales de la célula.
- Los PC deben tener las mismas características de tinción que el núcleo principal.
- Puede observarse más de un PC dentro de una célula binucleada.
- Una célula binucleada con un PC puede contener uno o más MN.

## **5.6 Estimación de exposición a COP en población humana**

A partir de las concentraciones de plaguicidas organoclorados obtenidas en suelo, fue posible estimar algunos índices que proporcionan información sobre la exposición para la población humana. Para ello, se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\text{Dosis (mg/kg/día)} = \frac{\text{Conc} \times \text{TI}}{\text{PC}} \quad (5)$$

$$\text{CP} = \frac{\text{Ce}}{\text{Cr}} \quad (6)$$

$$\text{EMEG} = \frac{\text{MRL o RFD (mg/kg/día)} \times \text{PC(kg)}}{\text{TI(kg/día)}} \quad (7)$$

$$\text{HQ} = \frac{\text{DE (mg/kg/día)}}{\text{RfD (mg/kg/día)}} \quad (8)$$

$$\text{RCI} = (\text{DE})(\text{FPC}) \quad (9)$$

Donde:

Ce es la concentración del contaminante en el sitio de estudio, Cr es la concentración del referencia del contaminante, RfD es la dosis de referencia para exposición oral en mg/kg/día (obtenida del banco de datos de la EPA), MRL es el nivel de riesgo mínimo en mg/kg/día (obtenido del banco de datos de la ASTDR), PC es el peso corporal (70 kg/adulto, 14 kg/niños de 3-6 años), TI es la tasa de ingesta diaria de suelo (350 mg/niño, 50 mg/adultos), C es la concentración del contaminante en el sitio (mg/kg), FPC es el factor de pendiente de cáncer (mg/kg/día) y P es la población total del sitio de estudio.

## 5.7 Dosis de exposición en biota

Para calcular la dosis de un contaminante a la que está expuesto un miembro particular de una población en contacto con un medio específico (suelo), se emplea la siguiente fórmula:

$$DI_{ij} = \frac{C_i * TI_{ij}}{PC_j}$$

Donde:

$DI_{ij}$  = Dosis diaria promedio del contaminante estimada para el miembro “j” de una población expuesta por el contacto con el medio “i” (mg/ kg-día).

$C_i$  = Concentración del contaminante en el medio “i” (mg/ unidad de medio).

$TI$  = Tasa de ingesta del medio “i” (unidades de medio por día).

$PC$  = Peso corporal del individuo (kg).

En la Tabla 1 se presentan los pesos promedio de 4 de las especies características de la zona de estudio, sin embargo, no se encontraron datos reportados sobre la ingesta de suelo. Por ello, se consideraron los datos de especies que tienen características y hábitos semejantes.

**Tabla 1. Datos para cálculo de dosis de exposición**

	Ingesta de suelo		
	PC (kg)	Especie	kg/día
<i>Lepus californicus</i>	2.00	<i>Sylvilagus floridanus</i>	0.0150
<i>Bassariscus astutus</i>	1.00	<i>Vulpes vulpes</i>	0.0126
<i>Passer domesticus</i>	0.03	<i>Turdus migratorius</i>	0.0019
<i>Gallus domesticus</i>	2.00	<i>Meleagris gallopavo</i>	0.0162

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Descripción general del área de estudio

#### 6.1.1 Clima

El clima predominante es semiseco templado, con lluvias en verano. A continuación se describen las condiciones de temperatura, precipitación y dirección del viento en la zona de estudio (INEGI, 2009).

##### Temperatura

La temporada más calurosa del año tiene una duración aproximada de 2.5 meses entre el 28 de marzo y el 8 de junio, con una temperatura máxima promedio de 23 °C. La temporada fresca dura aproximadamente 2 meses entre el 7 de diciembre y el 7 de febrero con una temperatura promedio diaria de 19 °C

##### Precipitación

La temporada de lluvia dura 9 meses (8 de marzo al 7 de diciembre), con un intervalo móvil de 31 días de lluvia (13 mm mínimo), la precipitación máxima es en septiembre con una acumulación total promedio de 178 mm. La temporada de seca dura 3 meses (8 de diciembre al 9 de marzo), la precipitación mínima se presenta en el mes de diciembre con una acumulación total promedio de 9 mm.

##### Viento

La velocidad del viento presenta variaciones estacionales leves en el transcurso del año; la parte más ventosa dura aproximadamente 4.7 meses, entre el 11 de junio y el 3 de noviembre, con velocidades promedio de 10.3 km/h. El tiempo más calmado del año dura aproximadamente 7.3 meses, entre el 3 de noviembre y el 11 de junio, con velocidad promedio de 9.0 km/h. La dirección del viento presenta variaciones durante el año, sin embargo, durante los 12 meses el viento con mayor frecuencia proviene del este, siendo más abundante entre los meses de junio a septiembre y presentando un porcentaje máximo del 87 % en el mes de julio.

### **6.1.2 Hidrología**

La hidrografía del municipio se compone de arroyos con caudal durante la época de lluvias sobre el río Alzayanca. Abarca también una parte de la Laguna de Totolcingo, ubicada al oriente del municipio colindando con el estado de Puebla, además cuenta con tres manantiales; uno de los cuales es de aguas azufradas, así como pozos para la extracción de agua para riego.

### **6.1.3 Suelo**

Los suelos predominantes son Regosol (43 %) y Leptosol (33 %). Los primeros, son suelos muy jóvenes que se desarrollan sobre material no consolidado, de colores claros y pobres en materia orgánica y con mínimo desarrollo de perfil. Son particularmente comunes en las regiones áridas, semiáridas y montañosas. Los Regosoles de las zonas áridas tienen escasa vocación agrícola, aunque su uso depende de su profundidad, pedregosidad y fertilidad, por lo que sus rendimientos son variables, mientras que los de regiones montañosas son frágiles y susceptibles a la erosión, por lo que no son convenientes para actividades agropecuarias (SEMARNAT, 2008). Los segundos son suelos someros y pedregosos que pueden tener roca continua en o muy cerca de la superficie. Son particularmente comunes en las zonas montañosas y en planicies calizas superficiales. El calcio que contienen puede inmovilizar los minerales, lo cual, junto con su poca profundidad y alta pedregosidad, limita su uso agrícola si no se utilizan técnicas apropiadas, por lo que es preferible mantenerlos con su vegetación original (SEMARNAT, 2008).

### **6.1.4 Vegetación**

La zona está representada por el tipo vegetacional conocido como matorral xerófito, comunidad botánica que se caracteriza por tener diferentes tipos de plantas suculentas, plantas de hoja arrosetada, plantas sin hojas y plantas de

hojas pequeñas y espinosas. Las especies que caracterizan a esta comunidad vegetal son: el maguey de cerro (*A. horrida*), el agave pulquero (*A. salmiana*), el sotol (*Nolina longifolia*), la palma de izote (*Yucca filifera*), la palma (*Dasyllirion acrotriche*), el tapón (*Opuntia spinulifera*), la pata del tlacuache (*Senecio praecox*), el nopal de alto (*O. hyptiacantha*), el nopal de ardilla (*O. robusta*), la biznaga o pitahaya (*Mammillaria magnimamma*), la salvia de bolita (*Buddleia perfoliata*) y la trompetilla (*Bouvardia ternifolia*). Asociado al matorral xerófito, también se encuentra bosque de pino piñonero (*Pinus cembroides*) y sabino (*Juniperus deppeana*) (INAFED, 2010).

### **6.1.5 Fauna**

En cuanto a la fauna de la zona no se tienen listados oficiales, sin embargo, con base en la información de la CONABIO se tienen algunos avistamientos de las siguientes especies silvestres: coyote (*Canis latrans*), liebre (*Lepus californicus*), tlacuache (*Didelphis marsupialis*), víbora de cascabel (*Crotalus sp.*), gorrión silvestre (*Passer domesticus*) así como algunas especies de salamandras y lagartijas (CONABIO, 2019).

### **6.1.6 Características sociodemográficas**

El municipio de El Carmen Tequexquitla está conformado por 17,332 habitantes, de los cuales 8,406 son hombres y 8,923 son mujeres. La población se divide en 1,646 individuos de 0 a 4 años, 3,570 de edades entre 5 a 14, y aproximadamente 1,559 adultos de 60 años y más (INEGI, 2021b). De estos grupos la población entre 0 a 4 años y los de 60 y más, representan al sector susceptible de la zona de estudio, pues tanto infantes como adultos mayores poseen capacidades diferentes para metabolizar los contaminantes a los que están expuestos.

De acuerdo con lo reportado por la Secretaría de Desarrollo Social el grado de rezago social es medio; 25.30 % de la población presenta rezago educativo, el 5.3

% carece de acceso a los servicios de salud, el 1.30 % carece de acceso al agua entubada en la vivienda y el 15 % carece de servicio de drenaje (SEDESOL, 2017).

## **6.1.7 Actividades productivas**

### **6.1.7.1 Agricultura y ganadería**

El 64% del territorio municipal está destinado a la agricultura, de la cual el 65.2 % es de temporal y el 34.8 % de riego. El uso potencial de suelo pecuario se concreta en 2 378 ha de praderas cultivadas con maquinaria agrícola, que corresponden al 40% del territorio del municipio. El volumen de la producción acuícola aumento de 956.4 kg a 3.4 toneladas en el 2011. En tanto que el valor de la producción de carne en canal se incrementó 446% en el periodo 2000-2011 (P.O., 2014).

### **6.1.7.2 Industria**

Las unidades económicas dedicadas a la industria manufacturera de todos los tamaños aumentaron de 57 en 2003 a 122 en 2013. En el municipio se encuentra desde 1983 la empresa Clorobencenos S.A. de C.V. dedicada a la producción de clorobencenos y productos derivados, con una producción de 180 ton/anuales, siendo la principal industria en el municipio (P.O., 2014).

## **6.2 Propiedades fisicoquímicas del suelo**

De manera general, los parámetros fisicoquímicos de los suelos correspondientes tanto al muestreo exploratorio como al sistemático son similares. Respecto al pH, los valores presentan un rango de 7 a 10.9 que de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000, 3 de los suelos fueron clasificados como neutros, 15 como medianamente alcalinos y los 8 restantes como fuertemente alcalinos (Tabla 2).

Los procesos ácido-base influyen en la degradación y disponibilidad de los contaminantes presentes en el suelo. Se sabe que las condiciones ácidas favorecen la hidrólisis de algunos COP (FAO, 2000). Por lo tanto, los valores de pH registrados en todas las muestras sugieren una baja hidrólisis de los COP que se encuentren presentes en estos suelos.

Por otro lado, en el 65.38 % de las muestras se presenta un porcentaje muy bajo de materia orgánica (MO) con valores menores a 4 %, seguidas del 23.07 % que mostraron un porcentaje bajo (valores entre 4.1 y 6.0 %) y solo el 3.8 % de las muestras se clasifican como muy alto contenido de MO (> 16.1 %) de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000.

Este parámetro tiene una influencia sobre la dinámica ambiental de los COP, debido a que dichos compuestos presentan un elevado coeficiente de partición carbono orgánico ( $K_{oc}$ ) lo que indica que se adhieren fuertemente a las partículas orgánicas. Es decir, a mayor cantidad de materia orgánica mayor acumulación de COP en el suelo y menor movilidad a otras matrices ambientales. Para el caso particular de estas muestras se sugiere que los COP pueden transportarse a otros medios (Lenoir et al., 2004).

En cuanto a las características texturales, alrededor del 50 % de las muestras presentan porcentajes altos de arena (valores entre 77.8 y 93.0 %), de las cuales el 23.1 % fueron clasificadas como suelos arenosos. De acuerdo con lo reportado por ATSDR (2002) el porcentaje de arena tienen un efecto directo sobre la capacidad de adsorción de los COP, debido a que, las fracciones más finas son las que favorecen la adsorción de dichos compuestos. En este caso, al presentarse un alto porcentaje de arena se propicia el movimiento de los COP a otros medios ambientales.

Respecto a la capacidad de intercambio catiónico (CIC), los valores obtenidos presentan un rango de 4.6 a 18.9  $Cmol(+)/kg$  mismos que son considerados bajos, y es congruente con la textura que presentan los suelos, debido a que la CIC está



determinada por el contenido de arcillas y en este estudio se presenta un contenido bajo de ellas. Por lo tanto, los valores obtenidos proporcionan evidencia acerca de la baja capacidad que tienen estos suelos para retener nutrientes y contaminantes como los COP en la superficie (Chen et al., 2021).

**Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de suelo de El Carmen Tequexquitla**

	Sitio	Valor	pH Clasificación	MATERIA ORGÁNICA		TEXTURA			CIC Cmol(+)/kg	
				CO %	MO %	arena %	arcilla %	limo %		Clase textural
Exploratorio	M1	7.8	MA	1.0	1.6	83.3	2.9	13.7	AF	5.0
	M2J	8.1	MA	1.4	2.5	78.9	5.4	15.7	AF	5.4
	M2F	8.6	FA	1.9	3.2	77.8	6.0	16.2	AF	10.7
	M3	10.2	FA	3.3	5.7	42.0	20.7	37.3	F	9.3
	M4	9.2	FA	0.9	1.6	70.3	7.4	22.4	FA	13.8
	M5	9.9	FA	2.5	4.2	26.4	29.6	43.9	FC	14.3
	S1	8.2	MA	1.8	3.0	59.0	5.5	35.5	FA	12.9
	S2	7.8	MA	3.1	5.3	88.9	3.5	7.6	A	13.4
	S3	7.8	MA	1.4	2.4	88.1	2.8	9.1	A	9.6
	S4	10.9	FA	1.2	2.2	42.6	17.4	40.0	F	17.3
Sistemático	S5	8.3	MA	4.5	7.7	68.3	6.1	25.5	FA	14.4
	S6	9.8	FA	0.5	0.8	69.4	6.8	23.8	FA	12.2
	S7	8.4	MA	1.1	1.9	85.7	2.8	11.5	AF	10.1
	S8	8.2	MA	0.7	1.2	89.9	4.8	5.3	A	4.6
	S9	7.3	N	2.4	4.1	85.9	4.1	10.0	AF	7.1
	S10	8.2	MA	2.8	4.8	52.5	14.4	33.1	FA	14.5
	S11	8.8	FA	1.6	2.7	40.8	18.8	40.4	F	18.9
	S12	7.0	N	2.1	3.6	52.5	14.0	33.5	FA	13.0
	S13	7.8	MA	0.7	1.3	93.0	3.2	3.8	A	8.3
	S14	7.8	MA	1.2	2.2	87.5	2.7	9.8	A	8.9
	S15	7.9	MA	3.8	6.5	84.3	4.4	11.3	AF	7.2
	S16	10.4	FA	2.8	4.8	54.2	24.5	21.3	FCA	12.5
	S17	8.4	MA	9.8	16.9	62.1	15.2	22.7	FA	15.8
	S18	7.0	N	1.2	2.1	72.6	6.3	21.1	FA	9.2
	S19	8.2	MA	1.0	1.7	87.9	3.0	9.1	A	9.1
	S20	8.3	MA	1.8	3.0	79.2	4.3	16.4	AF	9.7

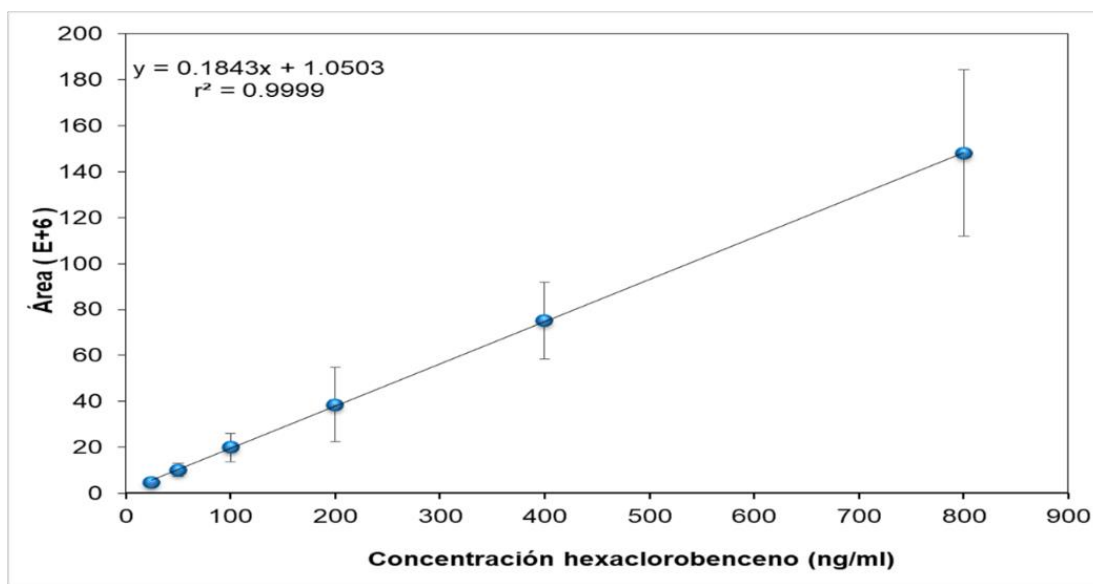
MA = medianamente alcalinos, FA = fuertemente alcalinos, N = neutros. AF = arenoso franco, F = franco, FA = franco arenoso, FC = franco arcilloso, A = arena, F = franco, FCA = franco arcilloso arenoso.

### 6.3 Cuantificación de COP en suelo

#### Validación del método de identificación y cuantificación de COP

El método que se consideró como base para realizar la validación es el propuesto por Flores-Ramírez et al. (2015), al cual se le hicieron algunas modificaciones para determinar de manera simultánea 44 compuestos (16 plaguicidas organoclorados y 28 congéneres de bifenilos policlorados).

Para la validación del método se realizaron 9 curvas por triplicado, considerando 6 concentraciones (25, 50, 100, 200, 400, 800 ng/ml). Como ejemplo se muestra el HCB, que muestra una buena correlación con un coeficiente de determinación y de regresión de 0.9999 (Gráfica 1).



Gráfica 1. Concentración de hexaclorobenceno

Con respecto al parámetro de precisión, se determinaron la repetibilidad y reproducibilidad del método. Para la primera se consideraron 3 curvas inyectadas el mismo día, y para la segunda se consideraron los datos de 9 curvas preparadas e inyectadas en diferentes días. En ambos casos, los coeficientes de variación obtenidos (Tablas 3 y 4) se encuentran dentro de lo aceptable según lo reportado por (Hortwitz, 1982).

**Tabla 3. Repetibilidad del método para la cuantificación de COP**

	Concentración (ng/ml)					
	25	50	100	200	400	800
$\bar{x}$ (E+6)	5.6	12.9	25.1	35.4	77.7	148.3
$\sigma$ (E+6)	0.2	0.8	1.5	3.5	4.4	7.1
C.V (%)	3.5	5.1	5.9	10.0	5.7	4.8

**Tabla 4. Reproducibilidad del método para la cuantificación de COP**

	Concentración (ng/ml)					
	25	50	100	200	400	800
$\bar{x}$ (E+6)	4.6	10.1	19.9	38.6	75.2	148.1
$\sigma$ (E+6)	1.2	2.9	6.2	16.1	16.7	36.3
C.V (%)	25.8	29.0	31.1	41.9	22.3	24.5

**Tabla 5. Límites de detección y cuantificación de los 17 plaguicidas organoclorados**

Compuesto	Límite de detección (ng/ml)	Límite de cuantificación (ng/ml)
$\alpha$ -HCH	33.8	112.7
HCB	39.6	132.1
$\beta$ -HCH	34.5	114.9
$\delta$ -HCH	47.4	157.9
$\gamma$ -HCH	49.6	165.2
Heptacloro	53.6	178.6
Aldrín	64.9	216.3
Heptacloro epóxido	27.4	91.4
Endosulfán I	44.6	148.6
4,4'-DDE	60.2	200.7
Dieldrín	55.0	183.5
Endrín	23.5	78.2
Endosulfán II	84.6	282.1
4,4'-DDD	45.8	152.8
Endrín aldehído	98.7	328.9
Endosulfán sulfato	45.9	152.9
4,4'-DDT	53.6	178.6

En cuanto a la sensibilidad, el límite de detección determinado fue de 39.6 ng/ml y el límite de cuantificación de 132.1 ng/ml. Cabe mencionar que dichos límites se determinaron considerando 9 curvas con 6 concentraciones (25, 50, 100, 200, 400, 800 ng/ml), mismos que se presentan en la Tabla 5.

**Tabla 6. Plaguicidas organoclorados cuantificados en suelo del muestreo exploratorio**

M	PO	Concentración (ng/g)	CSQG			SCC	
			A	I	R	R	NR
M2F	HCB	62.2	50	10,000	2,000	660	2,000
	$\alpha$ -HCH	3,153.7	10	-	-	520	2,200
M2J	p,p'-DDT	45,923.9	100	50,000	5,000	2,000	9,000
	p,p'-DDE	72,882.9				2,000	9,000
	p,p'-DDD	11,966.6				3,000	12,000

CSQG = Guía Canadiense de Calidad del Suelo; SCC = Criterios de Limpieza de Suelo; M = muestra, PO = plaguicidas organoclorados; A = agrícola, I = industrial, R = residencial, R = no residencial.

Del muestreo exploratorio realizado para determinar los probables compuestos organoclorados en suelo, se detectaron 5 PO (Tabla 6), de los cuales el Hexaclorobenceno (HCB) se encontró ligeramente por arriba del valor recomendado para suelo agrícola, mientras que, al comparar con el mismo valor el  $\alpha$ -Hexaclorociclohexano ( $\alpha$ -HCH) y Diclorodifeniltricloroetano (p,p'-DDT), se encontraron 315 y 459 órdenes de magnitud por arriba, respectivamente, esto de acuerdo con el valor establecido por la Guía Canadiense de Calidad del Suelo (CSQG, por sus siglas en inglés). Por otro lado, el metabolito del DDT encontrado en mayor concentración fue el diclorodifenildicloroetileno (p,p'-DDE), mismo que se encuentra 36 órdenes de magnitud por arriba del valor para suelo residencial y 8 veces por arriba del valor para suelo no residencial, ambos valores recomendados por los Criterios de Limpieza de Suelo (SCC, por sus siglas en inglés), mientras que, el diclorodifenildicloroetano (p,p'-DDD) se encontró 3.9 órdenes de magnitud por arriba del valor para suelo residencial.

Dado que las principales actividades desarrolladas en la zona de estudio son: la agricultura e industria química, las cuales se consideran fuentes potenciales de PO, se esperaría encontrar estos compuestos en concentraciones altas en todas o en la mayoría de las muestras analizadas. Sin embargo, a diferencia de los resultados del muestreo exploratorio, en el análisis realizado a las 20 muestras de suelo superficial (1-10 cm) correspondientes al muestreo sistemático, los PO se encontraron por debajo del límite de detección (rango de 23.5 a 98.7 ng/ml).

En cuanto a los resultados de la muestra M2J que se recolectó a 50 m de la zona industrial; se encontró HCB en una concentración de 62.23 ng/g, este valor es 88.9 veces más alto respecto a lo reportado por Waliszewski et al. (2008), quienes reportan un promedio de 0.7 ng/g de HCB en suelos agrícolas de los estados de Puebla y México. Sin embargo, se encuentra 8 veces por debajo de la media aritmética (500 ng/g) reportada en un estudio realizado en suelos de una zona industrial de México con un alto grado de contaminación (Espinosa-Reyes et al., 2010).

Los BPC se descartaron del muestreo ambiental sistemático debido a que en el exploratorio no se detectó ningún congénere de esta familia de contaminantes, la evaluación de los COP en las 20 muestras correspondientes al muestreo ambiental sistemático se realizó únicamente para 17 PO.

La ausencia de PO (< LD) en las muestras, puede estar directamente relacionada con las propiedades fisicoquímicas que poseen los suelos, así como, con las condiciones climáticas de la zona de estudio. Los COP presentan un elevado coeficiente de carbono orgánico (Koc) que les permite adherirse fuertemente a las partículas de la MO. Este parámetro juega un papel importante en la cinética ambiental de dichos compuestos, tal como lo han evidenciado algunos estudios al reportar que un alto contenido de MO retiene a los PO en las capas superiores del suelo, lo que impide su pérdida por lixiviación y facilita su degradación por actividad microbiana (Yang et al., 2010; Uzcátegui et al., 2011; Wang et al., 2012).

En este trabajo, la mayoría de los suelos presenta valores de MO entre 0.07 a 3.39 %, clasificándose como un porcentaje medio de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000. Por lo tanto, se puede inferir que estas condiciones facilitan el movimiento de los PO a otros medios (Lenoir et al., 2004; Aiyesanmi & Idowu, 2012).

En cuanto a las características texturales, las fracciones más finas favorecen la adsorción de dichos compuestos (ATSDR, 2002a). En los suelos analizados, el porcentaje de arcilla es bajo, pues presenta valores de 1.6 % a 26.5 %, lo cual impide la acumulación en la parte superior del suelo, pero favorece la movilidad de los PO. Una forma de movilidad puede ser la vertical, es decir, de una capa superior a una inferior de suelo y probablemente también pueden contaminar los mantos freáticos (Narváez-Valderrama et al., 2012; Leal Soto et al., 2014). Otra es la movilidad horizontal, donde los PO al ser semivolátiles pueden pasar de la matriz suelo a la atmosfera y ser ampliamente dispersados por corrientes de aire (Chakraborty et al., 2015).

Respecto a la CIC, el 58 % de los suelos son clasificados como bajos (5 a 15  $\text{Cmol}^{(+)}/\text{kg}$ ) de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000. Este parámetro indica que existe una baja capacidad de retener tanto nutrientes como contaminantes del tipo de los COP. Considerando el conjunto de las características fisicoquímicas de las muestras, el suelo no presenta las condiciones necesarias para acumular PO.

Asimismo, las condiciones climáticas como precipitación y viento pueden contribuir al transporte de dichos compuestos (Komprda et al., 2013). En la zona de estudio, la precipitación se presenta en los meses de marzo a diciembre con un promedio de 13 mm (CNA, 2018), bajo estas condiciones se depositan sobre los suelos parte de los compuestos presentes en la atmósfera y por lixiviación podrían llegar a las aguas subterráneas.

Tomando en cuenta la semivolatilidad de los PO y las condiciones de viento de la zona con una velocidad promedio de 9.0 km/h y una dirección proveniente del este la mayor parte del año, el aire constituye una ruta importante para el transporte y distribución de los compuestos organoclorados a sitios muy diversos y distantes de aquel donde se están aplicando y/o emitiendo originalmente. Además de ser una ruta de exposición para la biota, incluyendo la población humana.

Considerando este escenario, la detección de 5 compuestos en concentraciones por arriba de la norma en el muestreo exploratorio, puede deberse en gran parte a que todos los PO detectados están presentes en las dos muestras más cercanas a la zona industrial, la cual puede ser la fuente principal de emisión de dichos compuestos y al hacerlo de manera constante, todos los PO que logran depositarse en el suelo colindante alcanzan altas concentraciones.

Sin embargo, en los suelos más lejanos la acumulación es a niveles traza, ya que en su mayoría están transportándose a otros sitios. Esto es semejante a la investigación realizada por (Zhao et al., 2013), quienes reportan que la mayor parte del área circundante a una fábrica de plaguicidas en China estaba seriamente contaminada con PO, siendo el p,p'-DDT, el  $\beta$ -HCH y el  $\beta$ -Endosulfán los dominantes, principalmente el p,p'-DDT que presentó la concentración más alta de 226,711 ng/g.

Ahora bien, la ausencia de PO en la matriz suelo (< LD), no necesariamente representa un riesgo nulo desde el punto de vista ecotoxicológico, pues la biota silvestre y doméstica que tiene una alta interacción con el suelo (plantas, micro y macrofauna) puede tener un riesgo considerable de exposición, e incluso extenderse hasta la población humana mediante el consumo de productos locales que bioacumulan PO.

A pesar de que no se encontraron PO es posible que, al intervenir diversos factores de degradación, puedan estar presentes sus metabolitos. Por ejemplo, el

$\gamma$ -HCH puede transformarse en tetraclorohexeno, bencenos tri-, tetra- y pentaclorados, penta y tetraciclohexanos (ATSDR, 2003; Concha-Grana et al., 2006). Por su parte, los metabolitos que se reportan para el HCB son pentaclorofenol, bencenos menos clorados, clorofenoles y benceno (ATSDR, 2002b).

Como parte de los objetivos de este estudio se realizó la identificación y cuantificación de PO en suelo en colaboración con el Laboratorio de Toxicología y Química Ambiental del CIGyA, UATx. En donde se utilizó como técnica analítica la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) en modo "Full Scan" y los resultados obtenidos para la mayoría de las muestras se encontraron por debajo del límite de detección. Por lo tanto, se consideró necesario realizar el análisis de los PO en suelo en un laboratorio externo para corroborar los resultados.

Se seleccionaron de forma aleatoria 5 muestras y se enviaron al Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ) para su análisis. Los resultados reportados por este centro también indicaron que todos los PO analizados se encontraron por debajo del límite de detección (Tabla 7).

Lo anterior indica que se requiere la aplicación de un método con mayor sensibilidad como SIM o MRM, para lograr la cuantificación de los PO en suelo, cuando éstos se encuentran en concentraciones trazas. Es importante cuantificar los POC en concentraciones debajo de los LD que se reportan en el método de CIATEJ y en el método propio, debido a bajas concentraciones de estos compuestos pueden representar un riesgo para la biota dada su capacidad de bioacumulación.



**Tabla 7. Resultados de PO en suelo reportados por el CIATEJ**

Determinación	Resultado	Unidad	Método
Plaguicidas Organoclorados:			
Alpha-BHC	<0.115	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
Beta-BHC	<0.115	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
Gamma-Clordano	<0.02	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
Aldrín	<0.02	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
Dieldrín	<0.02	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
Gamma-BHC (lindano)	<0.115	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
Hexaclorobenceno	<0.06	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
Endosulfán I	<0.40	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
Endosulfán II	<0.40	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
4,4'-DDE	<0.15	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
Heptacloro y epóxido de heptacloro	<0.02	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
Metoxicloro	<0.40	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
Endrin	<0.02	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
4,4'-DDD	<0.15	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
2,4'-DDT	<0.06	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
Dicofol	<0.15	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52
4,4'-DDT	<0.06	mg/kg	AOAC OFFICIAL METHOD 970.52

#### 6.4 Cuantificación de EPT en suelo

Se analizaron 5 EPT (Cr, Mn, Al, Pb y Cd) por absorción atómica en la UAEH. Los resultados muestran que Pb y Cd estuvieron por debajo de los límites de detección. En cuanto a las concentraciones de Cr, en ninguno de los casos supera la norma canadiense para protección ambiental y salud humana que establece un valor de 64 µg/g. La concentración de Mn es menor que los criterios ecológicos del Departamento de Protección Ambiental de New Jersey (NJDEP) para protección de plantas (220 µg/g) y para protección de invertebrados terrestres (450 µg/g). Por su parte, el Al es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre, se ha reportado que un pH ácido favorece la presencia de especies solubles que

podieran ser ecotóxicas, en la zona de estudio los suelos se clasifican en su mayoría como alcalinos, por lo que el Al estaría en su forma no tóxica.

**Tabla 8. Elementos Potencialmente Tóxicos en suelo de El Carmen Tequexquitla**

<b>Elementos Potencialmente Tóxicos (µg/g)</b>					
<b>Sitio</b>	<b>Cr</b>	<b>Mn</b>	<b>Al</b>	<b>Pb</b>	<b>Cd</b>
M1	19.9	31.1	1,337.4	nd	nd
M2F	18.0	30.2	1,225.5	nd	nd
M2J	21.8	37.0	1,714.3	nd	nd
M3	18.5	57.1	2,332.2	nd	nd
M4	19.0	36.3	1,658.2	nd	nd
M5	19.9	151.4	4,459.4	nd	nd
S1	13.8	50.5	2,235.1	nd	nd
S2	8.6	13.5	999.6	nd	nd
S3	6.3	11.6	999.6	nd	nd
S4	14.3	138.4	4,640.9	nd	nd
S5	10.5	36.0	1,761.9	nd	nd
S6	10.0	44.8	2,094.0	nd	nd
S7	9.1	17.7	1,140.8	nd	nd
S8	10.5	169.3	958.0	nd	nd
S9	11.0	161.3	886.0	nd	nd
S10	13.3	83.0	3,262.1	nd	nd
S11	16.6	82.0	3,272.2	nd	nd
S12	18.0	93.4	2,776.8	nd	nd
S13	14.7	33.5	1,125.9	nd	nd
S14	14.3	21.9	1,107.5	nd	nd
S15	17.6	40.3	1,553.1	nd	nd
S16	20.9	39.6	1,902.3	nd	nd
S17	15.7	38.9	2,288.0	nd	nd
S18	16.2	49.5	1,613.7	nd	nd
S19	18.0	22.9	1,102.2	nd	nd
S20	19.0	25.2	1,318.3	nd	nd

## 6.5 Cuantificación de COP en plantas silvestres

Se realizó una recolecta de plantas silvestres que por sus características también pueden ser buenos bioindicadores, una de ellas es, *Argemone sp.* la cual contiene una amplia gama de ácidos grasos que pueden servir de depósito de los COP. Además, esta planta es de importancia económica pues se utiliza en la industria farmacéutica por sus características antibióticas (Khan & Bhadauria, 2019), así como en la producción de biodiesel (Parida et al., 2019).

Otra de las especies colectadas es el pasto común (*Cynodon sp.*), el cual contribuye en la prevención de erosión del suelo (Hou et al., 2020), sirve como alimento para el ganado y además se le ha atribuido actividad antihiperlipidémica (Kaup et al., 2011).

Por otro lado, *Agave sp.* es una especie característica de la zona y de acuerdo con algunos estudios presenta ácidos grasos (Jiménez-Muñoz et al., 2016) y es importante en la conservación de suelo, así como, en el uso para la producción de bebidas fermentadas (aguamiel y pulque) (CONAFOR, 2007).

Finalmente, *Opuntia sp.* es una planta importante para la conservación de suelo, además de ser utilizada como alimento para ganado y población humana (CONAFOR, 2007), aunque presenta como desventaja su bajo contenido de ácidos grasos (Aruwa et al., 2018).

Los resultados del análisis de COP en tejido vegetal muestran que dichos compuestos se encuentran por debajo del límite de detección.

La exposición a estos compuestos en el caso de la vegetación puede ocurrir de dos maneras: la principal que es a través de la absorción por la raíz y su transporte a la parte superior de la planta y la secundaria, que es por deposición atmosférica y su absorción a través de las hojas de las plantas ricas en ceras y grasas (Sojinu et al., 2012).

Entonces, considerando la cinética ambiental de los PO en el sitio de estudio, la principal vía de exposición sería la absorción de los compuestos depositados sobre la parte superior de las plantas, la cual ha reportado un bajo porcentaje de absorción en especies con muy bajo contenido de lípidos (Marco & Kishimba, 2005), esta es quizá el principal argumento de la ausencia de PO en plantas.

## **6.6 Cuantificación de COP en gallinas de traspatio**

Todas las muestras presentaron concentraciones por debajo del límite de detección, lo que las convierte en un excelente grupo de referencia.

## **6.7 Ensayo de Micronúcleos en eritrocitos de gallina de traspatio**

El promedio de la frecuencia de MN en las gallinas expuestas (0.25 MN/1000 CT) fue significativamente menor con respecto a las gallinas del grupo control (0.92 MN/1000 CT) (Gráfica 1), lo que resulta inesperado, considerando que los individuos del grupo expuesto están bajo condiciones de exposición a agentes genotóxicos, los cuales, propiciarían un aumento en la frecuencia de MN. Sin embargo, los resultados obtenidos son similares a lo reportado como valores basales en individuos de la misma especie (0.22 MN/1000 CT) criados bajo condiciones de cautiverio en el zoológico de Guadalajara (Zúñiga-González et al., 2000). También, con lo reportado en otro estudio, donde se consideraron 21 especies de aves silvestres expuestas a plaguicidas en zonas cafetaleras de Brasil, el promedio independiente de la especie fue de 0.3 MN/1000 CT (Souto et al., 2018). Por otra parte, Quero et al. (2016), reportaron como promedio 0.10 MN/1000 CT en un estudio con 17 especies diferentes de la Reserva de la Biosfera en Argentina. En México, el ganso nevado (*Chen caerulescens*) presentó un promedio de 0.26 MN/1000 CT) (Martínez Quintanilla et al., 2017).

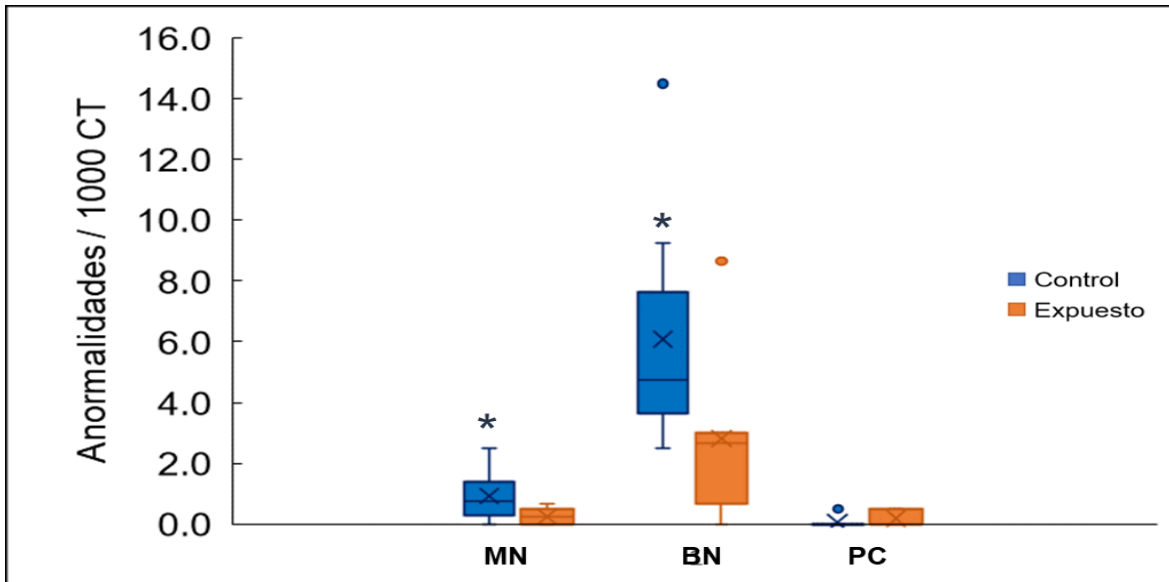
Respecto a los brotes nucleares (BN), en este estudio el promedio del grupo expuesto (2.82 BN/1000 CT) fue significativamente menor con respecto al grupo control (6.08 BN/1000 CT) (Gráfica 1). Sin embargo, en un estudio bajo condiciones controladas se expusieron a mitomicina C individuos de la especie

*Aratinga canicularis*, presentando una frecuencia de BN de 1.28/1000 CT en los controles negativos a los que se les administro agua (Gómez-Meda et al., 2006).

Por otro lado, en las 17 especies evaluadas por Quero et al. (2016), el promedio más alto fue de 0.95 BN/1000 CT. Mientras que en el ganso nevado se reportó un promedio de 249.2 BN/1000 CT (Martínez Quintanilla et al., 2017). La amplia variación en la frecuencia de este biomarcador puede deberse a las variables intrínsecas de cada especie como la edad, el sexo, los hábitos alimenticios y la migración. Además de variables extrínsecas como el hábitat y la exposición a diversos factores ambientales (Shepherd & Somers, 2012). No obstante, estas AN pueden considerarse análogos genotóxicos a MN y, por lo tanto, son útiles para evidenciar y evaluar el efecto genotóxico (Wael et al., 2012).

En cuanto a los puentes de cromatina (PC), en este estudio no hubo diferencias significativas entre el promedio del grupo expuesto y el grupo control (0.18 PC/1000 CT y 0.06 PC/1000 CT, respectivamente). Estos resultados son similares a los reportados por (Quero et al., 2016) (0.20 PC/1000 CT) en las 17 especies de aves. Aunque este biomarcador no ha sido ampliamente usado en las pruebas con eritrocitos, de acuerdo con lo descrito para células de epitelio bucal, son un buen indicador de genotoxicidad al ser indicativos de la reparación de errores de ADN, arreglos cromosómicos o fusiones teloméricas (Fenech et al., 2011).

En las gallinas de traspatio evaluadas en este estudio se observó la presencia de micronúcleos y anormalidades nucleares en niveles por debajo del grupo control, lo que puede estar relacionado con las bajas concentraciones de plaguicidas organoclorados en suelo y a que en ninguno de los tejidos evaluados (plasma, hígado y músculo) previamente, se encontraron PO. Por lo tanto, la exposición a dichos compuestos es mínima y las condiciones en las que se desarrollan no ejercen un efecto genotóxico sobre los organismos.



Gráfica 2. Genotoxicidad del grupo expuesto y grupo control. MN (micronúcleos), BN (brotes nucleares), PC (puentes de cromatina). \*Diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) de acuerdo con la prueba U de Mann-Whitney.

Además de las AN que indican daño genotóxico, también se evaluó la frecuencia de células en apoptosis (Gráfica 2) y necrosis (Gráfica 3) las cuales son indicativo de daño citotóxico. La frecuencia de apoptosis fue de (2.90 AP/500 CT y 3.53 AP/500 CT) en el grupo expuesto y control, respectivamente. En cuanto a la necrosis, el promedio en el grupo expuesto fue de 5.33 NC/500 CT y en grupo control de 5.50 NC/500 CT. Para ambos biomarcadores no se presentaron diferencias significativas entre grupos.

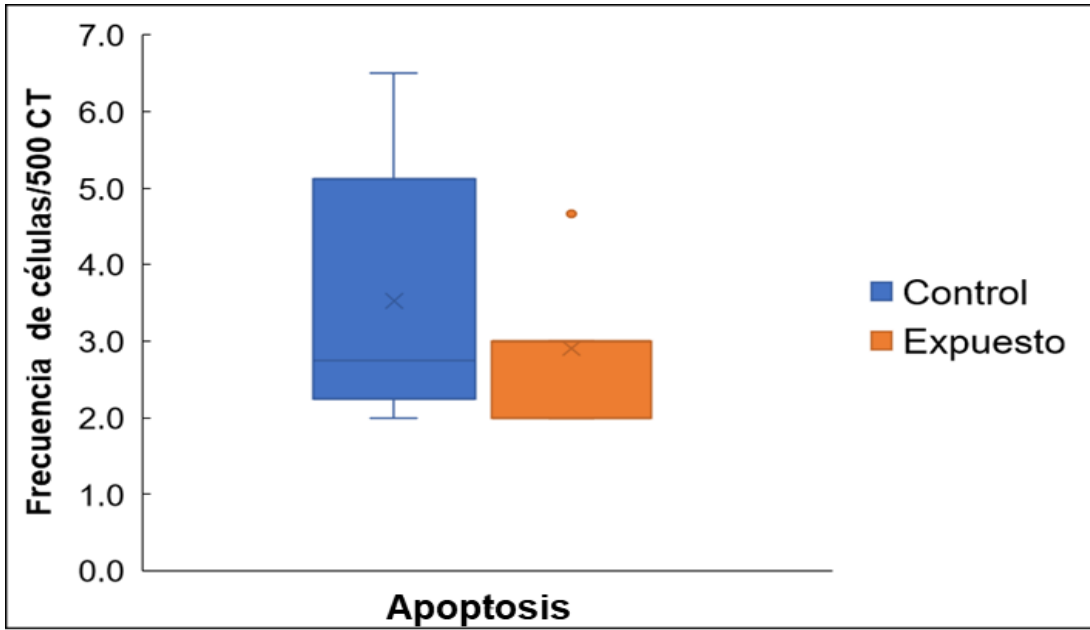
Estos biomarcadores de daño citotóxico se han empleado principalmente en la prueba de MN en linfocitos humanos con enfoque "Cytoma", por tal razón, es complicado realizar la comparación entre especies. Sin embargo, la evaluación de estas anomalías celulares es importante debido a que tienen un papel imprescindible en el mantenimiento del equilibrio entre la proliferación y la muerte de las células que componen a un organismo y pueden verse alteradas por la exposición a contaminantes ambientales (Kirsch-Volders & Fenech, 2001; Fenech, 2007).

Cualquier alteración del equilibrio entre la proliferación y muerte celular, conduce a situaciones patológicas como el cáncer, cuando la proliferación se encuentra aumentada, o las enfermedades degenerativas, cuando los procesos de muerte celular están incrementados (Jordán, 2003).

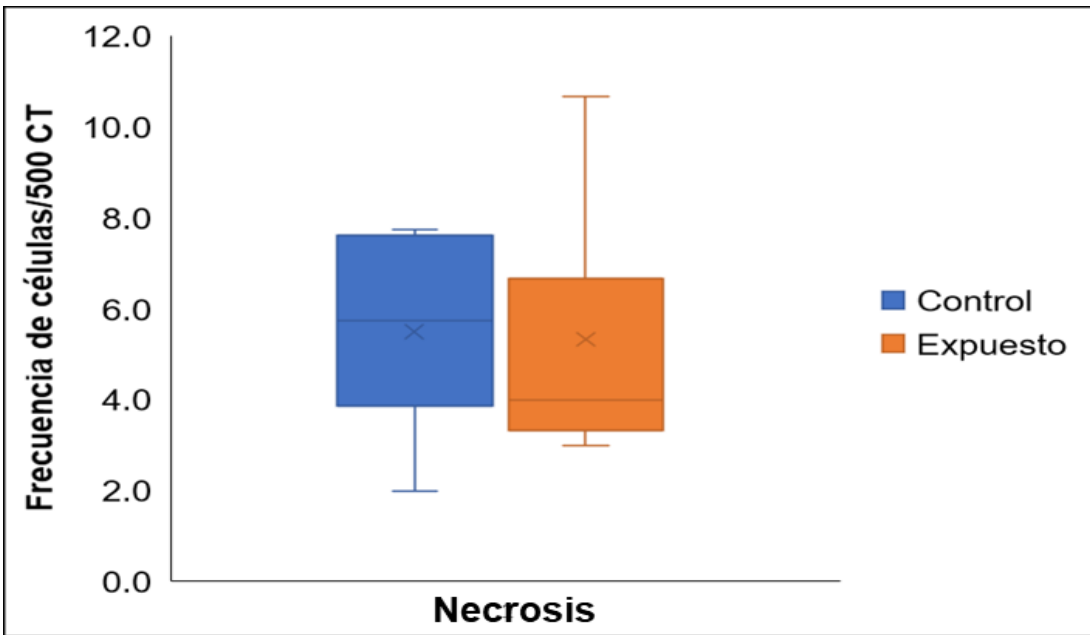
La apoptosis es un tipo de muerte celular programada. Debido a que las células se autodestruyen sin desencadenar reacciones de inflamación ni dejar cicatrices en los tejidos. Por ello, es considerada como una muerte natural fisiológica, resultando en un mecanismo de eliminación de células no deseadas, dañadas o desconocidas, sin embargo, puede ser inducida por la exposición a contaminantes que ejercen un efecto sobre el ADN y producen su fragmentación (Roa-Peña, 1994; Majtnerová & Roušar, 2018).

Por otro lado, en la necrosis se desencadenan procesos violentos como consecuencia de un daño traumático o por la exposición a compuestos citotóxicos. En ella tiene lugar la pérdida de la regulación y de la función celular que conlleva un proceso osmótico desmesurado y finaliza con la lisis de la membrana celular, liberando el contenido intracelular (Jordán, 2003).

Este fenómeno conduce a las células vecinas también hacia la muerte, atrayendo, al mismo tiempo, a las células inflamatorias, lo que hace que en las áreas donde se observan células necróticas sea frecuente encontrar nuevas células que desarrollan este tipo de muerte celular, además de originar una reacción de inflamación y una cicatriz fibrosa que deforma el tejido y el órgano afectado (Ramírez-Agudelo & Rojas-López, 2010).



Gráfica 3. Apoptosis del grupo expuesto y grupo control



Gráfica 4. Necrosis en el grupo expuesto y grupo control



## 6.8 Estimación de la exposición en población humana

La EMEG es la concentración de un contaminante en un medio ambiental (suelo), que es poco probable esté asociada con cualquier riesgo apreciable de efectos deletéreos no cancerosos, durante una duración de exposición determinada.

La EMEG no es una norma ambiental, su única función es servir como referencia para definir los contaminantes críticos del sitio. Por tanto, un contaminante cuya concentración supere a la EMEG debe ser sujeto a un análisis toxicológico (INE, 2005).

En este caso se realizó el cálculo para exposición crónica considerando los 5 PO encontrados en suelo para infantes (Tabla 9). Para el caso del 4,4'-DDT su concentración está por arriba de la EMEG calculada para infantes, por lo que no es seguro para este sector de la población.

**Tabla 9. Cálculo de la Guía de Evaluación de Medios Ambientales (EMEG)**

Compuesto	Concentración (mg/kg)	MRL (mg/kg/día)	Exposición	Daño	EMEG (mg/kg) Infante
$\alpha$ -HCH	0.0622	0.008000	Crónica	Hepático	400
HCB	3.1537	0.000070	Crónica	Hepático	3.5
4,4'-DDT	45.9239	0.000500	Crónica	Hepático	20
4,4'-DDD	72.8829	0.000500	Crónica	Hepático	20
4,4'-DDE	11.9666	0.000500	Crónica	Hepático	20

MRL= Nivel de Riesgo Mínimo

**Tabla 10. Cálculo de la dosis de exposición y cociente de peligro en infantes**

Compuesto	Conc (mg/kg)	DE <sub>Inf.</sub> x 10 <sup>-6</sup> (mg/kg/día)	MRL x 10 <sup>-6</sup> (mg/kg/día)	CP
HCB	0.0622	1.24	70	0.020
α-HCH	3.1537	63.07	8000	0.008
DDT	45.9239	1,147.09	500	2.29
DDE	72.8829	1,822.07	500	3.64
DDD	11.9666	299.16	500	0.59

Conc= Concentración del PO en suelo, DE= Dosis de Exposición, MRL= Nivel de Riesgo Mínimo, CP= Cociente de Peligro.

En la Tabla 10, se presenta la dosis de exposición y cociente de peligro calculado para infantes, donde la dosis de exposición al DDT y DDE representan un cociente de peligro de 2 y 3 órdenes de magnitud mayor, respectivamente.

**Tabla 11. Cálculo del riesgo carcinógeno individual en adultos**

Compuesto	Conc.x10 <sup>-3</sup> (mg/kg)	DEx10 <sup>-8</sup> (mg/kg/día)	FPC (mg/kg/día)	RCI x 10 <sup>-6</sup>
a-HCH	3.1537	225.26	6.30	14.1916
HCB	0.0622	4.44	1.60	0.0710
4,4'-DDT	45.9239	3280.27	0.34	11.1529
4,4'-DDE	72.8829	52.05	0.34	17.7001
4,4'-DDD	11.9666	854.75	0.24	2.0514

Conc= Concentración del PO en suelo, DE= Dosis de Exposición, FPC=Factor de Pendiente de Cáncer, RCI=Riesgo de cáncer individual

En la Tabla 11, se presentan los valores obtenidos para riesgo cancerígeno individual. Como se puede observar, solo el HCB no representa riesgo de cáncer. Sin embargo, los 4 PO restantes si representan riesgo cancerígeno por cada 100,000 habitantes. En el caso del a-HCH, la incidencia de cáncer asociada a la concentración de 3.1537 mg/kg en suelo es de 14 individuos por cada 100,000 habitantes. De acuerdo con la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) el HCH y todos sus isómeros han sido clasificados como posiblemente carcinógenos en seres humanos. Además, se ha

observado que la administración oral prolongada de a-HCH en roedores de laboratorio les produce cáncer de hígado (Loomis et al., 2015).

Respecto al 4,4'-DDT y sus metabolitos, también representan riesgo cancerígeno, siendo de mayor relevancia el 4,4'-DDE, debido a que su incidencia es de 17 individuos por cada 100,000 habitantes. El DDT y sus metabolitos han sido clasificados como probables carcinógenos para los humanos con base en pruebas suficientes en animales de experimentación y en pruebas limitadas de carcinogenicidad en humanos (ATSDR, 2002a). Además, algunos estudios epidemiológicos han encontrado asociaciones positivas entre la exposición al DDT el cáncer de mama (Chang et al., 2018) y testicular (Cohn et al., 2010).

Respecto al riesgo carcinógeno poblacional los datos calculados se presentan en la Tabla 12. Donde el dato más sobresaliente es nuevamente el del 4,4'-DDE, que indica una posible incidencia de que 306 individuos de un total de 17,332 habitantes en la zona de estudio podrían presentar cáncer asociado a la concentración de dicho compuesto en suelo. Por otro lado, el HCB presenta el dato de incidencia más bajo con 1 individuo del total de población que potencialmente puede presentar cáncer.

**Tabla 12. Cálculo del riesgo carcinógeno poblacional en adultos**

<b>Compuesto</b>	<b>Conc. x 10<sup>-3</sup> (mg/kg)</b>	<b>DE x 10<sup>-8</sup> (mg/kg/día)</b>	<b>FPC (mg/kg/día)</b>	<b>RCP x 10<sup>-6</sup></b>
a-HCH	3.15	225.26	6.30	245.96
HCB	0.06	4.44	1.60	1.23
4,4'-DDT	45.92	3280.27	0.34	193.30
4,4'-DDE	72.88	52.05	0.34	306.77
4,4-DDD	11.96	854.75	0.24	35.55

Conc= Concentración del PO en suelo, DE= Dosis de Exposición, FPC=Factor de Pendiente de cáncer, RCP= Riesgo de Cáncer Poblacional

El cáncer se puede definir como la transformación de células normales en tumorales y que además pueden invadir partes adyacentes del cuerpo o en general propagarse a otros órganos. Dicha transformación depende de diversos factores, entre ellos, la predisposición genética y tres categorías de agentes externos clasificados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como carcinógenos físicos (radiaciones ionizantes y ultravioletas), carcinógenos químicos (amianto, humo del tabaco, aflatoxinas, arsénico, etc.) y carcinógenos biológicos (algunos virus como el del papiloma humano, bacterias y parásitos) (OMS, 2018). Por lo tanto, el ambiente está implicado en la etiología de muchos tipos de cáncer, al considerar las exposiciones tanto del entorno externo como interno en la vida diaria de las personas (Fernández-Navarro et al., 2017).

En México, tan solo entre enero y agosto de 2020 se registraron 683,823 defunciones, de las cuales 60,421 se deben a tumores malignos (9 %). La distribución porcentual por sexo indica que hay más fallecimientos en mujeres (51 %) que en los hombres (49 %) por esta causa (INEGI, 2021a).

Por otra parte, el cáncer de órganos digestivos es la principal causa de morbilidad hospitalaria por tumores malignos entre los varones (23 %), mientras en las mujeres ocupa el tercer lugar (12 %). En lo que respecta a los adultos mayores (60 años y más), en las mujeres la principal causa de muerte es el tumor maligno de la mama (13 %), seguida por el tumor maligno del hígado y de las vías biliares intrahepáticas (10 %) (INEGI, 2021a).

Por lo tanto, la exposición a compuestos carcinógenos con efectos a nivel hepático, como algunos de los plaguicidas organoclorados pueden influir en el desarrollo de cáncer en la población expuesta. Razón por la cual, es importante diseñar estrategias para minimizar tanto la exposición como el riesgo cancerígeno.

## 6.9 Estimación de la exposición en biota

De acuerdo con los resultados obtenidos sobre la dosis de exposición en mamíferos, ninguno de los PO en suelo representa peligro (Tabla 13). Sin embargo, para el caso de las aves específicamente para *Passer domesticus* el DDE sí representa peligro debido a que el CP se encuentra 5 órdenes de magnitud por arriba de la unidad que es considerada como riesgo bajo (Tabla 14).

**Tabla 13. Dosis de exposición en mamíferos**

Compuesto	Concentración (mg/kg)	<i>Lepus californicus</i> (µg/kg*día)	CP	<i>Bassariscus astutus</i> (µg/kg*día)	CP
HCB	0.0622	0.467	0.0002	0.784	0.0004
α-HCH	3.1537	23.653	-	39.737	-
DDT	45.9239	344.429	-	578.641	-
DDE	72.8829	546.622	0.35	918.325	0.55
DDD	11.9666	89.750	-	150.779	-

CP=Cociente de Peligro

**Tabla 14. Dosis de exposición en aves**

Compuesto	Concentración (mg/kg)	<i>Passer domesticus</i> (µg/kg*día)	CP	<i>Gallus domesticus</i> (µg/kg*día)	CP
HCB	0.0622	3.939	0.01	0.504	0.002
α-HCH	3.1537	199.734		25.545	
DDT	45.9239	2908.514		371.984	
DDE	72.8829	4615.917	5.46	590.351	0.69
DDD	11.9666	757.885		96.929	

CP=Cociente de Peligro

## 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación evidencian la escasa presencia de compuestos orgánicos persistentes y elementos potencialmente tóxicos en suelo superficial. Los compuestos orgánicos e inorgánicos que fueron detectados se encontraron en concentraciones trazas y dentro de lo establecido por las normas internacionales de protección para la biota y para la salud humana, con la excepción del DDT y DDE que en el muestreo exploratorio presentaron un cociente de peligro mayor a uno para la población infantil.

La concentración de DDT y su metabolito DDE en suelo representan un riesgo de padecer alteraciones hepáticas en la población infantil. Aunque dado que solo se encontró en uno de los muestreos, este riesgo podría considerarse como intermitente para esta matriz ambiental.

La evaluación de la exposición en la biota de la zona de estudio mostró resultados negativos para la detección de COP en tejidos de plantas y gallinas de traspatio, lo que sugiere por un lado una baja biodisponibilidad de estos compuestos. Sin embargo, debe considerarse que los métodos analíticos no fueron los suficientemente sensibles para detectar concentraciones trazas en tejidos biológicos. Por ello, se recomienda cuantificar los extractos de las muestras recolectadas empleando un espectrómetro de masas-masas (SRM) para tener mayor evidencia de este resultado.

Respecto a la evaluación de efecto genotóxico en eritrocitos de sangre periférica de gallinas de traspatio, los niveles encontrados son cercanos a los basales lo que indica que, las gallinas se encuentran en condiciones con baja exposición a COP y en general a otro tipo de compuestos con capacidad genotóxica. No obstante, se sugiere establecer y aplicar una batería de biomarcadores de mayor sensibilidad y especificidad.

Este estudio proporciona una línea base sobre el estado de contaminación y riesgo para la biota y población humana por exposición a COP y EPT en la zona agrícola-industrial de El Carmen Tequexquitla, Tlaxcala. La estimación de riesgo en organismos silvestres y en población humana llevada a cabo bajo las condiciones metodológicas de este proyecto, pone de manifiesto que en la zona de estudio existe un bajo riesgo para las poblaciones ecológicas y humana circundantes.

Se recomienda realizar estudios de monitoreo ambiental y biológico empleando metodologías analíticas de mayor sensibilidad, para cuantificar COP y EPT en matrices ambientales como aire y sedimento de la laguna localizada al este del municipio y en tejidos biológicos de especies silvestres para obtener un panorama con menor grado de incertidumbre sobre la dinámica ambiental de estos contaminantes, además de evaluar diversos efectos tóxicos en especies de relevancia ecológica.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adeleye, A. O., Sosan, M. B., & Oyekunle, J. A. O. (2019). Dietary exposure assessment of organochlorine pesticides in two commonly grown leafy vegetables in South-western Nigeria. *Heliyon*, 5(6), e01895. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01895>
- Aiyesanmi, A., & Idowu, G. (2012). Organochlorine Pesticides Residues in Soil of Cocoa Farms in Ondo State Central District, Nigeria. *Environment and Natural Resources Research*, 2. <https://doi.org/10.5539/enrr.v2n2p65>
- Alba-González, A., Aynes-Riba, A., González-Lafita, Ó., Martínez-Rabert, E., & Santos-López, J. (2017). Planta de producción de clorobenceno. In *Universidad Autónoma Barcelona*.
- Alloway, B. J. (2013). *Sources of Heavy Metals and Metalloids in Soils BT - Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability* (B. J. Alloway (ed.); pp. 11–50). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-4470-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-007-4470-7_2)
- Arango, V., & Sandra, S. (2012). Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 30(1), 75–82.
- Aronson, J. K., & Ferner, R. E. (2017). Biomarkers-A General Review. *Current Protocols in Pharmacology*, 76, 9.23.1-9.23.17. <https://doi.org/10.1002/cpph.19>
- Arrebola, J. P., Belhassen, H., Artacho-Cordón, F., Ghali, R., Ghorbel, H., Boussen, H., Perez-Carrascosa, F. M., Expósito, J., Hedhili, A., & Olea, N. (2015). Risk of female breast cancer and serum concentrations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls: a case-control study in Tunisia. *The Science of the Total Environment*, 520, 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.045>
- Aruwa, C. E., Amoo, S. O., & Kudanga, T. (2018). Opuntia (Cactaceae) plant compounds, biological activities and prospects – A comprehensive review. *Food Research International*, 112(February), 328–344. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.047>
- Ashraf, M. A. (2017). Persistent organic pollutants (POPs): a global issue, a global challenge. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(5), 4223–4227. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5225-9>
- Asp, V., Ullerås, E., Lindström, V., Bergström, U., Oskarsson, A., & Brandt, I. (2010). Biphasic hormonal responses to the adrenocorticolytic DDT metabolite 3-methylsulfonyl-DDE in human cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 242(3), 281–289. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.10.018>
- ATSDR. (1994). *Environmental data needed for public health assessments. A guidance manual*.
- ATSDR. (2002a). *Toxicological profile for DDT, DDE and DDD*.
- ATSDR. (2002b). *Toxicological profile for Hexachlorobenzene*.
- ATSDR. (2003). Toxicological profile for alpha-, beta-, gamma and delta-Hexachlorocyclohexane. *Department of Health and Human Services. Agency for Toxic Substances and Diseases Registry*, 354.
- Barrera-Pérez, M. M. (2013). *Determinación de contaminantes orgánicos*



- persistentes en tilapia (Oreochromis sp) de diferentes presas del país.* Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Bidleman, T. F., & Leone, A. D. (2004). Soil–air exchange of organochlorine pesticides in the Southern United States. *Environmental Pollution*, 128(1), 49–57. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2003.08.034>
- Bilias, F., Nikoli, T., Kalderis, D., & Gasparatos, D. (2021). Towards a Soil Remediation Strategy Using Biochar: Effects on Soil Chemical Properties and Bioavailability of Potentially Toxic Elements. In *Toxics* 9(8). <https://doi.org/10.3390/toxics9080184>
- Bonassi, S., & Au, W. . (2002). Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. *Mutation Research*, 511(1), 73–86. [https://doi.org/10.1016/s1383-5742\(02\)00003-0](https://doi.org/10.1016/s1383-5742(02)00003-0)
- Brusick, D., Aardema, M., Kier, L., Kirkland, D., & Williams, G. (2016). Genotoxicity Expert Panel review: weight of evidence evaluation of the genotoxicity of glyphosate, glyphosate-based formulations, and aminomethylphosphonic acid. *Critical Reviews in Toxicology*, 46(1), 56–74. <https://doi.org/10.1080/10408444.2016.1214680>
- Carlou, C. (Ed.). (2007). Derivation methods of soil screening values in Europe. A review and evaluation of national procedures towards harmonisation: a Report of the ENSURE Action. In *Comisión Europea*.
- Carrizales, L., Jasso, Y., Espinosa-Reyes, G., Torres-Dosal, A., & Díaz-Barriga, F. (2006). *Diseño y aplicación de una metodología para la evaluación integrada de riesgos ambientales en sitios peligrosos de México-caso de estudio Villa de la Paz*, S.L.P. [http://www.ine.gob.mx/dgicur/sqre/descargas/2005\\_inf\\_final\\_met\\_estudio\\_caso.pdf](http://www.ine.gob.mx/dgicur/sqre/descargas/2005_inf_final_met_estudio_caso.pdf)
- Chakraborty, P., Zhang, G., Li, J., Sivakumar, A., & Jones, K. C. (2015). Occurrence and sources of selected organochlorine pesticides in the soil of seven major Indian cities: assessment of air-soil exchange. *Environ. Pollut.*, 204, 74–80.
- Chang, S., El-Zaemey, S., Heyworth, J., & Tang, M.-C. (2018). DDT exposure in early childhood and female breast cancer: Evidence from an ecological study in Taiwan. *Environment International*, 121, 1106–1112. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.10.023>
- Chen, Y., Gao, S., Jones, E. J., & Singh, B. (2021). Prediction of Soil Clay Content and Cation Exchange Capacity Using Visible Near-Infrared Spectroscopy, Portable X-ray Fluorescence, and X-ray Diffraction Techniques. *Environmental Science & Technology*, 55(8), 4629–4637. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04130>
- CNA. (2018). *Base de datos climatológica*. <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/informacion-estadistica-climatologica>
- Cohn, B. A., Cirillo, P. M., & Christianson, R. E. (2010). Prenatal DDT Exposure and Testicular Cancer: A Nested Case-Control Study. *Archives of Environmental & Occupational Health*, 65(3), 127–134. <https://doi.org/10.1080/19338241003730887>
- CONABIO. (2019). *Enciclovida*. <http://enciclovida.mx/explora-por-region>

- CONAFOR. (2007). *Modelos de Recuperación Forestal Propuestos para la Región II, Noroeste*. En Programa Regional Hidrológico Forestal para la Región Noroeste.
- Concha-Grana, E., Turnes-Carou, M. I. Muniategui-Lorenzo, S. Lopez-Mahia, P., & Prada-Rodriguez, D. Fernández-Fernández, E. (2006). Evaluation of HCH isomers and metabolites in soils, leachates, river water and sediments of a highly contaminated area. *Chemosphere*, 64(4), 588–595.
- Covarrubias, S. A., & Peña Cabrales, J. J. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33, 7–21. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.ESP01.01>
- CSGMT. (1992). Micronucleus test with mouse peripheral blood erythrocytes by acridine orange supravital staining: The summary report of the 5th collaborative study by CSGMT/JEMS.MMS. *Mutation Research*, 278, 83–98.
- Cuca-García, J. (2018). La avicultura de traspatio en México: Historia y caracterización. *Agro Productividad*, 8(4), 36-36. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/669>
- De Tata, V. (2014). Association of dioxin and other persistent organic pollutants (POPs) with diabetes: epidemiological evidence and new mechanisms of beta cell dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(5), 7787–7811. <https://doi.org/10.3390/ijms15057787>
- Díaz-Barriga, F. (1999). *Metodología de identificación y evaluación de riesgos para la salud en sitios contaminados*. OPS/CEPIS.
- Dijkstra, J. J., Meeussen, J. C. L., & Comans, R. N. J. (2004). Leaching of Heavy Metals from Contaminated Soils: An Experimental and Modeling Study. *Environmental Science & Technology*, 38(16), 4390–4395. <https://doi.org/10.1021/es049885v>
- EPA. (1998). *Guidelines for Ecological Risk Assessment*. Environmental Protection Agency. USA. 112p. [https://www.epa.gov/sites/default/files/2014-11/documents/eco\\_risk\\_assessment1998.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2014-11/documents/eco_risk_assessment1998.pdf)
- EPA. (2007). *Method 3051A (SW-846). Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils*. Revision 1. Washington, DC.
- EPA. (2018). *Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act (CERCLA) and Federal Facilities*. <https://www.epa.gov/enforcement/comprehensive-environmental-response-compensation-and-liability-act-cercla-and-federal#:~:text=The%20Comprehensive%20Environmental%20Response%2C%20Compensation,hazardous%20substances%20into%20the%20environment>
- Espinosa-Reyes, G., Ilizaliturri, C.A., González-Mille, D.J., Pelallo, N.A., Costilla-Salazar, R., Trejo, A., Pérez-Maldonado, I.N., Mejía-Saavedra, J. y Díaz-Barriga, F. (2007). *Diseño y aplicación de una metodología para la evaluación integrada de riesgos ambientales en sitios contaminados de México-caso de estudio Coatzacoalcos, Veracruz*. Instituto Nacional de Ecología. México, D.F. 101 p.
- Espinosa-Reyes, G., Ilizaliturri, C. A., Gonzalez-Mille, D. J., Costilla, R., Diaz-Barriga, F., Carmen Cuevas, M. Del, Martinez, M. A., & Mejia-Saavedra, J.

- (2010). DNA damage in earthworms (*Eisenia* spp.) as an indicator of environmental stress in the industrial zone of Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 45(1), 49–55. <https://doi.org/10.1080/10934520903388731>
- Espinosa, E., Armienta, M. A., Cruz, O., Aguayo, A., & Cenicerros, N. (2009). Geochemical distribution of arsenic, cadmium, lead and zinc in river sediments affected by tailings in Zimapan, a historical polymetallic mining. *Environ. Geol.*, 58, 1467–1477.
- FAO. (2000). *Evaluación de la contaminación del suelo: Manual de referencia*. Roma, Italia:FAO.
- FAO. (2015a). *Status of the world's soil resources*. Technical Summary FAO, Rome, Italy.
- FAO. (2015b). *World Soil Charter*. Rome, Italy.
- Fenech, M. (2007). Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 2(5), 1084–1104. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.77>
- Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A. T., Surrallés, J., Crott, J. W., Parry, J., Norppa, H., Eastmond, D. A., Tucker, J. D., & Thomas, P. (2011). Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*, 26(1), 125–132. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq052>
- Fernández-Navarro, P., García-Pérez, J., Ramis, R., Boldo, E., & López-Abente, G. (2017). Industrial pollution and cancer in Spain: An important public health issue. *Environmental Research*, 159, 555–563. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.08.049>
- Flores-Ramírez, R., Medellín-Garibay, S. E., Castillo, C., Ilizaliturri-Hernández, C. A. Zuki-Orozco, B., Batres-Esquivel, L., & Díaz-Barriga, F. (2015). Application of Focused Ultrasound-Assisted Extraction to the Determination of Persistent Organic Pollutants ( POPs ) in Soil Samples. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 95(2), 207-214. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1545-1>
- Fu, J., Mai, B., Sheng, G., Zhang, G., Wang, X., Peng, P., Xiao, X., Ran, R., Cheng, F., Peng, X., Wang, Z., & Wa Tang, U. (2003). Persistent organic pollutants in environment of the Pearl River Delta, China: an overview. *Chemosphere*, 52(9), 1411–1422. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00477-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00477-6)
- García-Nieto, E., Juárez-Santacruz, L., Ortiz-Ortiz, E., Luna-Zendejas, H. S., Frías-Márquez, D. M., Muñoz-Nava, H., & Romo-Gómez, C. (2019). Ecotoxicological assessment of sediment from Texcalac River and agricultural soil of riverside area, in Tlaxcala, Mexico. *Chemistry and Ecology*, 35(4), 300–318. <https://doi.org/10.1080/02757540.2018.1546297>
- Gavrilescu, M. (2005). Fate of Pesticides in the Environment and Its Bioremediation. *Engineering in Life Sciences*, 5, 497–526. <https://doi.org/10.1002/elsc.200520098>
- Glynn, A., Thuvander, A., Aune, M., Johannisson, A., Darnerud, P. O., Ronquist, G., & Cnattingius, S. (2008). Immune cell counts and risks of respiratory infections among infants exposed pre- and postnatally to organochlorine

- compounds: a prospective study. *Environmental Health*, 7(1), 1-14.  
<https://doi.org/10.1186/1476-069X-7-62>
- Gómez-Meda, B. C., Zamora-Perez, A. L., Luna-Aguirre, J., González-Rodríguez, A. Ramos-Ibarra, M.L. Torres-Bugarín, O., & Batista-González, C.M. Zúñiga-González, G. M. (2006). Nuclear abnormalities in erythrocytes of parrots (*Aratinga canicularis*) related to genotoxic damage. *Avian Pathology*, 35, 206–210.
- González-Mendoza, D., Grimaldo Juárez, O., & Cervantes Díaz, L. (2008). Los elementos potencialmente tóxicos en las plantas de manglar: una revisión de los mecanismos de tolerancia involucrados. *Interciencia*, 33(11), 817–820.  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33913606>
- González-Mille, D. J., Ilizaliturri-Hernández, C. A., Espinosa-Reyes, G., Costilla-Salazar, R., Díaz-Barriga, F., Ize-Lema, I., & Mejía-Saavedra, J. (2010). Exposure to persistent organic pollutants (POPs) and DNA damage as an indicator of environmental stress in fish of different feeding habits of Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico. *Ecotoxicology*, 19(7), 1238–1248.  
<https://doi.org/10.1007/s10646-010-0508-x>
- Gutiérrez-Ruiz, M. E. C.-G. A., Luna-González, L., Morales-Manilla, L. M., Romero, F., Martínez-Jardines L. G. Rosas, H., & López-Blanco, J. (2009). *Elaboración de un mapa regional de valores de fondo de elementos potencialmente tóxicos (EPT) de México*. (Informe final. SNIBCONABIO proyecto No. GS002.).
- Gutiérrez-Triay, M. A., Segura-Correa, J. C., López-Burgos, L., Santos-Flores, J., Santos Ricalde, R. H., Sarmiento-Franco, L., Carvajal-Hernández, M., & Molina-Canul, G. (2007). Características de la avicultura de traspatio en el Municipio de Tetiz, Yucatán, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 7(3), 217–224.  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93970308>
- Hortwitz, W. (1982). Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs. *Analytical Chemistry*, 54(1), 67-76.
- Hou, G., Bi, H., Huo, Y., Wei, X., Zhu, Y., Wang, X., & Liao, W. (2020). Determining the optimal vegetation coverage for controlling soil erosion in *Cynodon dactylon* grassland in North China. *Journal of Cleaner Production*, 244, 118771. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118771>
- Howell, G. 3rd, & Mangum, L. (2011). Exposure to bioaccumulative organochlorine compounds alters adipogenesis, fatty acid uptake, and adipokine production in NIH3T3-L1 cells. *Toxicology in Vitro: An International Journal Published in Association with BIBRA*, 25(1), 394–402.  
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.10.015>
- Ilizaliturri-Hernández, C. (2010). *Aplicación de una metodología de evaluación de riesgo ecológico en el sistema de humedales de Coatzacoalcos, Veracruz*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, S.L.P. México.
- INAFED. (2010). El Carmen Tequexquitla. In *Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México*.  
<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM29tlaxcala/municipios/29007a.html>
- INE. (2005). *Desarrollo de una metodología para la evaluación integrada de*

- riesgos ambientales en sitios peligrosos de México*. México, D.F. 130 p.
- INECC. (2020). *Evaluación de las fuentes principales en el sector minería primaria en Querétaro y desarrollo de inventario de sitios*.110p.
- INEGI. (2009). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Clave geoestadística 16059*.
- INEGI. (2021a). *Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer*. México.11p.
- INEGI. (2021b). *Panorama sociodemográfico de Tlaxcala. Censo de Población y Vivienda 2020. México:INEGI, 145 p.*
- ITPS. (2020). *Towards a definition of soil health*.
- Jasso-Pineda, Y., Espinosa-Reyes, G., González-Mille, D., Razo-Soto, I., Carrizales, L., Torres-Dosal, A., Mejía-Saavedra, J., Monroy, M., Ize, A. I., Yarto, M., & Díaz-Barriga, F. (2007). An integrated health risk assessment approach to the study of mining sites contaminated with arsenic and lead. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3(3), 344–350.
- Jehan, S., Khattak, S. A., Muhammad, S., Ahmad, R., Farooq, M., Khan, S., Khan, A., & Ali, L. (2020). Ecological and health risk assessment of heavy metals in the Hattar industrial estate, Pakistan. *Toxin Reviews*, 39(1), 68–77. <https://doi.org/10.1080/15569543.2018.1478858>
- Jiménez-Muñoz, E., Prieto-García, F., Prieto-Méndez, J., Acevedo-Sandoval, O., & Rodríguez-Laguna, R. (2016). Caracterización fisicoquímica de cuatro especies de agaves con potencialidad en la obtención de pulpa de celulosa para elaboración de papel. *Dyna*, 83(197), 233–243. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49645986030>
- Jordán, J. (2003). Apoptosis: muerte celular programada. *Offarm*, 22(6), 100–106. <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-apoptosis-muerte-celular-programada-13049112>
- Juárez-Santacruz, L., García-Nieto, E., Costilla-Salazar, R., García-Gallegos, E., Coronel-Olivares, C., Gómez-Camarillo, A. M., & Gaytán-Oyarzun, J. C. (2013). Assessment of the genotoxic potential of sediments contaminated with POP's and agricultural soils Vicia faba micronucleus assay. *Soil and Sediment Contamination an International Journal*, 22(1), 288–300.
- Juárez-Santacruz, L., García-Nieto, E., García-Gallegos, E., Romo-Gómez, C., Ortiz-Ortiz, E., Costilla-Salazar, R., & Luna-Zendejas, H. S. (2015). DNA damage in Vicia faba by exposure to agricultural soils from Tlaxcala, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 95(6), 764–769.
- Kaup, S. R., Arunkumar, N., Bernhardt, L. K., Vasavi, R. G., Shetty, S. S., Pai, S. R., & Arunkumar, B. (2011). Antihyperlipidemic activity of Cynodon dactylon extract in high-cholesterol diet fed Wistar rats. *Genomic Medicine, Biomarkers, and Health Sciences*, 3(3–4), 98–102. <https://doi.org/10.1016/j.gmbhs.2011.11.001>
- Kavamura, V. N., & Esposito, E. (2010). Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. *Biotechnology Advances*, 28(1), 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.09.002>
- Khan, A. M., & Bhadauria, S. (2019). Analysis of medicinally important phytochemicals from Argemone mexicana. *Journal of King Saud University - Science*, 31(4), 1020–1026. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.05.009>

- Kirsch-Volders, M., & Fenech, M. (2001). Inclusion of micronuclei in non-divided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis block micronucleus assay for biomonitoring purposes. *Mutagenesis*, *16*(1), 51–58. <https://doi.org/10.1093/mutage/16.1.51>
- Komprda, J., Komprdova, K., Sanka, M., Mozny, M., & Nizzetto, L. (2013). Influence of climate and land use change on spatially resolved volatilization of persistent organic pollutants (POPs) from background soils. *Environ. Sci. Technol.*, *47*, 7052–7059.
- Kumar, S., & Sharma, A. (2019). Cadmium toxicity: effects on human reproduction and fertility. *Reviews on Environmental Health*, *34*(4), 327–338. <https://doi.org/10.1515/reveh-2019-0016>
- Leal Soto, D. S., Valenzuela Quintanar, A. I., Gutiérrez Coronado, M. de L., Bermúdez Almada, M. del C., Hernández García, J., Aldana Madrid, M. L., Grajeda Cota, P., Silveira Gramont, M. I., Meza Montenegro, M. M., Palma Durán, S. A., Leyva García, G. N., Camarena Gómez, B. O., & Valenzuela Navarro, C. P. (2014). Organochlorine Pesticide Residues in Agricultural Soils. *Terra Latinoamericana*, *32*(1), 1–11.
- Lenoir, C., Tornari, G., & Campos, L. M. (2004). *Contaminación y tratamiento de suelos. Buenos Aires Argentina*. 65.
- Liu, L., Li, W., Song, W., & Guo, M. (2018). Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. *The Science of the Total Environment*, *633*, 206–219. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.161>
- Loomis, D., Guyton, K., Grosse, Y., El Ghissasi, F., Bouvard, V., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Mattock, H., & Straif, K. (2015). Carcinogenicity of lindane, DDT, and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *The Lancet Oncology*, *16*(8), 891–892. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)00081-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00081-9)
- Mahecha-Pulido, J. D., Trujillo-González, J. M., & Torres-Mora, M. A. (2015). Contenido de metales pesados en suelos agrícolas de la región Ariari, Departamento del Meta. *Orinoquia*, *19*(1), 118–122.
- Majtnerová, P., & Roušar, T. (2018). An overview of apoptosis assays detecting DNA fragmentation. *Molecular Biology Reports*, *45*(5), 1469–1478. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4258-9>
- Mansour, S. A. (2009). Persistent organic pollutants (POPs) in Africa: Egyptian scenario. *Human & Experimental Toxicology*, *28*(9), 531–566. <https://doi.org/10.1177/0960327109347048>
- Marco, J. A. M., & Kishimba, M. A. (2005). Concentrations of pesticide residues in grasses and sedges due to point source contamination and the indications for public health risks, Vikuge, Tanzania. *Chemosphere*, *61*(9), 1293–1298. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.03.059>
- Marín-Benito, J. M., Herrero-Hernández, E., Rodríguez-Cruz, M. S., Arienzo, M., & Sánchez-Martín, M. J. (2017). Study of processes influencing bioavailability of pesticides in wood-soil systems: Effect of different factors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *139*, 454–462. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.012>
- Martínez Quintanilla, M. C., Torres Bugarín, O., Martínez Guerrero, J. H., Delgado León, T. G., Salas Pacheco, J. M., Pereda Solís, M. E., Martínez Quintanilla,

- M. C., Torres Bugarín, O., Martínez Guerrero, J. H., Delgado León, T. G., Salas Pacheco, J. M., & Pereda Solís, M. E. (2017). Relación heterófilo/linfocito, frecuencia espontánea de eritrocitos micronucleados y prolongaciones nucleares en el ganso nevado (*Chen caerulescens*): Una propuesta como posible biomonitor de estrés y genotóxicos ambientales. *Huitzil*, 18(1), 102–111. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-74592017000100102&lng=es&nrm=iso&tlng=](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-74592017000100102&lng=es&nrm=iso&tlng=)
- Mason, B. J. (1983). *Preparation of soil sampling protocol: Techniques and strategies*.
- Mathur, V., Bhatnagar, P., Sharma, R. G., Acharya, V., & Sexana, R. (2002). Breast cancer incidence and exposure to pesticides among women originating from Jaipur. *Environment International*, 28(5), 331–336. [https://doi.org/10.1016/s0160-4120\(02\)00031-4](https://doi.org/10.1016/s0160-4120(02)00031-4)
- McKean, S. J. (1993). Manual de análisis de suelos y tejido vegetal. In *Centro Internacional de Agricultura Tropical*. <https://doi.org/10.1163/15733823-00192P02>
- Mireles-García, F., Dávila, J. I., PinedoVega, J. L., Reyes, E., Speakman, R., & Glascock, M. (2012). Assessing urban soil pollution in the cities of Zacatecas and Guadalupe by INAA. *Microchemical Journal*, 103, 158–164.
- More, S., Bampidis, V., Benford, D., Boesten, J., Bragard, C., Halldorsson, T., Hernandez-Jerez, A., Hougaard-Bennekou, S., Koutsoumanis, K., Naegeli, H., Nielsen, S. S., Schrenk, D., Silano, V., Turck, D., Younes, M., Aquilina, G., Crebelli, R., Gürtler, R., Hirsch-Ernst, K. I., ... Schlatter, J. (2019). Genotoxicity assessment of chemical mixtures. *EFSA Journal. European Food Safety Authority*, 17(1), e05519. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5519>
- Murga-Juárez, M. N., Gutiérrez-Tolentino, R., Vega y León, S., Pérez-González, J. J., Schettino-Bermúdez, B., Ruíz-Rojas, J. L., & Yamazaki-Maza, A. (2017). Presencia de plaguicidas organoclorados en forraje para ganado en unidades de producción de leche orgánica en Tecpatán, Chiapas. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 8(2), 157–166. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i2.4432>
- Narváez-Valderrama, J. F., Palacio-Baena, J. A., & Molina-Pérez, F. J. (2012). Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: Una revisión de los procesos de degradación natural. *Gestión y Ambiente*, 15(3), 27–37. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169424893002>
- Nguyen, B. T., Do, D. D., Nguyen, T. X., Nguyen, V. N., Phuc Nguyen, D. T., Nguyen, M. H., Thi Truong, H. T., Dong, H. P., Le, A. H., & Bach, Q.-V. (2020). Seasonal, spatial variation, and pollution sources of heavy metals in the sediment of the Saigon River, Vietnam. *Environmental Pollution (Barking, Essex : 1987)*, 256, 113412. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113412>
- NOM-021-SEMARNAT-2000. (2002). *Norma Oficial Mexicana que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis*.
- OCDE. (2014). *Test No. 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test*.
- OMS. (1993). *Biomarkers and risk assessment: concepts and principles*. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/39037>
- P.O. (2014). *Programa Municipal de Desarrollo Urbano de El Carmen*

*Tequexquitla.*

- Parida, M. K., Joardar, H., Rout, A. K., Routaray, I., & Mishra, B. P. (2019). Multiple response optimizations to improve performance and reduce emissions of Argemone Mexicana biodiesel-diesel blends in a VCR engine. *Applied Thermal Engineering*, 148, 1454–1466. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2018.11.061>
- Pavlović, P., Sawidis, T., Breuste, J., Kostić, O., Čakmak, D., Đorđević, D., Pavlović, D., Pavlović, M., Perović, V., & Mitrović, M. (2021). Fractionation of Potentially Toxic Elements (PTEs) in Urban Soils from Salzburg, Thessaloniki and Belgrade: An Insight into Source Identification and Human Health Risk Assessment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(11). <https://doi.org/10.3390/IJERPH18116014>
- Perea-Vélez, Y. S. (2014). Estabilización química de elementos potencialmente tóxicos con enmiendas. *Revista Latinoamericana El Ambiente y Las Ciencias*, 5(9), 44–54.
- Pollack, L., Ondrasek, N. R., & Calisi, R. (2017). Urban health and ecology: the promise of an avian biomonitoring tool. *Current Zoology*, 63(2), 205–212. <https://doi.org/10.1093/cz/zox011>
- Ponting, J., Kelly, T. J., Verhoef, A., Watts, M. J., & Sizmur, T. (2021). The impact of increased flooding occurrence on the mobility of potentially toxic elements in floodplain soil – A review. *Science of the Total Environment*, 754. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.142040>
- Porta, J., López-Acevo, M., & Roquero, C. (1994). *Edafología para la agricultura y el medio ambiente* (Mundi-Prensa (ed.)).
- Pourret, O., & Hursthouse, A. (2019). It's Time to Replace the Term "Heavy Metals" with "Potentially Toxic Elements" When Reporting Environmental Research. In *International journal of environmental research and public health* (Vol. 16, Issue 22). <https://doi.org/10.3390/ijerph16224446>
- Qu, C., Qi, S., Yang, D., Huang, H., Zhang, J., Chena, W., Yohannes, H. K., Sandy, E. H., Yang, J., & Xing, X. (2015). Risk assessment and influence factors of organochlorine pesticides (OCPs) in agricultural soils of the hill region: A case study from Ningde, southeast China. *Journal of Geochemical Exploration*, 149, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2014.11.002>
- Quero, A. A. M., Ferré, D. M., Zarco, A., Cuervo, P. F., & Gorla, N. B. M. (2016). Erythrocyte micronucleus cytome assay of 17 wild bird species from the central Monte desert, Argentina. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23(24), 25224–25231. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7638-5>
- Ramírez-Agudelo, M. E., & Rojas-López, M. (2010). Necrosis, a regulated mechanism of cell death. *Iatreia*, 23(2), 166–177.
- Ramos-Arroyo, Y. R., & Siebe-Grabach, C. D. (2006). Estrategia para identificar jales con potencial de riesgo ambiental en un distrito minero: estudio de caso en el Distrito de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 23(1), 54–74. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1026-87742006000100004](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1026-87742006000100004)
- Ramos, D. C. (2018). Adsorción de cadmio, cobre y plomo en bentonita, caolín y



- zeolita naturales y modificadas: una revisión de los parámetros de operación, isotermas y cinética. *Ingeniería*, 23(3), 252–273.
- Rawson, C. A., Tremblay, L. A., Warne, M. S. J., Ying, G., Kookana, R., Laginestra, E., Chapman, J. C., & Lim, R. P. (2009). Bioactivity of POPs and their effects in mosquitofish in Sydney Olympic Park, Australia. *Science of The Total Environment*, 407(12), 3721–3730. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.02.015>
- Rehman, I. ur, Ishaq, M., Ali, L., Muhammad, S., Din, I. U., Yaseen, M., & Ullah, H. (2020). Potentially toxic elements' occurrence and risk assessment through water and soil of Chitral urban environment, Pakistan: a case study. *Environmental Geochemistry and Health*, 42(12), 4355–4368. <https://doi.org/10.1007/S10653-020-00531-4>
- Rehman, K., Fatima, F., Waheed, I., & Akash, M. S. H. (2018). Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(1), 157–184. <https://doi.org/10.1002/jcb.26234>
- Reichman, S. M. (2002). The responses of plants to metal toxicity: A review focusing on copper, manganese & zinc. *Melbourne: Australian Minerals & Energy Environment Foundation.*, 22–26.
- Ren, Z., Lu, Y., Li, Q., Sun, Y., Wu, C., & Ding, Q. (2018). Occurrence and characteristics of PCDD/Fs formed from Chlorobenzenes production in China. *Chemosphere*, 205, 267–274. <https://doi.org/doi:10.1016/j.chemosphere.2018.04.112>
- Reyez-Guzmán, M. (2010). Comportamiento de los metales pesados en el suelo. *Epsilon*, 1(15), 181–189.
- Rimassa, M. A., S, O., & Acevedo, E. (2006). *METALES PESADOS Y BIODISPONIBILIDAD*.
- Roa-Peña, L. (1994). Apoptosis. *Revista de La Facultad de Medicina*, 42(4 SE-), 215–219. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revfacmed/article/view/31162>
- Sarasin, A. (2003). An overview of the mechanisms of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Research*, 544(2–3), 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2003.06.024>
- Sarkar, B., Mukhopadhyay, R., Ramanayaka, S., Bolan, N., & Ok, Y. S. (2021). The role of soils in the disposition, sequestration and decontamination of environmental contaminants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 376(1834), 20200177. <https://doi.org/10.1098/rstb.2020.0177>
- SEDESOL. (2017). *Informe anual sobre la situación de pobreza y rezago social 2017*.
- SEMARNAT. (2008). *Informa de la situación del medio ambiente en México*.
- SEMARNAT. (2016). *Guía para la presentación del estudio de riesgo. Modalidad de análisis de riesgo*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. [http://tramites.semarnat.gob.mx/Doctos/DGIRA/Guia/MIAParticularRiesgo/GuiasEstudioRiesgo/g\\_vias\\_generales.pdf](http://tramites.semarnat.gob.mx/Doctos/DGIRA/Guia/MIAParticularRiesgo/GuiasEstudioRiesgo/g_vias_generales.pdf)
- Shepherd, G. L., & Somers, C. M. (2012). Adapting the buccal micronucleuscytome assay for use in wild birds: age and sex affect background frequency in pigeons. *Environ Mol Mutagen*, 53, 136–144.
- Sinche-González, M. (2007). Evaluación del comportamiento ambiental de los

- contaminantes en residuos sólidos mineros metalúrgicos (RSMM) por el método de extracciones secuenciales y aplicación de modelos de movilidad y transporte. *Revista Del Instituto de Investigación de La Facultad de Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, 10(9), 78–86.
- Sojinu, O. S., Sonibare, O. O., Ekundayo, O. O., & Zeng, E. Y. (2012). Assessment of organochlorine pesticides residues in higher plants from oil exploration areas of Niger Delta, Nigeria. *The Science of the Total Environment*, 433, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.06.043>
- Song, Y., Wang, F., Bian, Y., Zhang, Y., & Jiang, X. . (2012). Chlorobenzenes and organochlorinated pesticides in vegetable soils from an industrial site, China. *Journal of Environmental Sciences*, 24(3), 362–368.
- Sonne, C., Siebert, U., Gonnsen, K., Desforges, J.-P., Eulaers, I., Persson, S., Roos, A., Bäcklin, B.-M., Kauhala, K., Tange Olsen, M., Harding, K. C., Treu, G., Galatius, A., Andersen-Ranberg, E., Gross, S., Lakemeyer, J., Lehnert, K., Lam, S. S., Peng, W., & Dietz, R. (2020). Health effects from contaminant exposure in Baltic Sea birds and marine mammals: A review. *Environment International*, 139, 105725. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105725>
- Souto, H. N., de Campos Júnior, E. O., Campos, C. F., Rodrigues, T. S., Pereira, B. B., & Morelli, S. (2018). Biomonitoring birds: the use of a micronuclei test as a tool to assess environmental pollutants on coffee farms in southeast Brazil. *Environmental Science and Pollution Research International*, 25(24), 24084–24092. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2466-4>
- Sposito, G. (1989). *The chemistry of soil* (Second edi). Oxford University Press.
- SSSA. (2008). Alphabetical Listing of soil terms, A–Z. In *Glossary of Soil Science Terms* 2008 (pp. 1–75). <https://doi.org/https://doi.org/10.2136/2008.glossarysoilscienceterms.c1>
- Strimbu, K., & Tavel, J. A. (2010). What are biomarkers? *Current Opinion in HIV and AIDS*, 5(6), 463–466. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833ed177>
- Suvarapu, L. N., & Baek, S.-O. (2017). Determination of heavy metals in the ambient atmosphere. *Toxicology and Industrial Health*, 33(1), 79–96. <https://doi.org/10.1177/0748233716654827>
- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. *Experientia Supplementum* (2012), 101, 133–164. [https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6)
- Teng, Y., Wu, J., Lu, S., Wang, Y., Jiao, X., & Song, L. (2014). Soil and soil environmental quality monitoring in China: a review. *Environment International*, 69, 177–199. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.04.014>
- Torres-Dosal, A. (2006). *Desarrollo de la Metodología para la Evaluación de Riesgo en Sitios Contaminados*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.
- Uchimiya, M., Bannon, D., Nakanishi, H., McBride, M. B., Williams, M. A., & Yoshihara, T. (2020). Chemical Speciation, Plant Uptake, and Toxicity of Heavy Metals in Agricultural Soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(46), 12856–12869. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00183>
- UNEP. (2019). *Listing POPs in the Stockholm Convention*. <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/AllPOPs/tabid/2509/Default.aspx>

- Uzcátegui, J., Araujo, Y., & Mendoza, L. (2011). Residuos de plaguicidas organoclorados y su relación con parámetros físico-químicos en suelos del municipio Pueblo Llano, Estado Mérida. *Bioagro*, 23(2), 115–120.
- Valvi, D., Mendez, M. A., Garcia-Esteban, R., Ballester, F., Ibarluzea, J., Goñi, F., Grimalt, J. O., Llop, S., Marina, L. S., Vizcaino, E., Sunyer, J., & Vrijheid, M. (2014). Prenatal exposure to persistent organic pollutants and rapid weight gain and overweight in infancy. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 22(2), 488–496. <https://doi.org/10.1002/oby.20603>
- von Ledebur, M., & Schmid, W. (1973). The micronucleus test. Methodological aspects. *Mutation Research*, 19(1), 109–117. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(73\)90118-8](https://doi.org/10.1016/0027-5107(73)90118-8)
- Waegeneers, N., De Steur, H., De Temmerman, L., Van Steenwinkel, S., Gellynck, X., & Viaene, J. (2009). Transfer of soil contaminants to home-produced eggs and preventive measures to reduce contamination. *Science of The Total Environment*, 407(15), 4438–4446. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.12.041>
- Wael, A. O., Khalid, H. Z., Amr, A. K., & Abo-Hegab, S. (2012). Genotoxic effects of metal pollution in two fish species, *Oreochromis niloticus* and *Mugil cephalus*, from highly degraded aquatic habitats. *Mutat. Res.*, 746, 7–14.
- Waliszewski, S. M., Carvajal, O., Gómez-Arroyo, S., Amador-Muñoz, O., Villalobos-Pietrini, R., Hayward-Jones, P. M., & Valencia-Quintana, R. (2008). DDT and HCH Isomer Levels in Soils, Carrot Root and Carrot Leaf Samples. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 81(4), 343–347. <https://doi.org/10.1007/s00128-008-9484-8>
- Wang, C., Wang, X., Gong, P., & Yao, T. (2016). Residues, spatial distribution and risk assessment of DDTs and HCHs in agricultural soil and crops from the Tibetan Plateau. *Chemosphere*, 149, 358–365. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.120>
- Wang, X., Sheng, J., Gong, P., Xue, Y., Yao, T., & Jones, K. C. (2012). Persistent organic pollutants in the Tibetan surface soil: Spatial distribution, air to soil exchange and implications for global cycling. *Environmental Pollution*, 170, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.06.012>
- Weber, R., Bell, L., Watson, A., Petrlik, J., Paun, M. C., & Vijgen, J. (2019). Assessment of pops contaminated sites and the need for stringent soil standards for food safety for the protection of human health. *Environmental Pollution*, 249, 703–715. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.066>
- Weber, R., Gaus, C., Tysklind, M., Johnston, P., Forter, M., Hollert, H., & Moccarelli, P. (2008). Dioxin-and POP-contaminated sites—contemporary and future relevance and challenges. *Environmental Science and Pollution Research*, 15(5), 363.
- Weber, R., Watson, A., Malkov, M., Costner, P., & Vijgen, J. (2011). Unintentionally produced hexachlorobenzene and pentachlorobenzene POPs waste from solvent production—the need to establish emission factors and inventories. *Organohalogen Compounds*, 73, 2205–2208.
- Wielsøe, M., Kern, P., & Bonfeld-Jørgensen, E. C. (2017). Serum levels of environmental pollutants is a risk factor for breast cancer in Inuit: a case

- control study. *Environmental Health : A Global Access Science Source*, 16(1), 56. <https://doi.org/10.1186/s12940-017-0269-6>
- Wong, F., & Bidleman, T. F. (2011). Aging of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in muck soil: volatilization, bioaccessibility, and degradation. *Environmental Science & Technology*, 45(3), 958–963. <https://doi.org/10.1021/es102825w>
- Wu, X., Cobbina, S. J., Mao, G., Xu, H., Zhang, Z., & Yang, L. (2016). A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23(9), 8244–8259. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6333-x>
- Yáñez, L., García-Nieto, E., Rojas, E., Carrizales, L., Mejía, J., Calderón, J., Razo, I., & Díaz-Barriga, F. (2003). DNA damage in blood cells from children exposed to arsenic and lead in a mining area. *Environmental Research*, 93, 231–240.
- Yang, Y., Zhang, N., Xue, M., & Tao, S. (2010). Impact of soil organic matter on the distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils. *Environmental Pollution*, 158(6), 2170–2174. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.02.019>
- Yu, H.-Y., Li, F.-B., Yu, W.-M., Li, Y.-T., Yang, G.-Y., Zhou, S.-G., Zhang, T.-B., Gao, Y.-X., & Wan, H.-F. (2013). Assessment of organochlorine pesticide contamination in relation to soil properties in the Pearl River Delta, China. *The Science of the Total Environment*, 447, 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.070>
- Zaragoza-Bastida, A., B., V.-C., C., O.-S., Zamora-Espinosa, J., & Velázquez-Ordoñez, V. Aparicio-Burgos, J. (2016). Repercusiones del uso de los organoclorados sobre el ambiente y salud pública. *Abanico Veterinario*, 6(1), 43–55.
- Zhang, H. B., Luo, Y. M., Zhao, Q. G., Wong, M. H., & Zhang, G. L. (2006). Residues of organochlorine pesticides in Hong Kong soils. *Chemosphere*, 63(4), 633–641. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.08.006>
- Zhao, C., Xie, H., Zhang, J., Xu, J., & Liang, S. (2013). Spatial distribution of organochlorine pesticides (OCPs) and effect of soil characters: a case study of a pesticide producing factory. *Chemosphere*, 90(9), 2381–2387. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.10.029>
- Zúñiga-González, G., Torres-Bugarín, O., Luna-Aguirre, J., González-Rodríguez, A., Zamora-Perez, A., Gómez-Meda, B. C., Ventura-Aguilar, A. J., Ramos-Ibarra, M. L., Ramos-Mora, A., Ortíz, G. G., & Gallegos-Arreola, M. P. (2000). Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds): part two. *Mutation Research*, 467(1), 99–103. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(00\)00021-8](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(00)00021-8)