



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN**

EVALUACION DEL DAÑO GENOTOXICO INDUCIDO POR  
SUSTANCIAS TOXICAS EN AGUAS RESIDUALES UTILIZADAS  
PARA RIEGO EN EL MUNICIPIO DE ZUMPANGO,  
ESTADO DE MEXICO.

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**I N G E N I E R O   A G R I C O L A**  
P R E S E N T A :  
**I S M A E L   L O P E Z   D I A Z**

ASESOR: ING. AGR. OSCAR HORACIO GUILLEN AYALA

m344980



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN**  
**UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR**  
**DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES - CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DEPARTAMENTO DE  
EXAMENES PROFESIONALES

**DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO**  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Evaluación del Daño Genotóxico Inducido por Sustancias Tóxicas en Aguas Residuales  
Utilizadas para Riego en el Municipio de Zumpango, Estado de México

que presenta el pasante: Ismael López Díaz  
con número de cuenta: 9560173-9 para obtener el título de :  
Ingeniero Agrícola

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 28 de Marzo de 2005

PRESIDENTE	Biol. Elva Martínez Holguín	
VOCAL	M.C. Edvino Josafat Vega Rojas	
SECRETARIO	Ing. Oscar Horacio Guillén Ayala	
PRIMER SUPLENTE	Ing. Angel López Cortés	
SEGUNDO SUPLENTE	Ing. Salvador Clemente del Castillo	

*Dedicatoria.*

Este trabajo de tesis es una muestra de gratitud a la máxima casa de estudios a la cual debo mi formación profesional:

" Universidad Nacional Autónoma de México ".

FES Cuautitlán

Mientras siga existiendo una lucha interminable de poder, ambición, corrupción y una gran desigualdad entre la gente rica y pobre, el hombre no alcanzará su máxima plenitud.

LÓPEZ DÍAZ ISMAEL

## *Agradecimientos.*

A toda mi familia en especial a mi mamá Guadalupe, a mis hermanos: China, Yeyo, Delgada Paquita, Tita por facilitar los trámites de titulación, a mi sobrino Ricardín, a mi cuñado Pachalín gracias.

A mis amigos de la carrera, Valde, Cueto, Largustín, Chapa, Mono, Oscar, Niño, Chuy, Abuelo, Eva, Daza, Margarita, Elizabeth (cómo la extraño), Caloca y demás, gracias por estar conmigo.

A mis amigos de Atletismo: Pancho, Rafa, Yoselin, Cepillin, Jorge, Isabel (una persona muy especial), Muñeco, Pulga, Sincerebro, Anemia, mi Tubo, Chucho Jiménez, Chucho Alonso, Retislandia, Flojera, Isaías, Morrito, Acierno, don Jesús y demás gracias.

A mi entrenador Martín Núñez, por ser una persona sencilla, honesta, paciente y sobre todo tenaz, gracias por tus consejos.

A mis profesores, Abel, Elba, Ornelas, Medina, del Castillo, Edvino, Angel López, Manuel de la Rosa, y demás gracias.

Un reconocimiento muy especial a mi asesor Oscar Guillén, por su confianza, honestidad, paciencia, buen amigo, excelente consejero, una gran persona y sobre todo desinteresado, sin él no hubiera sido posible este trabajo, le doy las más sinceras gracias. (Nos veremos en la maestría).

A don Roberto del Valle por sus consejos desinteresados, por su apoyo moral, y por ser un gran amigo, muchas gracias don Roberto.

A mi jefa por su ayuda económica y desinteresada para elaborar este trabajo, Ventura Garcia Tello, gracias.

**ÍNDICE**

	Página
Índice de tablas.	i
Índice de figuras.	iii
Resumen.	v
1. Introducción.	1
2. Objetivos.	5
2.1. Objetivo general.	5
2.2. Objetivos particulares.	5
2.3. Hipótesis.	6
3.- Revisión de literatura.	7
3.1. Importancia de la calidad del agua utilizada para el riego agrícola.	7
3.2. Antecedentes del uso de aguas residuales para el riego agrícola en México.	9
3.3. Clasificación de las aguas residuales según su origen.	10
3.4. Características de las aguas residuales.	12
3.4.1. Características físicas.	12
3.4.2. Características químicas.	14
3.4.3. Características biológicas.	18
3.5. Criterios y normas de calidad de las aguas residuales.	19
3.6. Efecto del riego con aguas residuales en el suelo y en las plantas cultivadas.	21
3.6.1. Efecto en el suelo.	21
3.6.2. Efecto en las plantas cultivadas.	23

	página
3.7. Contaminación del agua por metales pesados.	24
3.7.1. Generalidades de los metales pesados.	26
Plomo (Pb)	
Cromo (Cr)	
Cadmio (Cd)	
Arsénico (As)	
3.7.2. Efectos tóxicos de los metales pesados en las plantas.	33
3.8. División celular en células meristemáticas.	36
3.9. Importancia de la evaluación genotóxica.	38
3.10. Definición e importancia de la prueba de micronúcleos.	42
3.11. El haba ( <i>Vicia faba</i> L.) como sistema biológico de prueba.	44
4. Materiales y métodos.	46
4.1. Localización geográfica del área de estudio.	46
4.2. Ubicación de los sitios de muestreo.	47
4.3. Metodología para el muestreo del agua.	48
4.4. Sitio de la experimentación.	49
4.5. Material biológico.	49
4.6. Metodología.	49
4.7. Diseño experimental.	51
4.8. Análisis estadístico.	51
4.9. Análisis citogenético.	51
4.10. Criterios para seleccionar células micronucleadas.	52
5. Resultados.	55

	página
6. Discusión de resultados.	66
7. Conclusiones.	72
8. Recomendaciones.	73
9. Referencias.	74

**ÍNDICE DE TABLAS**

	página
Tabla 1. Límites máximos permisibles de los parámetros de contaminantes para las aguas residuales que se dispongan para el riego agrícola (Norma Oficial Mexicana, 1996).	22
Tabla 2. Análisis de varianza para la frecuencia de micronúcleos.	55
Tabla 3. Análisis de varianza para la frecuencia del índice mitótico.	56
Tabla 4. Frecuencia de micronúcleos en los tratamientos evaluados para los tres sitios de muestreo.	56
Tabla 5. Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer para los tratamientos de la frecuencia de micronúcleos.	58
Tabla 6. Frecuencia del índice mitótico en los tratamientos evaluados para los tres sitios de muestreo.	59
Tabla 7. Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer para los tratamientos de la frecuencia del índice mitótico.	61
Tabla 8. Valores obtenidos para los metales pesados analizados por espectrofotometría de absorción atómica para el sitio de muestreo 1.	62
Tabla 9. Valores obtenidos para los metales pesados analizados por espectrofotometría de absorción atómica para el sitio de muestreo 2.	62

Tabla 10. Valores obtenidos para los metales pesados analizados por espectrofotometría de absorción atómica para el sitio de muestreo 3	62
---	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

	página
Fases de la mitosis en células meristemáticas de <i>Vicia faba</i> .	
Figura 1. Profase.	39
Figura 2. Metafase.	39
Figura 3. Anafase.	39
Figura 4. Telofase.	39
Figura 5. Ciclo celular en células meristemáticas de <i>Vicia faba</i> .	40
Figura 6. Ubicación geográfica del municipio de Zumpango en el Estado de México.	53
Figura 7. Ubicación de los sitios de muestreo en el municipio de Zumpango.	54
Figura 8. Frecuencia de micronúcleos en los tratamientos evaluados para los tres sitios de muestreo.	57
Figura 9. Frecuencia del índice mitótico en los tratamientos evaluados para los tres sitios de muestreo.	60
Figura 10. Células meristemáticas de <i>Vicia faba</i> observadas en interfase con presencia de micronúcleos.	63
Figura 11. Célula meristemática de <i>Vicia faba</i> observada en profase.	64
Figura 12. Célula meristemática de <i>Vicia faba</i> observada en metafase.	64

Figura 13. Célula meristemática de *Vicia faba* observada en anafase.

65

Figura 14. Célula meristemática de *Vicia faba* observada en telofase.

65

## RESUMEN

En la República Mexicana, la escasez de agua apropiada para riego en la agricultura ha generado la necesidad de usar fuentes alternas de este elemento. Esto ha provocado que varias regiones del país estén siendo afectadas por el uso de aguas residuales que tienen un origen industrial y urbano. Entre estas regiones se encuentra el municipio de Zumpango, ubicado en el Estado de México, que se ve afectado por utilizar aguas residuales provenientes de la zona urbana de la ciudad de México y municipios conurbanos. Por lo que este trabajo tiene por objetivo evaluar mediante la prueba de micronúcleos y el índice mitótico, los efectos genotóxico y citotóxico, respectivamente, ocasionados en células meristemáticas de raíz de *Vicia faba*. Para lo anterior se sometieron las raíces de *Vicia faba* a un tiempo de tres horas de exposición en las muestras de agua colectadas y con un tiempo de 18 horas de recuperación en agua destilada. Se pudo observar que las sustancias químicas presentes en el agua produjeron micronúcleos en células en interfase. La evaluación del índice mitótico mostró que se tuvo un efecto inhibitor de la división celular, ya que disminuyó la frecuencia de células mitóticas en comparación con el testigo. De acuerdo con los resultados obtenidos se considera necesario que este tipo de aguas reciban algún tipo de tratamiento antes de ser utilizadas en la agricultura, ya que de lo contrario representan un riesgo potencial para todos los seres vivos.

## 1. INTRODUCCIÓN.

La realización del presente trabajo se justifica en el hecho de que las aguas residuales sin haber sido sometidas a tratamiento alguno, son usadas para el riego agrícola. Este tipo de aguas contienen una gran cantidad de sustancias químicas que entran en contacto con todos los seres vivos, ya sea de una forma directa o indirecta, provocando diferentes tipos de daños, siendo uno de ellos el de producir alteraciones genéticas, tal como lo llevan a cabo algunos metales pesados que se encuentran en las aguas residuales. Dichos efectos genéticos generalmente afectan la constitución bioquímica, fisiológica y morfológica de todos los seres vivos. Uno de los propósitos de realizar estudios genotóxicos es prevenir este tipo de problemas, y por eso es importante realizar este tipo de estudios para obtener una información temprana, preventiva y amplia, desde el punto de vista citogenético, de la actividad biológica que llevan a cabo los agentes genotóxicos y, que por consiguiente, ayuden a tomar decisiones para disminuir el riesgo de usar medios o consumir productos que sean nocivos para el ambiente, para la salud humana, de los animales y para la sanidad y vigor de las plantas, sobre todo las cultivadas.

En México, la escasez de agua apropiada para el riego en la agricultura, ha generado la necesidad de utilizar fuentes alternas de este elemento vital, pero que en muchos casos están afectadas por desechos industriales y domésticos, principalmente. Estas aguas muchas veces no son sometidas a tratamiento alguno para eliminar los residuos químicos, ya sean líquidos, sólidos o gaseosos, lo que provoca una alta presencia de sustancias nocivas y tóxicas, tales como sales

solubles, detergentes, metales pesados, compuestos corrosivos, sólidos volátiles, sólidos sedimentables, grasas, aceites y microorganismos patógenos, que provocan un impacto negativo en su trayecto y en los lugares receptores (Guerrero, 1997), afectando también a las plantas cultivadas, principalmente en su crecimiento, desarrollo y rendimiento (Guerrero, 1997; Palafox, 2003; Rank y Nielsen, 1994). Estas sustancias, también, ocasionan graves problemas de salud pública (BGS, 1994; Castro de Esparza, 1997; Saénz, 1997), así mismo, en los animales han originado graves alteraciones fisiológicas (Guerrero, 1997; Saénz, 1997), además provocan la contaminación y degradación de los suelos (Knasmüller et al, 1998) y contaminan los recursos hídricos (Melo et al, 2003; Rank y Nielsen, 1994).

Por otra parte, cada vez es más común que las aguas residuales utilizadas para riego agrícola, presenten un incremento en la concentración de metales pesados, como consecuencia directa de emplear aguas de baja o nula depuración (Avilés, 2000; Cajuste y Carrillo, 1992; Cala, 1995; Cruz, 1997).

El peligro que pueden presentar los metales pesados, tales como el plomo, cromo, mercurio, arsénico, cadmio, etc., contenidos en las aguas residuales para riego, es que pueden acumularse en los tejidos vegetales (alterando su funcionamiento genético, bioquímico y fisiológico) y entrar a la cadena alimenticia de tal forma que se rebasen los límites máximos permitidos para preservar la salud de los consumidores (Knasmüller et al, 1998; Majer et al, 2002; Steinkellner et al, 1998).

Diversos autores señalan que en México existe un alto porcentaje de uso de aguas residuales urbanas e industriales, que no son tratadas y se emplean para el

riego agrícola, sobre todo en áreas rurales cercanas a las grandes urbes como son Monterrey, Guadalajara, Toluca y la zona metropolitana del Valle de México, entre otros (Arango, 1996; Cuellar, 1988; Guerrero, 1997; Tejeda, 1993.).

En el Estado de México existen varios municipios que presentan algunas regiones agrícolas que se ven afectadas por el uso de aguas residuales de origen urbano e industrial. Uno de estos municipios es el de Zumpango (ubicado al norte de la ciudad de México), que recibe los afluentes de aguas residuales urbanas e industriales provenientes del área metropolitana de la ciudad de México que son usadas sin tratamiento convencional alguno, para regar diversos cultivos básicos como maíz, alfalfa, trigo y avena, así como diversas hortalizas utilizadas principalmente para autoconsumo, y que en pequeña escala, se comercializan en las centrales de abasto de Cuautitlán, Tultitlán y de la ciudad de México (Ramírez, 1999; comunicación personal de diversos agricultores).

Este tipo de aguas contienen sustancias químicas que ocasionan daños a los vegetales, entre los que está el daño genético, el cuál se puede evaluar mediante diversos estudios genotóxicos que permiten hacer una evaluación temprana del daño que provocan estas sustancias (Grant, 1994; Grover y Satwinderjeet, 1999; Ma et al, 1997), efecto que puede detectarse antes de que se presente a nivel fisiológico y morfológico en las plantas ya establecidas (Palafox, 2003).

Para realizar el presente trabajo, el estudio seleccionado para identificar el potencial genotóxico de sustancias presentes en el agua, es la llamada prueba de micronúcleos que se encuentra entre los ensayos que detectan alteraciones a nivel de estructura de cromosoma, y es considerada una prueba sencilla, confiable y de alta sensibilidad, para determinar el efecto genotóxico de una sustancia

química en agua, suelo y aire, utilizando como bioindicador a las plantas (Evans, 1997; Grover y Satwinderjeet, 1999; Minissi et al, 1997).

Entre las metodologías existentes, la aplicación de biomonitores de toxicidad en plantas vasculares está siendo considerada de manera creciente en grupos de ensayo para el diagnóstico genotóxico. Un sistema de prueba vegetal muy útil para la detección de la actividad genotóxica de contaminantes en agua, lo constituyen las células meristemáticas de la raíz de haba (*Vicia faba* L.) que ofrecen un amplio rango de posibilidades para efectuar análisis genotóxicos (Grant, 1994; Ma et al, 1997; Minissi et al, 1998).

En base a lo anteriormente expuesto y debido al empleo de aguas residuales para el riego en el municipio de Zumpango, Estado de México, se considera necesario conocer el posible daño genético que puedan ocasionar a las plantas cultivadas, para lo cual se proponen cumplir los objetivos que a continuación se mencionan.

## **2. OBJETIVOS.**

### **2.1. Objetivo General.**

Evaluar mediante la prueba de micronúcleos el daño genotóxico y con la división celular el efecto citotóxico en células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba* L.), debido a la acción de sustancias químicas presentes en aguas residuales usadas para riego en el municipio de Zumpango, Estado de México.

### **2.2. Objetivos particulares.**

- Cuantificar la concentración presente de plomo, cadmio, cromo, y arsénico en las aguas residuales usadas para riego agrícola en el municipio de Zumpango, Estado de México.
- Evaluar mediante la prueba de micronúcleos, el daño genotóxico de las aguas residuales en células meristemáticas ápicales de raíz de haba (*Vicia faba* L.).
- Determinar si las aguas residuales ocasionan modificaciones en la proliferación de células del meristemo apical de raíz de haba (*Vicia faba* L.)

### **2.3. Hipótesis.**

Si las sustancias químicas presentes en las aguas residuales actúan como agentes genotóxicos induciendo cambios cromosómicos y alterando la proliferación en las células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba* L.), se observará un aumento en la frecuencia de micronúcleos y una disminución del índice mitótico.

### 3. REVISIÓN DE LITERATURA.

#### 3.1. Importancia de la calidad del agua utilizada para el riego agrícola.

El concepto de la calidad del agua de riego se refiere a las características de las aguas que pueden afectar su adaptabilidad a un uso específico, de acuerdo a las necesidades del usuario (Pescod, 1992; Seoáñez y Angulo, 1999). Diversos autores mencionan que para la calidad del agua para riego se deben tomar en cuenta las características químicas, físicas y biológicas que presenten (Metcalf y Eddy, 1996; Ramalho, 1996; Seoáñez y Angulo, 1999).

Según Cortés et al., (1993), Seoáñez y Angulo (1999), la calidad de las aguas para riego están se relacionan con:

- a) El desarrollo de recursos en los que las aguas disponibles se aprovechan para fines agrícolas y municipales.
- b) Los sistemas en que las aguas disponibles para uso urbano, se derivan total o parcialmente del drenaje subterráneo de campos irrigados.
- c) La remoción de aguas residuales por irrigación de áreas agrícolas, ya sea de descarga directa del sistema de drenaje o por derivación de aguas receptoras contaminadas con aguas negras. Menor en sus implicaciones, es la calidad de las aguas municipales, que se usan en los prados, parques y jardines.

Otros autores mencionan que para determinar la calidad del agua que se puede utilizar en el riego bajo condiciones específicas, se deben considerar las variaciones e interacciones de suelos, plantas y clima, además del sistema de irrigación que se vaya a emplear (Pescod, 1992; Tebbutt, 2002).

Los parámetros más usuales en la determinación de la calidad del agua, usada para el riego, surgen de acuerdo con el origen, tipo y concentración de contaminantes que existen en ella. En México, las principales fuentes de contaminación del agua, son los desechos domésticos y los provenientes de las industrias. Los desechos domésticos se componen principalmente de materia orgánica en forma de sólidos, que son originados por las actividades humanas más elementales y son evacuados utilizando el sistema de alcantarillado. Este tipo de aguas también se caracterizan por su alto contenido de organismos patógenos como coliformes fecales, estreptococos fecales, huevecillos de nemátodos, quistes amibianos, etc. Que provocan diversas enfermedades en el ser humano; además contienen cantidades significativas de materia inorgánica, siendo característicos los compuestos que forman detergentes y concentraciones considerables de grasas y aceites. Los desechos industriales se componen de sustancias orgánicas e inorgánicas disueltas en suspensión, y son desalojados en la mayoría de los casos en forma líquida constituyendo una de las principales fuentes de contaminación de las aguas, ya que contienen sustancias tóxicas de diversos tipos. Las principales industrias que aportan la mayor cantidad de contaminantes a las aguas son: la del aluminio, la automotriz, la de conservas y enlatados, la de lácteos, la de fertilizantes, la de vidrio, la de cemento y concreto, la de asbestos, la química, la de curtiduría, la alimenticia, la de metales, la petroquímica, la de plásticos, la de papel, la termoeléctrica, la de acero y la textil (Avilés, 2000; Cajuste y Carrillo, 1992).

Con la finalidad de proteger principalmente la salud pública, las autoridades prohíben que las hortalizas, huertos o frutas, se rieguen con aguas residuales

parcialmente tratadas o no tratadas. El riego de viñedos en los que el fruto yace sobre el suelo, también está prohibido. Además, no se permite a las vacas y cabras lecheras que pasten sobre terrenos húmedos irrigados con aguas residuales y se les debe mantener apartadas de los canales de riego que conduzcan aguas residuales. Aún en los casos en que los productos de las áreas irrigadas con aguas residuales se van a cocinar antes de consumirlos, el riego debe suspenderse por lo menos un mes antes de la cosecha (Cortes et al., 1993; Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996).

### **3.2. Antecedentes del uso de aguas residuales para el riego agrícola en México.**

La práctica de utilizar aguas residuales domésticas e industriales en el riego agrícola es ampliamente conocida y apreciada por los agricultores, esto se hace principalmente en zonas con escasas fuentes de abastecimiento de agua de buena calidad para el desarrollo de cultivos, como son las zonas áridas y semiáridas del país (Tejeda, 1993).

En México, esta actividad se inició a principios del siglo XX, en el Valle del Mezquital ubicado en el estado de Hidalgo, y que actualmente comprende parte del Distrito de Riego 03, debido a la terminación de las obras del "gran canal del desagüe", el cual en la actualidad conduce las aguas residuales industriales y domésticas generadas en el área metropolitana de la ciudad de México, y que son aprovechadas para la irrigación de diversos cultivos en ese lugar. En este sitio el reuso del agua se realiza directamente y sin ningún tratamiento previo en toda el área regable del Distrito de Riego 03, el cual se encuentra situado en una región

donde, antes de aprovechar dichas aguas, los suelos eran infértiles por lo que la productividad era sumamente baja, y que a partir de la introducción del riego con dichas aguas se han formado suelos de espesor considerable y de alta productividad (Arango, 1996; Cortes et al, 1993; SARH, 1994; Tejeda, 1993).

Tejeda (1993), menciona que desde el año de 1986 se tenía una superficie en el país de 185 000 hectáreas regadas con aguas residuales, de las cuales el 36% corresponden al agua proveniente del área metropolitana de la ciudad de México. Posteriormente, esta práctica se extendió a otras regiones del país como son el área metropolitana de Monterrey, la Comarca Lagunera, el estado de Morelos, y el Valle de México. Sin embargo, esto se ha realizado en una forma no planeada y con tecnologías inadecuadas, por lo que en algunos lugares del país se han presentado efectos indeseables de diferentes tipos y magnitudes (Arango, 1996; Cortés et al, 1993; SARH, 1994; Tejeda, 1993).

Por otra parte, Arango (1996) indica que en el año de 1995, la superficie regada por aguas residuales con fines agrícolas era de 314 000 hectáreas en 13 estados de la República Mexicana y los principales cultivos fueron: maíz, frijol, trigo, alfalfa, sorgo, algodón, hortalizas, cítricos y frutales, lo que indicaba un aumento considerable en la superficie regada con aguas residuales.

### **3.3. Clasificación de las aguas residuales según su origen.**

De acuerdo con Palacios (2002), Granados y Pérez (1995), según su origen, las aguas residuales pueden ser clasificadas de la siguiente forma:

- a) **Domésticas o urbanas.** Las aguas de este tipo se componen principalmente de materia orgánica en forma de sólidos, que son originados

por las actividades humanas más elementales y son evacuados utilizando el sistema de alcantarillado. Este tipo de aguas se caracterizan además, por su contenido de organismos patógenos provenientes del tracto intestinal del humano, entre los que se pueden mencionar: coliformes fecales, estreptococos fecales, huevecillos de nemátodos, y quistes amibianos. También contienen cantidades significativas de materia inorgánica proveniente de la limpieza de las casas habitación, calles, centros comerciales, etc., siendo característicos los compuestos que forman los detergentes y concentraciones considerables de grasas y aceites.

- b) **Industriales.** Las aguas residuales de origen industrial se distinguen por contener gran variedad de sustancias, ya sea en forma disuelta o suspendida. Tal contenido define las características que condicionan el uso de las aguas y determinan el impacto sobre el ambiente cuando son dispuestas. Las principales industrias que aportan la mayor cantidad de aguas residuales de este tipo son: la del aluminio, la automotriz, la azucarera, la vitivinícola, la de conservas y enlatados, la de lácteos, la de fertilizantes, la del vidrio, la del cemento y concreto, la de asbestos, la química, la de curtiduría, la de metales, la del petróleo, la de plásticos, la del papel, la termoeléctrica, la del acero y la textil.
- c) **Agrícolas.** Las aguas de retorno agrícola son todas aquellas que han pasado por campos agrícolas y no han sido absorbidas ni por los vegetales ni por el suelo y, por esto, contienen altas concentraciones de nutrientes provenientes de fertilizantes y concentraciones de plaguicidas. Este tipo de aguas provocan la aceleración de los procesos de eutrofización al llegar a

los cuerpos de agua, además de ser causantes de contaminación tanto de flora como de fauna.

- d) **Municipales.** Este tipo de agua se caracteriza por estar compuesta por agua residual doméstica y agua residual industrial, por lo que su tratamiento o depuración es más complicado que los otros tipos, debido a que generalmente el tratamiento de las aguas residuales domésticas es distinto al de las industriales, y en ocasiones pueden antagonizar.

### **3.4. Características de las aguas residuales.**

Para conocer las posibilidades de uso de las aguas residuales, su potencial de peligrosidad, su utilidad para riego, y su capacidad de fertilidad, es preciso conocer las características de dichas aguas, y éstas varían debido a la presencia y el tipo de industrias, y a las costumbres higiénicas que siga la población urbana (Arango, 1996).

Para utilizar un determinado tipo de agua residual en el riego agrícola, se deben conocer sus propiedades físicas, químicas y biológicas, de tal forma que se comparen con los límites o rangos requeridos para aplicarse a los cultivos (Saéñz, 1997).

#### **3.4.1. Características físicas.**

Para obtener una imagen verdadera de la naturaleza de una muestra de agua residual en particular es necesario cuantificar diferentes características físicas mediante un análisis. A continuación se mencionan las características que con más frecuencia se miden en las muestras de aguas residuales.

**Sólidos totales.** Pueden encontrarse en suspensión o disueltos; pueden contener materia volátil o fija, en donde generalmente se considera a la materia volátil, como la materia orgánica y la fija a la mineral o inorgánica. Los sólidos totales se identifican al evaporar una muestra de agua a 104 °C. Los sólidos suspendidos son los sólidos que quedan en el filtro después de filtrar la muestra. Los sólidos disueltos son los presentes en el líquido filtrado de la determinación anterior y se reconocen al evaporar ésta a 104 °C. Los sólidos fijos o inorgánicos, se determinan al quemar los sólidos totales suspendidos o disueltos a una temperatura de 550 °C, y los sólidos volátiles inorgánicos se calculan sacando la diferencia de peso entre los sólidos fijos y los suspendidos. Al hablar de sólidos suspendidos existe una diferencia entre los sólidos que se sedimentan y los no sedimentables, calculándose el valor de los sólidos suspendidos totales por la suma de ambos (Crites y Tchobanoglous, 2000; Tebbutt, 2002).

**Temperatura.** La temperatura de las aguas residuales oscila entre 10 y 20 °C, favoreciendo el desarrollo de microorganismos y además realiza una acción amortiguadora frente a la temperatura ambiente, tanto en verano como en invierno (Metcalf y Eddy, 1996; Ramalho, 1996).

**Color.** Es indicador de la concentración y composición de las aguas contaminadas y varía de gris al negro por los procesos de descomposición. En la medida que éste sea más intenso, la capacidad de absorción de energía solar es mayor, y ello repercute en una ligera elevación de la temperatura del suelo (Crites y Tchobanoglous, 2000; Seoáñez y Angulo, 1999).

**Olor.** Es causado por la descomposición de la materia orgánica, y se debe principalmente al ácido sulfhídrico, al xindol, a los mercaptanos y otras sustancias volátiles (Crites y Tchobanoglous, 2000; Seoáñez y Angulo, 1999).

**Turbiedad.** La turbiedad es proporcional a la cantidad de materia suspendida contenida en las aguas residuales, por lo que a mayor turbidez, mayor contenido de partículas en suspensión (Metcalf y Eddy, 1996; Tebbutt, 2002).

**Conductividad.** Es proporcional al contenido de materia disuelta o iones presentes, por lo que puede asegurarse que un agua residual de origen industrial presentará una mayor conducción de la corriente eléctrica que las otras aguas de diferente origen (Crites y Tchobanoglous, 2000; Seoáñez y Angulo, 1999).

**Densidad.** Se define la densidad de un agua residual como su masa por unidad de volumen, expresada en  $\text{kg/m}^3$ . Es una característica física importante dado que de ella depende la potencial formación de corrientes de densidad de fangos de sedimentación y otras instalaciones de tratamiento (Metcalf y Eddy, 1996; Seoáñez y Angulo, 1999).

### 3.4.2. Características Químicas.

Según Crites y Tchobanoglous (2000), las características químicas tienden a ser más específicas en su naturaleza que algunas características físicas y por eso más útiles para evaluar las propiedades de una muestra de agua residual. En este punto se establecen las definiciones de las principales características químicas.

**Proteínas.** Los elementos comunes a todas las proteínas son el carbono, el hidrógeno y el oxígeno. Aunque como característica particular, contienen un alto contenido de nitrógeno (aproximadamente 16%), y en algunos casos azufre, hierro

y fósforo. Las principales fuentes de nitrógeno responsables de los olores fétidos, debidos a su descomposición, son la urea y las proteínas (Crites y Tchobanoglous, 2000; Ramalho, 1996).

**Carbohidratos.** Incluyen a los azúcares, almidones y celulosa, caracterizados por estar formados a base de carbono, hidrógeno y oxígeno. La celulosa es el carbohidrato más importante encontrado en un desecho líquido, debido a su gran resistencia de biodegradación (Crites y Tchobanoglous, 2000; Seoáñez y Angulo, 1999).

**Grasas y aceites.** Estos compuestos son ésteres de alcoholes o gliceroles con ácidos grasos. Los glicéridos de ácidos grasos que son líquidos a temperatura ambiente, se conocen como aceites, mientras que los sólidos se conocen como grasas. Ambos son químicamente similares, estando formados por carbono, hidrógeno y oxígeno. La grasa es uno de los compuestos orgánicos presentes en las aguas residuales más difíciles de biodegradar. En general, dentro del término de grasas y aceites se incluyen todas aquellas sustancias solubles en hexano (Crites y Tchobanoglous, 2000; Metcalf y Eddy, 1996)

**Agentes tensoactivos.** Son sustancias capaces de disminuir la tensión superficial del agua, como es el caso de los detergentes, los cuales contienen moléculas orgánicas grandes, ligeramente solubles en agua, provocando la formación de espuma, la cual causa serios problemas en las plantas de tratamientos de aguas residuales, siendo de difícil biodegradación debido a que en su composición se encuentran constituyentes a base de fosfatos, que ocasionan el aceleramiento de los procesos de eutrofización natural en los cuerpos de agua (Crites y Tchobanoglous, 2000; Tebbutt, 2002).

**Fenoles.** Los fenoles son causa de olores ofensivos en los residuos líquidos, provocando problemas de olor en los abastecimientos de agua potable (Tebbutt, 2002).

**Compuestos orgánicos volátiles.** Son compuestos que tienen un punto de ebullición por debajo de los 100 °C, y/o una presión de vapor mayor a 1 mm de mercurio (Hg) a 25 °C (Metcalf y Eddy, 1996; Tebbutt, 2002).

**Demanda bioquímica de oxígeno.** Es el parámetro de contaminación orgánica más ampliamente empleado y se define como la medición del oxígeno disuelto que consumen los microorganismos en el proceso de oxidación bioquímica de la materia orgánica (Tebbutt, 2002).

**Demanda química de oxígeno.** Se emplea para medir el contenido de materia orgánica tanto de las aguas naturales como de las residuales (Tebbutt, 2002).

**Potencial de Hidrógeno (pH).** Indica la concentración de iones hidrógeno de una muestra de agua. El promedio del pH adecuado para la existencia de gran parte de la vida acuática fluctúa entre 6 y 7. De forma general puede estimarse que las aguas de pH superior a 7 (alcalinas) son de origen doméstico y aquellas cuyo valor de pH es inferior a 7 (ácidas) son de origen industrial (Crites y Tchobanoglous, 2000; Seoáñez y Angulo, 1999).

**Cloruros.** Debido a que los métodos tradicionales de tratamiento no eliminan grandes cantidades de cloruros, las concentraciones de estos aniones indican que un cuerpo de agua está siendo usado para el almacenamiento de desechos (Crites y Tchobanoglous, 2000; Seoáñez y Angulo, 1999).

**Alcalinidad.** La alcalinidad en el agua residual se debe a la alta presencia de hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos de elementos tales como el calcio, magnesio, sodio, potasio o amoníaco (Crites y Tchobanoglous, 2000).

**Nitrógeno.** Es uno de los principales nutrientes en los cuerpos de aguas residuales. El nitrógeno presente en el agua residual se encuentra principalmente en forma de urea y materia orgánica. La descomposición por las bacterias cambia fácilmente estas formas de amoníaco a nitritos y nitratos. El predominio del nitrógeno de nitrato indica que el agua residual se ha estabilizado con respecto a la demanda de oxígeno. El nitrógeno amoniacal existe en solución acuosa, ya sea como amonio o como amoníaco, dependiendo ello del pH del agua. El nitrógeno de nitrito tiene relativamente poca importancia en los estudios sobre aguas residuales ya que es inestable y se oxida fácilmente al estado de nitrato (Tebbutt, 2002 ).

**Fósforo.** Al igual que el nitrógeno se considera como uno de los nutrientes más importantes en un cuerpo de agua residual. La forma primordial en que se encuentra es la de ortofosfatos (Tebbutt, 2002).

**Azufre.** Es indispensable para la síntesis de algunas proteínas, encontrándose en las aguas residuales en forma de sulfatos, los cuales son reducidos químicamente por las bacterias a sulfuros y ácido sulfhídrico, ocasionando corrosión en los sistemas de conducción (Tebbutt, 2002).

**Compuestos tóxicos.** La toxicidad de ciertos cationes es de gran importancia en el tratamiento de las aguas residuales, ya que pueden ser tóxicos para los microorganismos y al mismo ser humano, y hacer imposible el tratamiento biológico de las aguas. Entre los principales se pueden mencionar a los llamados

metales pesados, como el plomo, arsénico, cromo, mercurio, cadmio, cobre, plata. Algunos aniones tóxicos como los cianuros y cromatos, son característicos en las aguas residuales industriales (Metcalf y Eddy, 1996; Ramalho, 1996).

**Gases.** Existen gases que se encuentran normalmente en las aguas residuales, como el nitrógeno, oxígeno, bióxido de carbono, sulfuro de hidrógeno y metano. Los últimos tres se originan por la descomposición de la materia orgánica presente en el agua residual. El ennegrecimiento de las aguas de desecho se debe a la presencia de sulfuro de hidrógeno que se combina con el hierro presente formando sulfuro ferroso. El principal subproducto de la descomposición de las aguas residuales es el metano, el cual es un hidrocarburo combustible inoloro e incoloro (Crites y Tchobanoglous, 2000).

### **3.4.3. Características Biológicas.**

Los principales grupos de organismos que se encuentran en las aguas residuales, incluyen microorganismos como bacterias, hongos, protozoos, algas, además de helechos, musgos y hepáticas. Como animales se encuentran vertebrados e invertebrados. Los virus, también se presentan en las aguas residuales.

**Microorganismos.** Las bacterias se utilizan como indicadores de contaminación producida por vertidos de origen humano. Los protozoos son las amibas, los flagelados y los ciliados fijos y libres que se alimentan de bacterias y otros microorganismos, y son básicos en los procesos de tratamientos de agua, ya que mantienen el equilibrio entre los distintos grupos de microorganismos. Las algas pueden reproducirse rápidamente, cuando las condiciones son favorables, y

cubrir totalmente los embalses de agua, presentándose la eutrofización. La presencia de algas, afecta el valor del agua de suministro, ya que pueden causar problemas de olor y sabor (Crites y Tchobanoglus, 2000; Metcalf y Eddy, 1996; Ramalho, 1996).

**Virus.** Los virus presentes en las aguas residuales son un peligro importante para la salud pública. Se sabe con certeza que algunos virus viven hasta 41 días en el agua residual a 20 °C y durante 6 días en agua normal (Tebbutt, 2002).

**Plantas y animales.** Las plantas y animales varían en tamaño, desde rotíferos microscópicos y gusanos, hasta crustáceos macroscópicos (Crites y Tchobanoglous, 2000).

**Organismos coliformes.** El tracto intestinal del ser humano contiene innumerables bacterias en forma de bastoncillo conocidas como organismos coliformes. Estos organismos son útiles para destruir la materia orgánica en los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales. La presencia de organismos coliformes, en el agua residual, se interpreta como una indicación de la presencia de otro tipo de organismos patógenos que son difíciles de aislar. Las bacterias coliformes incluyen los géneros *Escherichia* y *Enterobacter* (Crites y Tchobanoglous, 2000; Tebbutt, 2002).

### **3.5. Criterios y normas de calidad de las aguas residuales.**

Desde finales de los años 60's del siglo pasado, se iniciaron estudios en el uso de las aguas residuales para el riego agrícola, los cuales continúan en la actualidad. En base a esos estudios se han establecido criterios para normar su aplicación y, según la calidad de estas aguas, ver cuáles cultivos son más factibles

de producir, así se tiene que desde el año de 1970, la Secretaría de Recursos Hidráulicos, a través de la Comisión Hidrológica de la Cuenca del Valle de México, propuso un reglamento para el riego de cultivos con aguas residuales, que fue publicado en el Diario Oficial de la Federación, en el mes de marzo de 1973 y con una aplicación para todo el país. Dicho reglamento indica que pueden regarse con aguas residuales sedimentadas, cultivos como el maíz, frijol, trigo, cebada, remolacha, coliflor, espárragos, papa, calabaza, chayote, soya, cártamo y ajonjolí. En el caso de los árboles frutales como cítricos, plátano, nogal, aguacate, mango y membrillo, siempre y cuando el riego se suspenda por lo menos un mes antes de la cosecha. Para las flores y plantas ornamentales de invernadero también se recomienda que pueden ser regadas con este tipo de aguas. El reglamento también indica que las aguas residuales pueden usarse en cultivos forrajeros para alimentación del ganado lechero, como alfalfa, pastos, avena, sorgo, etc., siempre y cuando sea obligatoria la pasteurización de la leche. Por otra parte, los cultivos que no deben ser regados con aguas residuales son col, zanahoria, lechuga, apio, ajo, jitomate, berro, perejil, cilantro, espinacas y aquellos que se dediquen a la producción de semillas (Arango, 1996; SARH, 1994).

En el tabla 1, se presentan los límites máximos permisibles de diversos parámetros físicos y químicos que deben tener las aguas residuales para que se puedan utilizar para el riego agrícola, según la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, que se publicó el 6 de enero de 1997, en el Diario Oficial de la Federación. La Norma Oficial Mexicana, indica que los contaminantes básicos son aquellos compuestos o parámetros que pueden ser removidos o estabilizados

mediante procesos convencionales. En lo que corresponde a esta Norma Oficial Mexicana, considera que los contaminantes patógenos y parasitarios son los microorganismos, quistes y huevos de parásitos que pueden estar presentes en las aguas residuales y que representan un riesgo a la salud humana, flora o fauna. Por otra parte, en esta Norma Oficial Mexicana sólo se consideran los coliformes fecales medidos como NMP o UFC/100 ml (número más probable o unidades formadoras de colonias por cada 100 mililitros) y los huevos de helminto medidos como h/l (huevos por litro).

### **3.6. Efecto del riego con aguas residuales sobre el suelo y en las plantas cultivadas.**

#### **3.6.1. Efecto sobre el suelo.**

En los suelos, el riego con aguas residuales, aporta una gran cantidad de macro y micronutrientes, lo que evita la necesidad de añadir fertilizantes, pero además puede provocar problemas de salinización o sodisación cuando el drenaje no es bueno; por otra parte, el riego adiciona materia orgánica que, debido a sus características, tiene la propiedad de mejorar la estructura del suelo, pero el exceso de materia orgánica implica un crecimiento desmedido de organismos que la degradan, lo que redundará en una disminución del oxígeno para el desarrollo de las plantas. También, la alta concentración de sólidos suspendidos contenidos en las aguas residuales, provoca que al ser aplicadas al suelo, se tapen los poros del mismo, lo que imposibilita la aeración de éste, la infiltración del agua y por

Tabla 1. Límites máximos permisibles de los parámetros de contaminantes para las aguas residuales que se dispongan para el riego agrícola (Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996).

PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS	NIVELES MÁXIMOS PERMISIBLES
Potencial de Hidrógeno (pH)	6.5 a 8.5
Conductividad eléctrica (mmhos/cm)	2000
Aluminio (mg/l)	0.20
Antimonio (mg/l)	0.10
Arsénico (mg/l)	0.10
Boro (mg/l)	0.75
Cadmio (mg/l)	0.01
Cianuro (mg/l)	0.02
Cobre (mg/l)	0.20
Cromo (mg/l)	0.01
Hierro (mg/l)	5.0
Fluoruros (mg/l)	1.0
Manganeso (mg/l)	0.02
Níquel (mg/l)	0.05
Plomo (mg/l)	0.5
Selenio (mg/l)	0.02
Zinc (mg/l)	2.0

consiguiente el desarrollo de las plantas. Este mismo efecto, también, es provocado por las grasas y aceites debido a la película que producen en la superficie del suelo (Cruz, 1997; SARH, 1994).

Las aguas residuales proporcionan a los suelos ligeros cohesión, ayudando así a retener humedad, y a los suelos pesados les proporcionan una estructura que tienden a mejorar el drenaje con lo que se evita en cierto nivel el encharcamiento en ese tipo de suelos (Cuenca, 2000; Durán y Hernández, 1998).

### **3.6.2. Efecto en las plantas cultivadas.**

Se reporta un efecto benéfico de las aguas residuales usadas para riego en los rendimientos de muchas plantas cultivadas, esto obedece al alto contenido de materia orgánica y elementos nutritivos que transportan dichas aguas y que se depositan en suelos empobrecidos volviéndolos fértiles. Pero se ha logrado constatar que existe una disminución en rendimientos de alfalfa, jitomate, frijol y otros cultivos, por ejemplo, se observó una disminución en el número de cortes de alfalfa en suelos regados frecuentemente con aguas residuales, atribuyendo esto a la aparición de espumas de detergentes, a problemas de salinidad y toxicidad de contaminantes que se descargan en los suelos agrícolas (Cuenca, 2000; Durán y Hernández, 1998).

Si el vertido de las aguas residuales es intenso y prolongado y se satura el suelo durante un largo período de tiempo, se presentan condiciones anaerobias y aparecen fenómenos de oxidación incompleta y producción de sustancias a veces tóxicas, que se traducen en asfixia de las raíces, lo que a su vez provoca marchitez de la planta (Palacios, 2002). Además de lo anterior, al realizarse las

fermentaciones se liberan sustancias como etileno, capaces de influir negativamente sobre la germinación y el crecimiento de las raíces (Avilés, 2000; Durán y Hernández, 1998).

No obstante las ventajas del uso de aguas residuales en la agricultura, en la actualidad debido a la industrialización, principalmente, la composición físicoquímica y biológica de las aguas residuales en los últimos años ha presentado cambios o degradación en su calidad con fines de riego. Esto se debe a que dichas industrias descargan sus desechos al drenaje y contaminan las aguas con gran cantidad de compuestos tóxicos y nocivos (Durán y Hernández, 1998).

### **3.7. Contaminación del agua por metales pesados.**

En México, un aspecto de gran importancia es el alto porcentaje de aguas residuales que se utilizan para el riego agrícola, las cuales provienen de las zonas urbanas e industriales, principalmente. En la mayoría de los casos, las aguas no son tratadas, por lo que provocan dispersión de contaminantes tóxicos para todos los seres vivos. Dentro de este grupo son muy abundantes los metales pesados, los cuales contaminan el ambiente por sus características de bioconcentración y bioacumulación en los ecosistemas. Los metales más tóxicos, persistentes y abundantes en el ambiente son el plomo, cadmio, cromo, arsénico y mercurio; se conoce que estos elementos se concentran en los organismos vivos, permaneciendo largo tiempo en ellos, y se comportan como venenos acumulativos (Avilés, 2000; Durán y Hernández, 1998).

Los metales pesados se pueden definir como elementos químicos que se presentan en bajas concentraciones y que tienen una densidad igual o superior a los 5 g/cm<sup>3</sup> (cinco veces la densidad del agua) cuando están en forma elemental o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalinos-térreos) (Avilés, 2000; Durán y Hernández, 1998; Cala, 1995).

Según Avilés (2000) y Cala (1995), dentro de los metales pesados se presentan dos grupos:

- a) Oligoelementos o micronutrientes, que son requeridos en pequeñas cantidades o cantidades traza por las plantas y animales y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital, y pasado este umbral se vuelven tóxicos. Dentro de este grupo están cobre, molibdeno, manganeso, níquel, selenio, boro, cobalto, hierro y zinc.
- b) Metales pesados sin función biológica conocida, cuya presencia en determinadas cantidades en los seres vivos llevan a disfunciones en el funcionamiento de sus organismos, los cuales resultan altamente tóxicos y tienen la propiedad de acumularse en los organismos vivos, como son el plomo, mercurio, cadmio, arsénico, cromo, bismuto y estroncio.

La concentración de los metales pesados en el agua residual se debe principalmente a su origen, ya que si es doméstica la concentración de metales es baja, y si es de origen industrial la concentración será mayor y dependerá del tipo de industria (Durán y Hernández, 1998; Palacios, 2002).

Cruz (1997) y Palacios (2002), indican que las principales fuentes contaminantes de metales pesados son las siguientes:

- a) Fuentes naturales, tales como mineralizaciones superficiales, actividad volcánica, combustiones e incendios forestales.
- b) El uso agrícola de sprays o mejoradores de suelos, que contienen metales.
- c) El uso de aguas desechadas por minas e industrias.
- d) Emisiones de fuentes industriales como esmaltadoras metálicas y refinерías.
- e) Emisiones de aceite quemado, plantas generadoras de electricidad o incineradoras.
- f) Uso indiscriminado de agroquímicos en la agricultura.
- g) Emisión de gases por parte de vehículos.

### **3.7.1. Generalidades de los metales pesados.**

A continuación se mencionan algunas características de los metales pesados más comunes que se presentan en las aguas residuales que son empleadas en el riego agrícola.

#### **Plomo (Pb).**

El plomo es uno de primeros metales conocidos, se encuentra ampliamente distribuido por todo el planeta en forma de galena, que es sulfuro de plomo. Ocupa el lugar 36 en abundancia entre los elementos de la corteza terrestre (Avilés, 2000). Es un elemento metálico, de color gris azulado. Su número atómico es 82 y su masa atómica de 207.2 uma. Es un metal blando, maleable y dúctil. Presenta una baja resistencia a la tracción y es un mal conductor de electricidad. Tiene un

punto de fusión de 328 °C, un punto de ebullición de 1740 °C y una densidad de 11.34 g/cm<sup>3</sup> (Avilés, 2000; Durán y Hernández, 1998; García, 1993).

El plomo reacciona con el ácido nítrico, pero a temperatura ambiente apenas le afectan los ácidos sulfúrico y clorhídrico. En presencia de aire, reacciona lentamente con el agua formando hidróxido de plomo, que es ligeramente soluble. Los compuestos solubles de plomo son venenosos. Aunque normalmente el agua contiene sales que forman una capa en las tuberías que impide la formación de hidróxido de plomo soluble, no es aconsejable emplear plomo en la tuberías de agua potable (García, 1993).

Se emplea en grandes cantidades en la fabricación de baterías y en el revestimiento de cables eléctricos. También se utiliza en los aparatos de rayos X. Debido a su elevada densidad y propiedades nucleares, se usa como blindaje protector de materiales radiactivos (García, 1993).

El plomo bajo las formas de diversos compuestos es usado en numerosos tipos de industrias y actividades, sobre todo en pinturas, pigmentos, barnices, como desecante de aceites, para elaborar insecticidas, como capa protectora de estructuras de hierro y acero, además se encuentra en depósitos de chatarra, combustibles, plantas petroquímicas, efluentes de minas, actividades de incineración y fundición (Avilés, 2000; García, 1993).

El plomo es tóxico para las plantas, animales y humano, con el riesgo de la bioacumulación que representa un peligro. El plomo se introduce a los cuerpos naturales del agua vía atmosférica y a través de descargas industriales. Penetra en las plantas por las raíces cuando se encuentra en el suelo y por las hojas cuando se encuentra en la atmósfera (Avilés, 2000; Durán y Hernández, 1998).

El plomo ingerido por el humano en cualquiera de sus formas es altamente tóxico. Sus efectos suelen sentirse después de haberse acumulado en el organismo durante un periodo de tiempo. Los síntomas de envenenamiento son anemia, debilidad, estreñimiento y parálisis en muñecas y tobillos. Las escamas de pinturas con base de plomo y los juguetes fabricados con compuestos de plomo están considerados como muy peligrosos para los niños, para los que el plomo resulta especialmente dañino, incluso a niveles que antes se consideraban inocuos. El plomo puede producir disminución de la inteligencia, retraso en el desarrollo motor, deterioro de la memoria y problemas de audición y equilibrio. En adultos, el plomo puede aumentar la presión sanguínea (Avilés, 2000; Cruz, 1997).

#### **Cromo (Cr).**

El cromo fue descubierto en 1797 por el químico francés Louis Nicolas Vauquelin, quién lo denominó cromo debido a los múltiples colores de sus compuestos. Es un metal que se encuentra en la naturaleza en forma de sales y de óxido. Su mineral más importante es la cromita ( $\text{FeCr}_2\text{O}_4$ ) cuyos yacimientos más importantes están en la zona de los Urales, República Sudafricana, Zimbabwe, Turquía y Filipinas. Está distribuido por toda la corteza terrestre ocupando el lugar 21 en abundancia entre los elementos (Cruz, 1997). Es un elemento metálico de color gris, que puede presentar un intenso brillo, es muy duro y resistente químicamente. Su número atómico es 24, su masa atómica es 51.996 uma, y su densidad es de  $7.2 \text{ g/cm}^3$ . Tiene un punto de fusión de  $1857 \text{ }^\circ\text{C}$  y un punto de ebullición de  $2672 \text{ }^\circ\text{C}$ . Se disuelve en los ácidos clorhídrico y sulfúrico, pero resiste al ácido nítrico (Durán y Hernández, 1998; García, 1993).

Más de la mitad de la producción total de cromo se destina a productos metálicos, y una tercera parte es empleada en refractantes. El cromo está presente en diversos catalizadores importantes. Principalmente se utiliza en la creación de aleaciones de hierro, níquel o cobalto. Al añadir el cromo se consigue aumentar la dureza y la resistencia a la corrosión de la aleación. En los aceros inoxidables constituye el 10% de la composición final. Debido a su dureza, la aleación de cromo, cobalto y wolframio se emplea para herramientas de corte rápido de metales. Al depositarse electrolíticamente, el cromo proporciona un acabado brillante y resistente a la corrosión. Debido a ello se emplea a gran escala en el acabado de vehículos. El amplio uso de la cromita como refractante se debe a su alto punto de fusión, su moderada dilatación térmica y la estabilidad de su estructura cristalina. También tiene utilización en otras actividades como la industria química y en la producción de pigmentos, vidrio y cemento, además es un importante agente químico en el proceso del curtido de pieles (Cruz, 1997; Durán y Hernández, 1998). El cromo puede presentarse, en el ambiente, en los estados de oxidación de Cr (III) y Cr (VI). El estado (VI) (cromatos y dicromatos) es fuertemente oxidante, muy móvil y el más tóxico como anión, mientras que el Cr(III) es relativamente insoluble y se adsorbe fuertemente sobre las superficies y es menos tóxico. En un medio alcalino y en condiciones aerobias, puede ocurrir la oxidación de Cr (III) a Cr (VI) (Armienta *et al.*, 2001). Esta oxidación es más intensa a temperaturas más altas (Gardea *et al.*, 2004).

### **Cadmio (Cd).**

El cadmio fue descubierto en 1817, por el químico alemán Friedrich Stromeyer, en las incrustaciones de los hornos de zinc. El cadmio ocupa el lugar 65 en abundancia entre los elementos de la corteza terrestre. Este elemento sólo existe como componente principal de un mineral llamado greenockita (sulfuro de cadmio), que se encuentra muy raramente. Casi todo el cadmio industrial se obtiene como subproducto en el refinado de los minerales de zinc. Para separar el cadmio del zinc se utiliza la destilación fraccionada o la electrólisis. Se encuentra en casi todos los organismos en pequeñas cantidades. La amplia utilización del cadmio en la industria hace que sea uno de los más frecuentes contaminantes del ambiente (Avilés, 2000; Durán y Hernández, 1998). Es un elemento metálico blanco plateado que es muy dúctil y maleable. Su número atómico es 48, la masa atómica es 112.4 uma, tiene una densidad de  $8.64 \text{ g/cm}^3$ . Presenta un punto de fusión de  $321 \text{ }^\circ\text{C}$ , un punto de ebullición de  $765 \text{ }^\circ\text{C}$ . Al calentarlo arde en el aire con una luz brillante, formando óxido de cadmio (Avilés, 2000; García, 1993).

Como el cadmio es altamente resistente a la corrosión, se emplea en galvanoplastia, especialmente en las industrias de partes para automóviles y aviones, electrónica, y maquinaria industrial. Forma aleaciones que se funden fácilmente con cobre, níquel, oro, plata, bismuto y aluminio, que se usan para recubrir otros materiales. Se utiliza también en la elaboración de lámparas fluorescentes, semiconductores, fotoceldas y joyería. Se usa en la formulación de insecticidas, fungicidas y nematocidas (Avilés, 2000; Durán y Hernández, 1998).

El cadmio desciende el punto de fusión de los metales con los que forma aleaciones; se usa con plomo, estaño y bismuto en la fabricación de extintores,

alarmas de incendios y de fusibles eléctricos. También se utiliza una aleación de cadmio, plomo y cinc para soldar el hierro. Las sales de cadmio se usan en fotografía y en la fabricación de fuegos artificiales, caucho, pinturas fluorescentes, vidrio y porcelana. El cadmio se ha utilizado como material de control o protección en las plantas de energía, debido a su capacidad para absorber neutrones de baja energía (Avilés, 2000; Durán y Hernández, 1998).

El cadmio es un metal pesado que produce efectos tóxicos en los organismos vivos, aun en concentraciones muy pequeñas que se encuentran en el aire, agua, suelo y alimentos (Cruz, 1997).

La fuente más importante de contaminación de cadmio al ambiente es la quema de combustibles, como carbón o petróleo, o la incineración de basura doméstica común. El cadmio también contamina al aire cuando se funden rocas para extraer zinc, cobre o plomo (Durán y Hernández, 1998).

La exposición al cadmio en los humanos se produce generalmente a través de dos fuentes principales: la primera es la vía oral (por agua o consumo de alimentos contaminados). La segunda vía es por inhalación (las personas fumadoras son las más expuestas al cadmio porque los cigarrillos lo contienen). El cadmio entra al torrente sanguíneo por absorción en el estómago o en los intestinos, luego de la ingestión de comida o agua, o por absorción en los pulmones después de la inhalación. Personas que han estado expuestas al cadmio, presentan problemas de salud como enfermedades renales, daños en el sistema óseo, sistema inmunológico, sistema nervioso y en la sangre, también ocasiona problemas en el hígado y en los pulmones, causando cáncer (Marcano et al, 1999).

### **Arsénico (As).**

El arsénico se conoce desde la antigüedad, ocupa el lugar 52 en abundancia entre los elementos naturales de la corteza terrestre. El elemento puro no es muy común en la naturaleza, pero se puede aislar fácilmente calentando un mineral común llamado arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ) (García, 1993). Es un elemento semimetálico, ya que químicamente se encuentra entre los metales y los no metales. Tiene un número atómico 33, su masa atómica es 74.92 uma. Cuando se calienta se sublima pasando directamente de sólido a gas a  $613\text{ }^\circ\text{C}$ . Su punto de fusión es de  $817\text{ }^\circ\text{C}$ . Una de las formas más comunes del arsénico es de color gris de apariencia metálica y tiene una densidad de  $5.7\text{ g/cm}^3$ . Existe también una forma amarilla no metálica con una densidad de  $2.0\text{ g/cm}^3$ . El arsénico se quema en presencia de oxígeno, resiste el ataque de los ácidos, bases y agua. También se combina con el azufre y con algunos metales dando arseniuros (García, 1993).

El arsénico se usa en grandes cantidades en la fabricación de vidrio para eliminar el color verde causado por las impurezas de compuestos de hierro. Una carga típica en un horno de vidrio contiene un 0,5 % de trióxido de arsénico. A veces se añade al plomo para endurecerlo y también se usa en la fabricación de gases venenosos militares como la lewisita y la adamsita. Hasta la introducción de la penicilina, el arsénico era muy importante en el tratamiento de la sífilis. En otros usos médicos ha sido desplazado por las sulfamidas o los antibióticos. Los arseniatos de plomo y calcio se usan frecuentemente como insecticidas. Ciertos compuestos de arsénico, como el arseniuro de galio ( $\text{GaAs}$ ), se utilizan como semiconductores. El  $\text{GaAs}$  se usa también como láser. El disulfuro de arsénico

(As<sub>2</sub>S<sub>2</sub>), conocido también como oropimente rojo y rubí arsénico, se usa como pigmento en la fabricación de fuegos artificiales y pinturas (Sainz et al., 2004).

El arsénico es ampliamente usado en la agricultura de algunos países, en insecticidas y herbicidas. En México, no tiene uso autorizado como plaguicida. (García, 1993).

El arsénico es venenoso para el humano en dosis significativamente mayores a 65 mg, y el envenenamiento puede producirse por una única dosis alta, pero también por acumulación progresiva de pequeñas dosis repetidas, como, por ejemplo, la inhalación de gases o polvo de arsénico. Por otra parte, algunas personas, en concreto los que ingieren arsénico en las montañas del sur de Austria, han descubierto que el arsénico tiene un efecto tónico, y han desarrollado cierta tolerancia hacia él que les permite ingerir cada día una cantidad que normalmente sería una dosis fatal. Sin embargo, esta tolerancia no les protege contra la misma cantidad de arsénico administrada hipodérmicamente (Sainz et al., 2004).

### **3.7.2. Efectos tóxicos de los metales pesados en las plantas.**

Cruz (1997), menciona que la irrigación con aguas residuales puede aumentar la cantidad de sustancias tóxicas en el ambiente y en los vegetales, y entre estas sustancias están los metales pesados, cuya concentración en las plantas depende de:

- a) La concentración de los metales en el agua.
- b) La especie vegetal.
- c) La periodicidad de aplicación de riegos con aguas contaminadas.

d) Tipo de riego.

A continuación se mencionan algunos de los efectos tóxicos que provocan los metales pesados en las plantas:

**Plomo (Pb).**

El plomo está considerado como un agente contaminante, ya que no tiene ninguna función específica en los organismos vivos. En los vegetales, la absorción de plomo se hace a través de las raíces y de las hojas. Una vez asimilado por la planta, el plomo es retenido por los cloroplastos y mitocondrias de las células, llegando a interferir con el metabolismo del hierro, además se concentra en la membrana del núcleo durante la mitosis y reduce la división celular. Entre los efectos morfológicos que ocasiona el plomo, se conoce que reduce el crecimiento de las raíces, las hojas tienen un color verde oscuro, además de un marchitamiento en hojas viejas, poco follaje y causa una adelantada senectud en la planta recién nacida (Cruz, 1997; Durán y Hernández, 1998).

**Cromo (Cr).**

El cromo es un elemento muy tóxico para las plantas, aún en pequeñas concentraciones provoca clorosis en hojas nuevas y crecimiento deficiente de raíces (Cruz, 1997; Durán y Hernández, 1998), esto es debido a que el cromo sufre un proceso llamado mutilación que consiste en que forma un compuesto organometalico (un enlace carbono-metal) el cual es liposoluble, es decir puede atravesar fácilmente las membranas biológicas (Armienta *et al.*, 2001; Gardea *et al.*, 2004). Por otra parte, se ha encontrado que el cromo afecta a los protoplastos e

inhibe la germinación de las semillas y además ocasiona deficiencia de hierro en algunos cultivos y se bioacumula en las hojas (Durán y Hernández, 1998). También disminuye el índice mitótico e induce aberraciones cromosómicas y la formación de micronúcleos (Zhang y Xiao, 1998).

### **Cadmio (Cd).**

El cadmio es uno de los elementos más tóxicos para las plantas, es muy persistente y tóxico aún en concentraciones muy pequeñas. Las plantas retienen el cadmio en sus tejidos, presentándose la mayor concentración en las raíces que en las partes aéreas de la planta. Los efectos fitotóxicos que ocasiona el cadmio, son una clorosis que incluye una reducción en el contenido de clorofila, marchitez y en ocasiones necrosis, además de raíces oscuras y cortas (Marcano *et al.*, 1999). Este tipo de efectos se debe a que a altas concentraciones de cadmio inhiben la fotosíntesis y la fijación de bióxido de carbono (Cruz, 1997; Durán y Hernández, 1998). También se ha establecido que el efecto tóxico del cadmio se refleja en un bloqueo en el crecimiento de las raíces y tallos en varias especies (Chakravarty y Srivastava, 1992)

A nivel celular, el cadmio es un metal antagonista del calcio, este último indispensable para la formación del huso mitótico, por lo que competitivamente, al superar la concentración de cadmio a la del calcio intracelular, se produce el bloqueo en la migración de los cromosomas metafásicos (Marcano *et al.*, 1999).

### **Arsénico (As).**

Los síntomas de toxicidad que ocasiona el arsénico en los vegetales son la presencia de manchas necróticas de un rojo oscuro en hojas viejas, también provoca un oscurecimiento o amarillamiento en las raíces y en general provoca un decaimiento de las plantas (Cruz, 1991; Durán y Hernández, 1998).

### **3.8. División celular en células meristemáticas.**

La división celular en células meristemáticas es llamada mitosis, la cual es un fenómeno en donde el material genético se divide en partes iguales entre las células hijas. Este proceso es sólo la parte final de un cambio subyacente que ha ocurrido en el plano bioquímico macromolecular en las restantes etapas del ciclo celular, particularmente en la etapa S (Griffiths *et al.*, 2000).

En los vegetales, la mitosis ocurre en tejidos específicos como son los meristemos que se encuentran en los ápices de raíz y tallo y en el cambium vascular (Curtis, 1986).

La mitosis para su estudio se divide en cinco fases nombradas: profase, prometafase, metafase, anafase y telofase. La profase es usualmente la más larga, seguida de la telofase, mientras que la metafase y anafase son etapas cortas y rápidas, y la prometafase es de muy breve duración (Griffiths *et al.*, 2000; Klug y Cummings, 1999).

La profase (figura 1) comienza cuando los cromosomas aparecen como delicados filamentos extendidos dentro de la esfera nuclear (Griffiths *et al.*, 2000). Cada cromosoma está compuesto por dos filamentos denominados cromátidas, que se encuentran asociados estrechamente a todo lo largo, a medida que la

profase avanza, ambas cromátidas van acortándose y engrosándose, y están unidas por el centrómero (Gardner et al, 1999). Con el aumento en espesor de los cromosomas, la región del centrómero se hace más acentuada hasta llegar a aparecer como una constricción. A medida que avanza la profase, los cromosomas tienden a acercarse al borde del núcleo, mientras simultáneamente a estos fenómenos la membrana nuclear y el nucléolo van disgregándose (Klug y Cummings, 1999). Durante la profase tiene lugar la formación del huso acromático, que se forma fuera de la envoltura nuclear. Esta etapa termina con la disgregación de la membrana nuclear (Gardner et al, 1999; Griffiths et al, 2000; Klug y Cummings, 1999).

La prometafase es una etapa de transición entre la profase y metafase, dura muy poco tiempo y consiste en que los cromosomas se desplazan hacia el ecuador o placa ecuatorial de la célula (Griffiths et al, 2000; Klug y Cummings, 1999).

La metafase (figura 2) comienza cuando los cromosomas alcanzan el plano ecuatorial y se disponen irregularmente ocupando toda la superficie del ecuador y se "enganchan" a las fibras del huso acromático, a través de su centrómero (Gardner et al, 1999; Griffiths et al, 2000; Klug y Cummings, 1999).

En la anafase (figura 3), se lleva a cabo la separación de las cromátidas, de cada cromosoma; hacia los polos opuestos de la célula, y se denominan cromosomas hijos (Gardner et al, 1999; Griffiths et al, 2000; Klug y Cummings, 1999).

La telofase es la etapa final de la mitosis (figura 4), comienza con el final de la migración de los cromosomas hacia los polos, en donde empiezan a desenrollarse

y se hacen cada vez menos condensados y se agrupan finalmente en masas de cromatina rodeados de segmentos discontinuos de envoltura nuclear que finalmente se fusionan para formar la envoltura nuclear completa. Al final de la profase reaparecen los nucléolos a partir de los organizadores nucleolares localizados en las constricciones secundarias de los satélites de los cromosomas.

Los microtúbulos se reorganizan y reaparece el citoesqueleto y la forma propia de la célula (Gardner *et al*, 1999; Griffiths *et al*, 2000; Klug y Cummings, 1999).

Donde antes había una célula, ahora existen dos células con exactamente la misma información genética y el mismo número cromosómico (Klug y Cummings, 1999).

En el caso particular de las células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba* L.) tienen un ciclo celular con una duración total de 19.3 horas a una temperatura de 19 °C, aproximadamente, en donde la mitosis tiene una duración de dos horas, y la interfase se divide en los períodos G1 con 4.9 horas, S con 7.5 horas y G2 con 4.9 horas (figura 5) (Curtis, 1986).

### **3.9. Importancia de la evaluación genotóxica.**

Un problema muy grave que se está presentando en todos los organismos vivos, es la constante exposición a un número creciente de agentes contaminantes, lo cual ha dado lugar a un interés para desarrollar bioensayos que sirvan para detectar las posibles alteraciones en el material genético que ocasionan dichos agentes en los seres vivos, manifestación que se denomina genotoxicidad. Así, las respuestas celulares a cualquier tipo de exposición pueden

## FASES DE LA MITOSIS EN CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZ DE HABA

*(Vicia faba L.)*

Figura 1. Profase



Figura 2. Metafase



Figura 3. Anafase



Figura 4. Telofase

Fuente: Curtis, P. J. 1986.

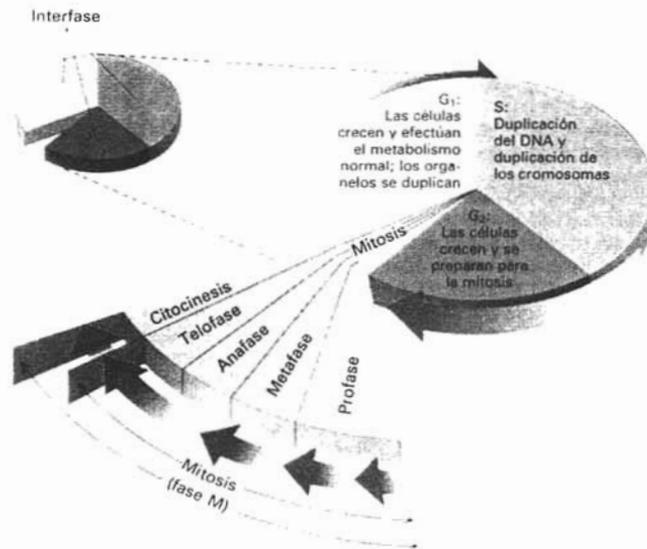


Figura 5. Ciclo celular en células meristemáticas de *Vicia faba*

Fuente: Klug, W. S. y Cummnings, M. R. 1999.

determinarse y ser evaluadas utilizando diferentes indicadores y sistemas de prueba (De Marco et al, 1986; Duan et al, 1999; Gopalan, 1999).

Los agentes genotóxicos actúan en las células, con propiedades físicas y químicas que les permiten interactuar directa o indirectamente con el DNA, y poseen, por lo tanto, una posible actividad mutagénica y carcinogénica (Sawger, 1994).

El surgimiento de los estudios genotóxicos ha permitido que en la actualidad existan más de 200 pruebas de bioensayo para evaluar y detectar la genotoxicidad de agentes contaminantes ambientales (Grover y Satwinderjeet, 1999).

Muchos trabajos han demostrado que la realización de bioensayos utilizando como sistemas de prueba a los vegetales, han resultado excelentes bioindicadores para evaluar el daño genético ocasionado por diversos tipos de agentes ambientales. Entre las plantas que más se emplean como sistema de prueba, están la cebolla (*Allium cepa* L.), la tradescantia (*Tradescantia sp.*) y el haba (*Vicia faba* L.), estas especies se han estado usando por más de 60 años en diferentes tipos de investigaciones (Fiskesjo, 1993; Kanaya et al, 1994; Rank y Nielsen, 1994). Su empleo fue inicialmente para estudiar los efectos mutagénicos de radiaciones iónicas y mutágenos químicos, pero también se ha demostrado que son excelentes indicadores para evaluar la mutagenicidad y la clastogenicidad de contaminantes ambientales, ya que son muy sensitivas a la presencia de éstos (Duan et al, 1999). Todo esto unido con la simplicidad para realizar dichos ensayos y su relativo bajo costo económico, los hacen una prueba de ensayo confiable y recomendable para un constante monitoreo ambiental, ya que constituyen una primera alerta de riesgo a la presencia de agentes potenciales

mutágenos en el agua, aire y suelo, elementos que son esenciales para la vida (Gopalan, 1999; Knasmüller et al, 1998; Miao et al, 1999; Steinkellner et al, 1998).

### **3.10. Definición e importancia de la prueba de micronúcleos.**

Un estudio que se utiliza frecuentemente para determinar el daño de los agentes contaminantes ambientales es la llamada prueba de micronúcleos, la cual se encuentra entre los indicadores que detectan rupturas a nivel de cromosomas, y es considerada una prueba sencilla, rápida, confiable, económica y de alta sensibilidad para determinar el efecto genotóxico de compuestos químicos con efecto mutagénico (Evans, 1997; Miao et al, 1999).

La prueba de micronúcleos está desarrollada en base a las rupturas de fibras de DNA producidas, o por rupturas en las fibras del huso acromático dejando a los cromosomas completos rezagados (Cotelle et al, 1999; Evans, 1997; Grover y Satwinderjeet, 1999; Ji et al, 1999).

Los micronúcleos se pueden definir como corpúsculos intracitoplasmáticos de cromatina separados del núcleo principal, que se producen por la ruptura de fragmentos acéntricos de cromosomas o bien de cromosomas completos que sufren un rezago anafásico durante la división celular, originados en forma espontánea o inducida (Chauhan et al, 1986; Evans, 1997; Ma et al, 1995; Rizzoni et al, 1987).

De Marco et al (1988), mencionan que el diámetro de los micronúcleos no debe exceder 1/3 del tamaño del núcleo principal, y se deben localizar dentro de la pared celular, en el citoplasma y alrededor del núcleo principal.

La presencia de micronúcleos se observa, principalmente, en la interfase de la siguiente generación de células (Evans, 1997; Ma et al, 1995).

Esta prueba permite estudiar y evaluar el efecto mutagénico en diversos sistemas biológicos, como en linfocitos humanos (Fenech y Crott, 2002; Müller y Rode, 2002), en células de hámster chino (Frieauff et al, 1998; Liu et al, 1998), en eritrocitos policromáticos de ratones (Ashby y Tinwell, 2001; Sudheer et al, 2003), en ratas (Robbiano et al, 1998; Trosic et al, 2002), en peces (Ateeq et al, 2002; Campana et al, 1999). Los bioensayos vegetales son extensamente usados para el estudio de efectos mutagénicos ocasionados por agentes físicos y químicos desde los inicios de los años 30's del siglo pasado (Duan et al, 1999). Con el aumento del conocimiento sobre genotoxicidad de diferentes agentes en agua, aire y suelo, se han establecido varios sistemas vegetales para detectar el daño genotóxico de contaminantes ambientales, y así se han utilizado células meristemáticas de raíz, como en *Allium cepa* (Grover y Satwinderjeet, 1999; Rank y Nielsen, 1994), *Tradescantia sp.* (Cotelle et al, 1999; Rodrigues et al, 1998; Majer et al, 2002), *Hordeum vulgare* (Joutchev et al, 2002; Zhang y Xiao, 1998), y en *Vicia faba* (Duan et al, 1999; Kanaya et al, 1994; Ma et al, 1995; Miao et al, 1999).

La prueba de micronúcleos empleando células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba* L.) como sistema biológico de detección, es de gran utilidad para mostrar y medir el potencial genotóxico de diversos agentes contaminantes presentes en el ambiente y es ampliamente usada en diferentes condiciones, ya sea in vitro e in situ (Ji et al, 1999; Ma et al, 1995). Por ejemplo, este bioensayo ha servido para determinar los efectos clastogénicos de una gran variedad de

compuestos químicos presentes en aguas residuales (Duan et al., 1999; Knasmüller et al., 1998; Miao et al., 1999; Minissi y Lombi, 1997; Steinkellner et al., 1998; Yang, 1999).

La Internacional Programme Chemical Safety (IPCS), tiene un programa para el monitoreo ambiental dentro del cual se ha establecido el Internacional Programme Plant Bioassays (IPPB) creado para el monitoreo y observación de agentes genotóxicos en un ambiente contaminado en aire, agua y suelo, utilizando la prueba de micronúcleos en células de haba (Kong y Ma, 1999; Ma et al., 1994; Ma et al., 1997).

La República Popular de China, desde 1980 ha establecido la prueba de micronúcleos como un indicador oficial de genotoxicidad en el monitoreo de aire, agua y suelos contaminados (Ji et al., 1999; Ma et al., 1997; Miao et al., 1999).

### **3.11. El haba (*Vicia faba* L.) como sistema biológico de prueba.**

Estudios realizados han demostrado que los cromosomas, presentes en las células meristemáticas, de las plantas son excelentes materiales para detectar y mostrar los cambios genéticos causados por diversos agentes contaminantes ambientales (Chauhan et al., 1986; Ma et al., 1995). Actualmente son reconocidas como excelentes indicadoras del efecto citogenético y mutagénico de agentes químicos siendo útiles para la determinación de mutágenos ambientales tanto en condiciones de laboratorio como en cuerpos de agua in situ (Maravilla, 1998).

El ensayo de genotoxicidad en plantas es una prueba muy sensible que aporta datos seguros y confiables sobre mutagénesis. El uso de sistemas genéticos de plantas ha jugado un papel importante en la identificación de nuevos

mutágenos y se les ha involucrado en el desarrollo de nuevas técnicas que posteriormente se han aplicado a otros organismos (Grant, 1994).

Un sistema de prueba vegetal muy útil para la detección de la actividad genotóxica, son las células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba* L.), ya que ofrece ventajas como ser un sistema barato, de fácil manejo, de fácil adquisición y no requiere equipo sofisticado ni condiciones estériles. Los meristemas de su raíz contienen células en diversas etapas de la mitosis, poseen un ciclo celular corto que dura aproximadamente 19.3 horas (Curtis, 1986). Presenta pocos cromosomas ( $2n = 12$ ) y muy grandes que son perfectamente visibles en el microscopio óptico, lo que los hace un material excelente para observar daños citogenéticos que producen los agentes tóxicos (Grant, 1994). Por otra parte, las células meristemáticas presentan una fracción metabólica llamada S10, que es capaz de transformar compuestos promutágenos en mutágenos, característica importante ya que muchos agentes químicos que no son mutágenos por sí mismos, requieren del metabolismo animal o vegetal para activarse y provocar daños al DNA (Gómez y Villalobos, 1997).

En años recientes, la prueba de micronúcleos en *Vicia faba* ha sido usada más frecuentemente como un indicador de clastogenicidad ocasionada por contaminantes presentes en el agua (Ma et al, 1995; Miao et al, 1999).

*Vicia faba* ha sido propuesta como un biomonitor para evaluar mutágenos ambientales en el programa de genotoxicidad de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) (Kanaya et al, 1994; Ma et al, 1995).

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **4.1. Localización geográfica del área de estudio.**

El municipio de Zumpango se localiza en la parte noreste del Estado de México, entre las coordenadas 19°43'10" y los 19°54'52" de latitud norte y 98°58'12" y los 99°11'36" de longitud oeste. Limita al norte con los municipios de Tequixquiac y Hueyoxtlá; al sur con los municipios de Teoloyucan, Cuautitlán, Nextlalpan, Jaltenco y Tecámac; al oriente con Tizayuca y Tecámac, y al poniente con Cuautitlán, Teoloyucan, Coyotepec y Huehuetoca, todos del Estado de México excepto Tizayuca que pertenece al estado de Hidalgo (figura 6). La extensión territorial del municipio es de 244.08 km<sup>2</sup>. La altitud media es de 2400 msnm. El clima es frío durante los meses de noviembre a marzo y la época en que la temperatura es cálida es de abril a octubre. La temperatura máxima es de 31 °C y la mínima de -2.3 °C, con una media anual de 14.8 °C. La precipitación pluvial anual es de 700 mm, registrándose el mayor régimen de lluvias en el mes de junio. El tipo de clima del municipio es BS1kw(w)(i)g, que se interpreta como un clima seco semiárido, con lluvias en verano (IGECEM, 2003; INEGI, 2003; Ramírez, 1999).

Zumpango se caracteriza por tener un 50% de superficie plana hacia el sur, y por el norte se presentan varios lomeríos con altitudes que varían entre 2350 y 2600 msnm (IGECEM, 2003; Ramírez, 1999).

La hidrografía del municipio está representada por la laguna de Zumpango con 2000 hectáreas de extensión, aproximadamente, además del gran canal y

canales de desagüe que son conductores de aguas negras provenientes del Valle de México (IGECEM, 2003; Ramírez, 1999).

Los principales cultivos que se producen en el municipio son maíz, alfalfa, avena, trigo, y diversas hortalizas como calabaza, chayote, chilacayote, chile y tomate de cáscara, además del nopal y el maguey. Los árboles frutales que se encuentran, aunque en superficies muy pequeñas, son durazno, manzano, granada, capulín, higuera y tejocote (IGECEM, 2003; Ramírez, 1999).

El estudio edafológico del municipio presenta un mosaico de diversos tipos de suelos, en donde la mayoría presentan una textura fina, son arcillosos, pesados, difíciles de manejar por ser plásticos y adhesivos cuando están húmedos, y duros cuando se secan, formando grietas profundas y pueden ser impermeables al agua de riego o de lluvias (IGECEM, 2003; INEGI, 2003; Ramírez, 1999).

#### **4.2. Ubicación de los sitios de muestreo.**

En el municipio de Zumpango, Estado de México, se realizó el muestreo en tres sitios diferentes, donde cada uno correspondió a un canal de riego, que pasan próximos a las tierras de cultivo, y que son afluentes de los canales que están conectados directamente a la laguna de Zumpango, la cual se está alimentando con las aguas residuales provenientes del área metropolitana de la ciudad de México. En la figura 7, se muestra la ubicación de los sitios de muestreo que se localizan al oeste de la cabecera municipal, aproximadamente a una distancia de 4 km. La distancia del sitio 1 con respecto al sitio 2 es de 600 m, y del sitio 2 con el sitio 3 es de 300 m, aproximadamente.

### **4.3. Metodología para el muestreo del agua.**

Los muestreos se efectuaron a principios del mes de mayo de 2004, cuando no hay lluvias en esa región y los diferentes cultivos son regados con las aguas residuales.

Siguiendo el método de análisis indicado por la American Public Health Association (APHA) (1996), y mencionado en la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, las muestras se tomaron directamente de los canales de riego. El muestreo fue de tipo simple, colectándose 5 litros de agua en cada muestra, de los cuales 1 litro se destino para la determinación de metales pesados y los otros 4 litros se emplearon en los diferentes tratamientos de genotoxicidad que se evaluaron. La colecta del agua se realizó a la mitad de profundidad del canal, más o menos, para tener un mínimo de turbulencia, y así evitar una mayor acumulación de partículas en suspensión como materia coloidal, arcillas, limos y gránulos de sílices. El agua se almaceno en recipientes de plástico de polietileno que fueron colocados en una hielera, a una temperatura de 4 °C, aproximadamente. La toma de muestras se realizó el mismo día en un solo punto en cada sitio de muestreo, aproximadamente entre las 7 y 8 de la mañana, hora en que la temperatura del agua es baja y así evitar una mayor velocidad de las reacciones químicas que se llevan a cabo entre las sustancias presentes en el agua. Las muestras inmediatamente se trasladaron a las instalaciones de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

#### **4.4. Sitio de la experimentación.**

La parte experimental de la evaluación genotóxica se llevara a cabo en el laboratorio de Genética Vegetal de la carrera de Ingeniería Agrícola en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

La determinación de metales pesados se realizó en el laboratorio central universitario del Departamento de Suelos de la Universidad Autónoma Chapingo, empleando un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 460, utilizando el método de emisión de flama.

#### **4.5. Material Biológico.**

El material biológico que se usó como sistema de prueba fueron células meristemáticas del ápice de raíz de haba (*Vicia faba* L.), las cuales se cultivaron en condiciones de laboratorio. Las semillas de haba que se emplearon son de la variedad "minor" que se obtuvieron en un cultivo de agricultura orgánica en las parcelas experimentales de la Universidad Autónoma Chapingo.

#### **4.6. Metodología.**

Las semillas de haba se desinfectaron, primeramente lavándolas con agua de la llave, y posteriormente en 400 ml de agua destilada se agregaron 50 ml de cloro y 10 gotas de Tween 20 y se agitaron durante 20 minutos. A continuación las semillas se dejaron remojando en un recipiente con agua destilada durante 24 horas, a temperatura ambiente y en la oscuridad, con la finalidad de que las semillas absorbieran la mayor cantidad de agua y acelerar la germinación. En seguida, las semillas se sembraron en cajas de plástico, utilizando como sustrato

vermiculita para tener una germinación uniforme y evitar la contaminación por hongos, ya que este sustrato es inerte, estéril, y tiene la propiedad de proporcionar humedad a la semilla (Kanaya *et al.*, 1994; Minissi *et al.*, 1998).

Las semillas de haba se mantuvieron en una germinadora a una temperatura de 25-27 °C. Se mantuvieron en estas condiciones hasta que sus raíces alcanzaron una longitud de 2 a 3 cm.

Las muestras de agua se colocaron en recipientes de vidrio, tapados con papel aluminio con perforaciones, en donde se acomodaron las plántulas de manera que sus raíces quedaran en contacto con el agua durante los tratamientos. Las raíces se dejaron expuestas durante un tiempo de 3 horas y posteriormente se les dio un tiempo de recuperación de 18 horas en agua destilada, con aereación y temperatura (21 °C) constantes.

El tratamiento que fue testigo se mantuvo en las mismas condiciones experimentales, pero con las raíces sumergidas en agua destilada desde un inicio.

Las preparaciones se realizaron, primeramente, cortando los ápices de la raíz a una longitud aproximada de 2 mm. Se lavaron con agua corriente, y en seguida se fijaron en una solución de etanol-ácido acético (Sigma) en proporción 3:1, durante 24 horas. A continuación, los ápices se lavaron con agua corriente, y se colocaron en un vidrio de reloj agregándoles unas gotas de HCl (Sigma) 5N, para que se hidrolizaran durante 10 minutos. Posteriormente se les retiró el ácido, se volvieron a lavar con agua corriente y se les agregaron unas gotas del colorante de aceto-orceína y se dejaron durante 10 minutos. En seguida, los ápices se trasladaron a los portaobjetos a los cuales previamente se les colocó una gota de ácido acético (Sigma) al 45%. Rápidamente se colocó el cubreobjetos y se efectuó

una presión con la goma de un lápiz. A continuación se observaron las preparaciones al microscopio utilizando el objetivo 40X.

#### **4.7. Diseño experimental.**

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con un total de 4 tratamientos, y 5 repeticiones por tratamiento, para un total de 20 unidades experimentales. Cada unidad experimental consistió de una preparación que contiene las células meristemáticas de raíz de haba. Los parámetros a evaluar fueron la frecuencia de micronúcleos e índice mitótico.

#### **4.8. Análisis Estadístico.**

Se utilizó el programa estadístico INSTAT2 versión 2.03. Para evaluar la frecuencia de micronúcleos e índice mitótico se efectuó primeramente un análisis de varianza con la finalidad de determinar la significancia estadística entre los tratamientos evaluados y a continuación se compararon los tratamientos por medio de la prueba de significancia de Tukey-Kramer. Se maneja un nivel de probabilidad de error de 0.05 y 0.01 para establecer niveles significativos de confiabilidad tanto en el análisis de varianza como en la prueba de Tukey-Kramer.

#### **4.9. Análisis Citogenético.**

Para la determinación de la frecuencia de micronúcleos e índice mitótico, por cada repetición se contaron 1000 células, resultando un total de 5000 células por

tratamiento, contando el número de células que presentaran micronúcleos o alguna fase mitótica.

#### **4.10. Criterios para seleccionar células micronucleadas.**

- a) Que las células presentaran buena tinción.
- b) Los micronúcleos deberían distinguirse como corpúsculos circulares bien definidos, con una coloración roja característica.
- c) Los micronúcleos no debían exceder de  $1/3$  del núcleo principal y debían estar localizados en el citoplasma circundante al núcleo principal.
- d) Los micronúcleos no deberían mostrar refractibilidad, es decir, al momento de mover el micrométrico del microscopio el objeto no debía desaparecer o pasar a otro plano, ya que si esto se presentaba, entonces se excluía como micronúcleo.

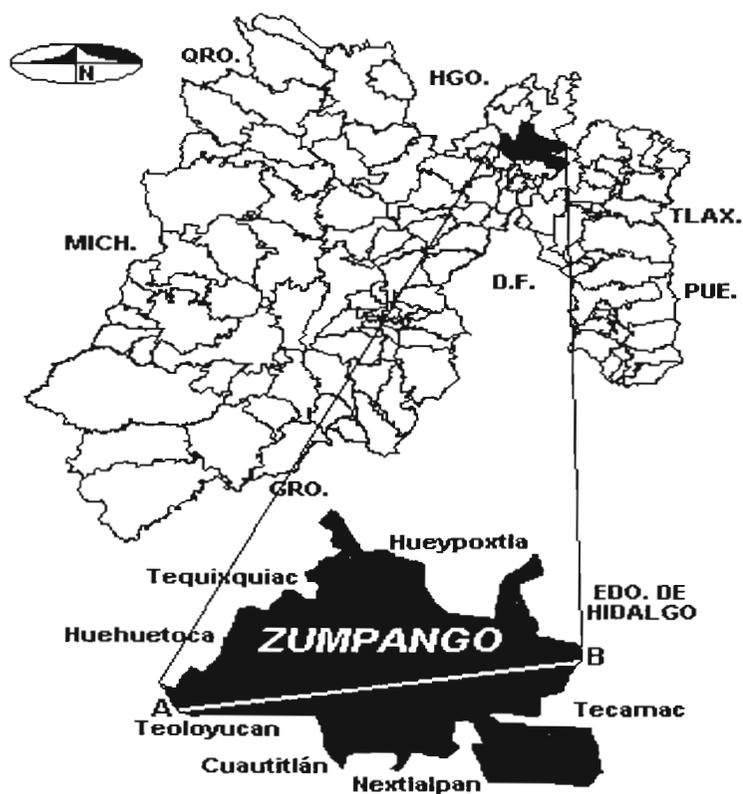


Figura 6. Ubicación del municipio de Zumpango en el Estado de México

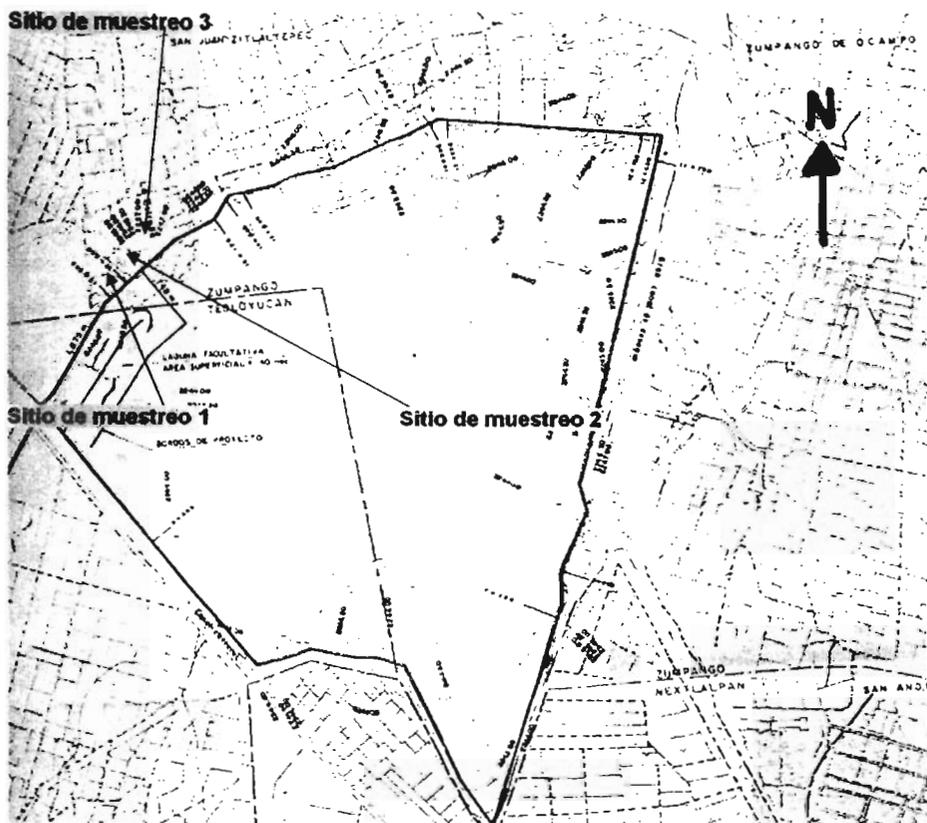


Figura 7. Ubicación de los sitios de muestreo en el municipio de Zumpango.

## 5. RESULTADOS.

Los efectos producidos en los cromosomas de las células meristemáticas del ápice de raíz de *Vicia faba*, se evaluaron mediante el análisis de la frecuencia de micronúcleos que se presentaron en células en interfase (figura 8), y el índice mitótico (figuras 9, 10 11 y 12). Para esto se realizó el análisis estadístico de los resultados obtenidos, efectuando primeramente el análisis de varianza para la frecuencia de micronúcleos e índice mitótico para determinar el grado de significancia entre los tratamientos evaluados, presentándose una diferencia estadística entre los tratamientos para la frecuencia de micronúcleos (tabla 2), y también para la frecuencia del índice mitótico (tabla 3).

Tabla 2. Análisis de varianza para la frecuencia de micronúcleos.

FUENTES DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO
TRATAMIENTOS	3	4718.2	1572.7
ERROR	16	482.4	30.150
TOTAL	19	5200.6	

F = 52.163

Tabla 3. Análisis de varianza para la frecuencia del índice mitótico.

FUENTES DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO
TRATAMIENTOS	3	24806	8268.6
ERROR	16	314.4	19.65
TOTAL	19	25120	

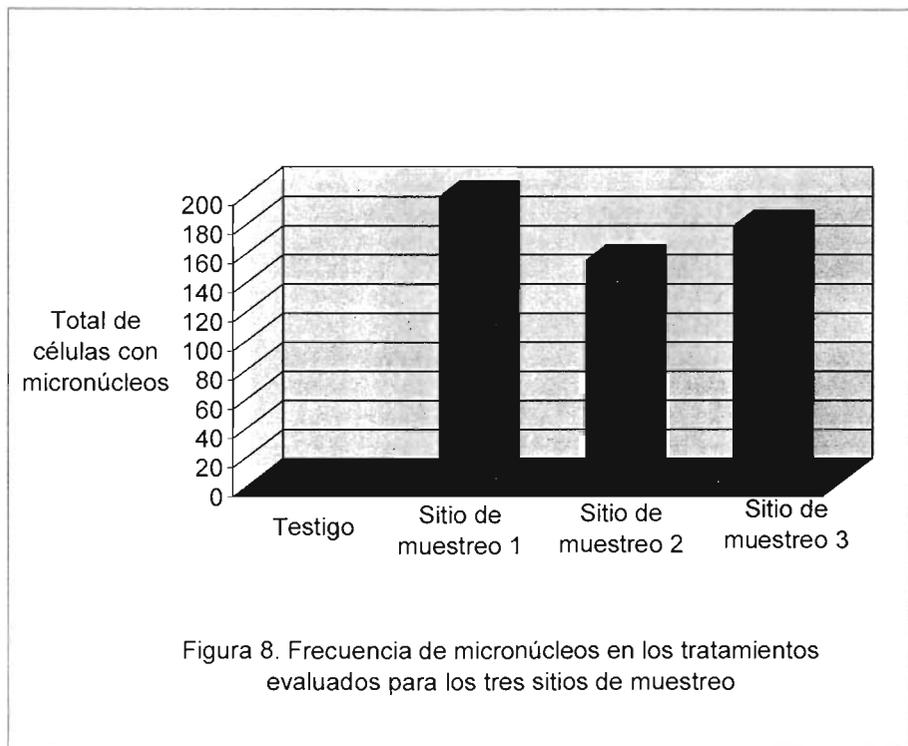
F = 420.79

A continuación se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer para conocer entre que tratamientos evaluados se presentaba una diferencia estadística en ambos parámetros estudiados.

En la tabla 4 y figura 8 se muestran las frecuencias de micronúcleos producidas para los tres sitios de muestreo y el testigo. Se puede observar que, en los tres sitios, se presenta una alta presencia de células micronucleadas comparando con el testigo.

Tabla 4. Frecuencia de micronúcleos en los tratamientos evaluados para los tres sitios de muestreo.

SITIO DE MUESTREO	TOTAL DE CÉLULAS	
	CON MICRONÚCLEOS	$\bar{X} \pm D. E.$
1	198	39.6 6.580
2	154	30.8 7.563
3	178	35.6 4.393
Testigo	3	0.6 0.89



Al aplicar la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer (tabla 5), se observa que no existe una diferencia estadística entre los tratamientos, a pesar de que entre el sitio de muestreo 1 y el sitio 2, se presentó una diferencia de 44 células con micronúcleos. Esto indica que la presencia de micronúcleos no está determinada por el lugar donde se muestreo, sino que la concentración presente de agentes contaminantes en el agua, en esos sitios, debe ser muy similar.

Tabla 5. Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer para los tratamientos de la frecuencia de micronúcleos.

COMPARACIÓN		DIFERENCIA	
TRATAMIENTO VS TRATAMIENTO		ESTADÍSTICA	PROBABILIDAD
Sitio 1	Sitio 2	n s	0.05
Sitio 1	Sitio 3	n s	0.05
Sitio 1	Testigo	**	0.01
Sitio 2	Sitio 3	n s	0.01
Sitio 2	Testigo	**	0.01
Sitio 3	Testigo	**	0.01

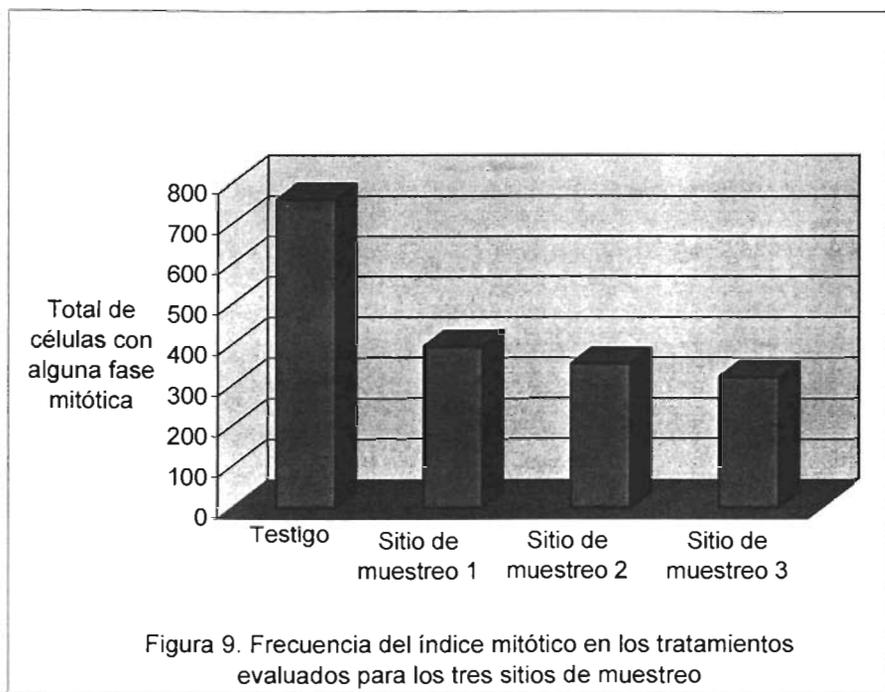
De acuerdo a la metodología empleada y a la elevada frecuencia de micronúcleos que se obtuvo en los tratamientos, se establece que las células meristemáticas de *Vicia faba* necesitan de períodos largos para recuperarse y así manifestar en su máxima potencialidad el daño ocasionado por diversos agentes mutágenos.

En la misma tabla 5, se muestran los valores obtenidos del testigo o control negativo, y comparando los tratamientos con el testigo se observa una diferencia estadística altamente significativa lo que indica la presencia de sustancias mutágenas en las aguas residuales evaluadas, que además inducen daños en la estructura de los cromosomas de *Vicia faba*.

En el caso del índice mitótico, los valores obtenidos de los tres sitios de muestreo se presentan en la tabla 6 y figura 9, observándose que en los tres tratamientos existe una disminución del índice mitótico, sin que éste se inhiba totalmente, en comparación con el testigo o control negativo que presenta un número elevado de células que presentan alguna fase mitótica.

Tabla 6. Frecuencia del índice mitótico en los tratamientos evaluados para los tres sitios de muestreo.

SITIO DE MUESTREO	TOTAL DE CÉLULAS CON ALGUNA FASE MITÓTICA	X	±	D. E.
1	395	79.0		3.162
2	353	70.6		3.209
3	320	64.0		2.828
Testigo	758	151.6		7.092



Al utilizar la prueba de Tukey-Kramer (tabla 7) se muestra que entre el sitio de muestreo 1 y los sitios 2 y 3, existió una diferencia estadística significativa. Lo anterior indica que en el sitio 1, los agentes químicos afectaron menos a la división celular, pero aún así las sustancias contaminantes presentes en los tres sitios tienen un comportamiento muy similar para influir negativamente en la división de las células de *Vicia faba*,

Tabla 7. Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer para los tratamientos de la frecuencia del índice mitótico.

COMPARACIÓN		DIFERENCIA	
TRATAMIENTO VS TRATAMIENTO		ESTADÍSTICA	PROBABILIDAD
Sitio 1	Sitio 2	*	0.05
Sitio 1	Sitio 3	**	0.01
Sitio 1	Testigo	**	0.01
Sitio 2	Sitio 3	n s	0.01
Sitio 2	Testigo	**	0.01
Sitio 3	Testigo	**	0.01

Con respecto a la comparación de los tratamientos con el testigo se obtuvo una diferencia estadística altamente significativa, debido a que todos los tratamientos presentaron un promedio muy bajo de células mitóticas en comparación con el testigo que tuvo un promedio muy alto de células en división, lo cual indica que los agentes contaminantes presentes en los diferentes tratamientos si inhiben la división celular, a través de diferentes mecanismos.

Los resultados de los análisis de los metales pesados se observan en las tablas 8, 9 y 10, en donde se puede apreciar que, para los tres sitios de muestreo, los valores obtenidos no exceden al valor máximo permisible de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996 (tabla 1), por lo cual, supuestamente, los cultivos que se producen en los lugares donde se muestreó, no están de forma

permanente expuestos a un elevado índice de toxicidad por estos elementos. Esta situación se debe posiblemente a que los suelos de esta región son arcillosos, lo cual ocasiona que retengan una elevada acumulación de estos elementos.

Tabla 8. Valores obtenidos para los metales pesados analizados por espectrofotometría de absorción atómica para el sitio de muestreo 1.

ELEMENTO	CONCENTRACIÓN (mg/l)
Plomo	0.086
Cromo hexavalente	0.10
Arsénico	0.00025
Cadmio	0.011

Tabla 9. Valores obtenidos para los metales pesados analizados por espectrofotometría de absorción atómica para el sitio de muestreo 2.

ELEMENTO	CONCENTRACIÓN (mg/l)
Plomo	0.070
Cromo hexavalente	0.17
Arsénico	0.024
Cadmio	0.040

Tabla 10. Valores obtenidos para los metales pesados analizados por espectrofotometría de absorción atómica para el sitio de muestreo 3.

ELEMENTO	CONCENTRACIÓN (mg/l)
Plomo	0.210
Cromo hexavalente	0.60
Arsénico	0.021
Cadmio	0.07

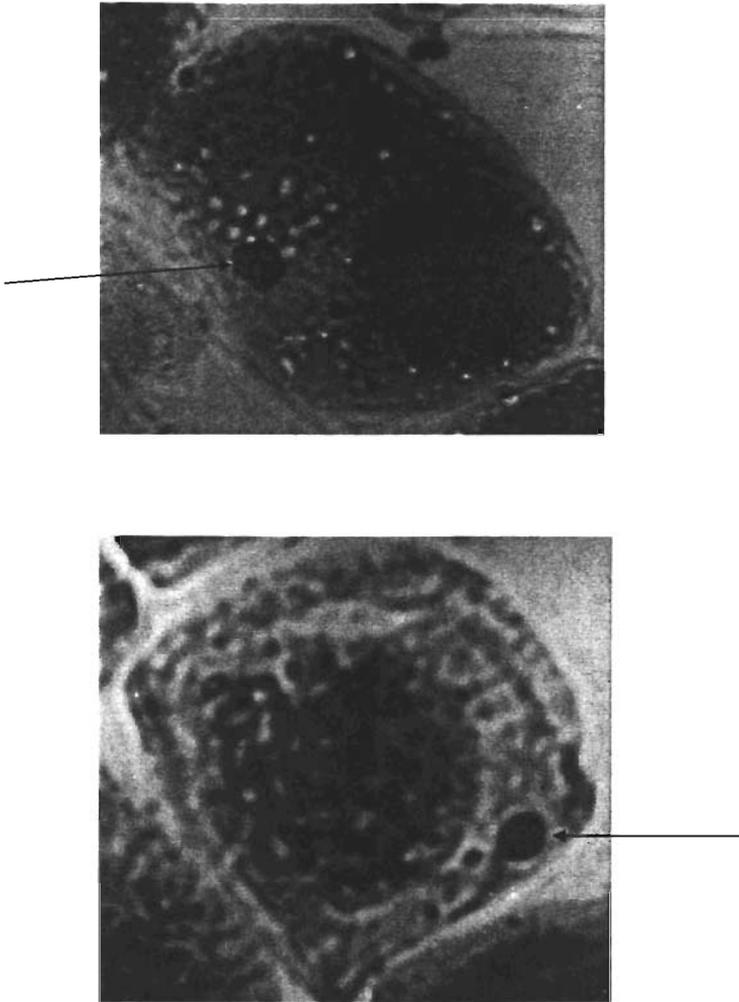


Figura 10. Células meristemáticas de *Vicia faba* observadas en interfase con presencia de micronúcleos

Células meristemáticas de *Vicia faba* que se observaron en las diferentes fases mitóticas.

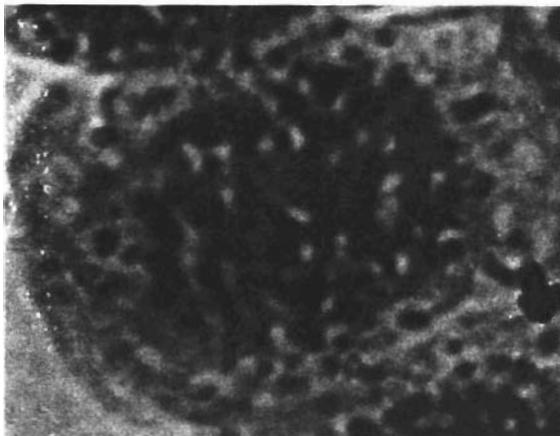


Figura 9. Profase

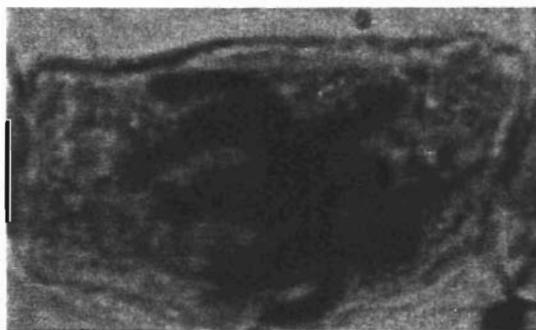


Figura 10. Metafase

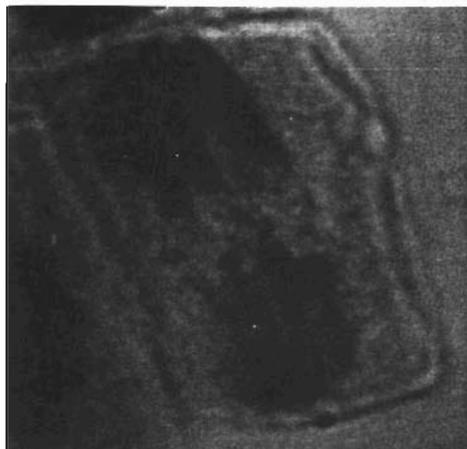


Figura 11. Anafase

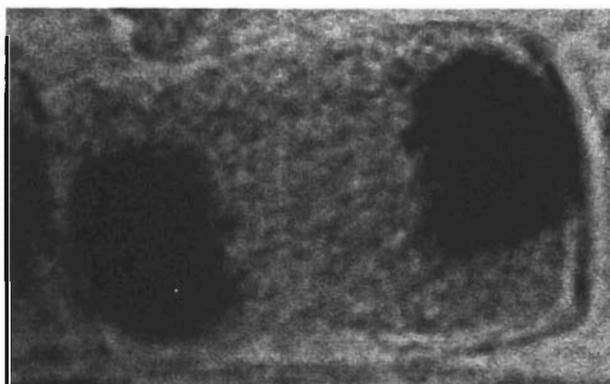


Figura 12. Telofase

## 6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Los resultados obtenidos en este trabajo confirman que, la prueba de micronúcleos usando como biomonitor células meristemáticas de *Vicia faba*, resulta muy eficiente para determinar el daño genético ocasionado por los agentes químicos presentes en las aguas residuales provenientes del área metropolitana de la ciudad de México, y que son usadas para el riego agrícola en el municipio de Zumpango, Estado de México. Esto coincide con los reportes de diversos autores (Duan et al, 1999; Grover y Satwinderjeet, 1999; Ji et al, 1999; Jiang et al, 1999; Miao et al, 1999; Ruiz et al, 1992; Steinkellner et al, 1999; Yang, 1999) quienes, utilizando diferentes sistemas vegetales, establecen un efecto genotóxico de aguas residuales provenientes de actividades domésticas, industriales, de la minería y de plantas químicas, debido a que inducen una elevada presencia de micronúcleos.

En el presente estudio se efectuaron los registros de micronúcleos en células en interfase porque es la etapa del ciclo celular en donde generalmente se manifiestan (Evans, 1997; Ma et al, 1995).

Se aplicaron tratamientos cortos de 3 horas de exposición con un tiempo de 18 horas de recuperación para poder evaluar la rapidez con la actúan las sustancias tóxicas de las aguas residuales.

Los micronúcleos aparecieron como el resultado de fragmentos acéntricos (Evans, 1997; Miao et al, 1999) y de cromosomas retardados (Cotelle et al, 1999; Ji et al, 1999) que no son transportados a los polos en el momento de la anafase y al no incorporarse a los núcleos hijos quedan como pequeños núcleos.

Tanto los fragmentos acéntricos, como los cromosomas con centrómero inactivado e isocromosomas pueden examinarse en interfase como micronúcleos, de tal manera que el análisis de éstos provee un método sencillo para detectar la presencia de daño cromosómico en *Vicia faba* (Valencia, 1987).

Para todos los tratamientos se sugiere que el daño fue ocasionado por agentes químicos que tienen la capacidad para provocar micronúcleos.

En el caso del sitio de muestreo 1, se manifestó una relación directa entre la presencia de micronúcleos y el tiempo de exposición y de recuperación de las células de *Vicia faba*, a excepción de los sitios 2 y 3, en donde se manifiesta una disminución en la presencia de micronúcleos, lo cual se puede deber a la integración de más de una alteración por micronúcleos o a la inclusión de éstos en uno de los núcleos hijos, tal como lo proponen Evans y Sparrow (1961).

Se sugiere que el centrómero puede ser afectado por las sustancias contaminantes y que esta acción se traduce en una activación del mismo dando origen a los cromosomas con el centrómero inactivado (Gómez y Villalobos, 1983; Chauhan et al, 1986) o provoca su división anormal en sentido transversal, en vez de longitudinal y forma los isocromosomas (Gómez et al, 1986; Nicoloff y Gecheff, 1976), en ambos casos los cromosomas afectados quedan fuera de la cinética normal de la anafase, ya que no se integran a los núcleos hijos y pueden dar como resultado micronúcleos (Gómez et al, 1986; Valencia, 1987).

Por otra parte, Schimd (1973, 1975), así como Matter y Grauwiler (1974) señalan que el daño parcial o los disturbios en el huso mitótico pueden dar como resultado cromosomas con el centrómero inactivado quedando fuera de la cinética normal de la anafase y pueden formar micronúcleos en células en interfase.

El daño o disturbios en el huso mitótico se pueden presentar debido a que existen compuestos químicos que ocasionan alteraciones en el proceso metabólico básico a nivel celular, sobre todo por desordenes en la síntesis de proteínas, como es el caso de la tubulina que es la proteína que forma los microtubulos de las fibras del huso mitótico (De Marco et al, 1988; Samborska, 1987).

Con respecto al índice mitótico, se considera como un parámetro citotóxico que refleja la frecuencia de la división celular y la velocidad de crecimiento de las células meristemáticas. El índice mitótico muestra el daño que provocan diversos agentes, ya se ha demostrado que tanto las radiaciones (Gustavino et al, 1987; Rizzoni et al, 1987; Wang y Wang, 1999) como las sustancias químicas (Chauhan et al, 1986; Grant et al, 1992; Zhang y Xiao, 1998) producen inhibición de la división celular.

En el presente trabajo, se propone que en todos los tratamientos evaluados actuaron diversos agentes químicos que influyeron notablemente en ciertas fases de la división celular, así como otros que impidieron la entrada de las células en mitosis o que inhibieron la formación del huso mitótico o la citocinesis. Se considera que en estas aguas estudiadas existen los agentes que inhiben la división celular, afectando a las células en la etapa de interfase, pudiendo actuar en G1, S o G2, y en ocasiones en la profase temprana. Los que actúan en G1 o S pueden inhibir la replicación cromosómica y la división de cromosomas, mientras que los que lo hacen principalmente en G2, solo afectan la separación de las cromátidas (Chauhan et al, 1986; De Marco et al, 1986; Kihlman, 1966). También se toma en cuenta, que la supresión de los procesos necesarios para que se lleve

a cabo el ciclo celular, como son la síntesis de DNA, RNA, proteínas y la formación del huso mitótico, puede interferir en la proliferación de células (Chauhan *et al*, 1986).

Se ha demostrado que si se impide la síntesis de DNA no hay división celular. Dentro de los agentes que afectan al DNA y su metabolismo se encuentran los inhibidores de la síntesis y de los precursores del DNA y aquellos que modifican su estructura (Kihlman, 1966; Mohamed y Ma, 1999; Steinkeller *et al*, 1998).

Por otra parte, se ha demostrado que al bloquearse la síntesis de RNA y proteínas, la siguientes síntesis de DNA y la mitosis se reprimen totalmente (Gollapudi *et al*, 1995; Knasmüller *et al*, 1998).

Está bien fundamentado que la inhibición de la función del huso mitótico impide las divisiones celulares de manera normal (Chauhan *et al*, 1986; Kihlman, 1966), por ejemplo, se ha observado que los insecticidas inhiben la mitosis, evitando la polimerización de la tubulina de los microtubulos del huso mitótico (Chauhan *et al*, 1986; Moreno, 2001).

Otra causa que puede provocar la disminución de la frecuencia de divisiones celulares, es la producción de alteraciones cromosómicas, ya que se ha descrito que éstas pueden causar directamente la muerte celular (De Marco *et al*, 1986; Valencia, 1992). Bloqueos en la síntesis de DNA inducen regiones sin replicación que pueden persistir en la mitosis y provocar la formación de aberraciones cromosómicas, y debido a que éstas se correlacionan estrechamente con la muerte celular es probable que las lesiones que bloquean la síntesis de DNA sean citotóxicas (Valencia, 1992).

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

Las situaciones anteriores posiblemente se encontraron con las sustancias tóxicas de la muestra de agua, en donde se observó un aumento en la inducción de micronúcleos con los tiempos de exposición y de recuperación que se manejaron, y por otro lado una disminución en la división celular.

Los resultados de los análisis de los metales pesados indican que en todos los casos, los valores obtenidos no exceden al valor máximo permisible establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, esta situación se debe posiblemente a que el sitio de muestreo fueron los canales de riego próximos a las parcelas de cultivo, y dichos canales no están revestidos por ningún tipo de material, y que el tipo de suelo presente es arcilloso el cual tiene la característica de retener una elevada concentración de estos metales y que por consiguiente presenten una solubilidad baja en el agua (Ortiz y Ortiz, 1990). Pero existen reportes que indican que, aún presentes en bajas concentraciones, los metales pesados ocasionan daños clastogénicos en células vegetales (Knasmüller et al, 1998; Marcano et al, 1999; Steinkeller et al, 1998; Zhang y Xiao, 1998).

El efecto de los metales pesados en las células vegetales es diverso. En este trabajo se sugiere que posiblemente, a nivel molecular, los metales pueden inhibir la función de enzimas que intervienen en la reparación del DNA, ya sea desnaturalizándolas, precipitándolas o produciendo efectos alostéricos o alteraciones en su síntesis (De Marco et al, 1988; Jha et al, 1992; Steinkellner et al, 1998). Otra posibilidad que pudo pasar en este estudio es que a menudo, los metales pueden ligarse a la molécula de DNA y ocasionar un daño directo debido a que alteran la conformación núcleo-proteica (De Marco et al, 1988; Knasmüller et al, 1998). Está reportado que cualquiera de las acciones anteriores pueden

afectar la división celular y la estructura y comportamiento del huso mitótico (Ramírez, 1999).

Los metales ocasionan alteraciones en la mitosis induciendo una disminución en la frecuencia de la división celular (Marcano et al., 1999; Zhang y Yang, 1994; Zhang y Xiao, 1998), llegando a inducir la inhibición total de la división, o a un desajuste en la separación de los cromosomas (Giri et al., 1981; Ramírez, 1999).

Por otra parte, se reporta que la alta afinidad de muchos metales por los enlaces disulfuro en el citoplasma llegan a provocar anormalidades o destruyen las fibras del huso mitótico (Zhang y Yang, 1994).

Los metales también constituyen complejos ligados con grupos cíclicos u otros metales, esta formación de complejos pueden alterar la composición y la viscosidad citoplásmica lo que conduce a efectos clastogénicos (Ramírez, 1999).

## 7. CONCLUSIONES.

- El bioensayo de *Vicia faba*-micronúcleos puede ayudar a prevenir del estado peligroso de la calidad que representan las aguas residuales utilizadas para el riego agrícola.
- Las aguas residuales evaluadas contienen agentes químicos que son potencialmente inductores de micronúcleos en las células meristemáticas de *Vicia faba*, manifestando su daño genético en el tiempo de exposición y de recuperación que se emplearon en este trabajo.
- Se encontró una disminución en la frecuencia del índice mitótico en las células meristemáticas de *Vicia faba*, lo que manifiesta un efecto citotóxico por parte de las sustancias contaminantes presentes en las muestras de agua evaluada. Se manifestó que con el tiempo de recuperación de las células, usado en este estudio, los contaminantes ejercieron un mayor efecto inhibitor sobre la división celular.
- Con los datos obtenidos en este estudio las aguas residuales evaluadas cumplen con los límites permisibles propuestos por la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996 en cuanto a metales pesados y por lo tanto no representan un mayor riesgo para las plantas cultivadas de la región, así como tampoco para los animales y humanos, ya sean productores o consumidores.

## 8. RECOMENDACIONES.

- Se recomienda realizar este tipo de estudio en más sitios de muestreo y en diferentes épocas del año, para verificar si este tipo de aguas presentan una acción genotóxica y citotóxica.
- Es recomendable la aplicación en forma combinada de las siguientes medidas indicadas para prevenir y controlar el riesgo sanitario, no solo para las plantas, también debe ser para los animales y sobre todo para el humano:
  - 1) Se debe llevar a cabo, por algún método, el tratamiento de las aguas residuales para su uso agrícola.
  - 2) Debe existir la restricción de cultivos sobre todo de hortalizas que se consumen crudas.
  - 3) Se debe tener una atención sanitaria para las plantas cultivadas, así como para los agricultores y los consumidores expuestos.
  - 4) Se deben mejorar los métodos de riego.

## 9. REFERENCIAS.

- 1.- American Public Health Association (APHA). 1996. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19a. edition. Washington, DC, USA.
- 2.- Arango, M. J. M. 1996. Panorama general sobre la reutilización del agua en el riego agrícola en México. Memorias del taller experimental de reúso del agua en la agricultura México-Israel. México. pp: 19-23.
- 3.- Armienta, M. A.; Morton, O.; Rodríguez, R.; Cruz, O.; Aguayo, A.; Cenicerros, N. 2001. Chromium in a tannery wastewater irrigated area, León valley, México. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 66: 189-195.
- 4.- Ashby, J. Y Tinwell, H. 2001. Continuing ability of the rodent bone marrow micronucleus assay to act as a predictor of the posible germ cell mutagenicity of chemicals. Mutat. Res. 478: 211-213.
- 5.- Ateeq, B.; Abul-farah, M.; Niamat, M.; Waseem, A. 2002. Induction of micronuclei and erythrocyte alterations in the catfish (*Clarias batrachus*) by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and butachlor. Mutat. Res. 518: 135-144.
- 6.- Avilés, H. G. 2000. Identificación de especies vegetales con capacidad para remover metales pesados en suelos contaminados. Tesis Profesional. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 5-31.
- 7.- British Geological Survey (BGS). 1994. Effects of wastewater reuse on urban groundwater resources, León, México. Phase I Report. Preparado por: British Geological Survey; Comisión of the European Community Overseas Development Administration; Comisión Nacional del Agua y Universidad Autónoma de Chihuahua. pp: 7-25.
- 8.- Cajuste, L. J. y Carrillo, G. R. 1992. Estudio de metales pesados en agua, suelo y plantas en el Valle del Mezquital y su incidencia en la cadena alimenticia en la región del estado de Hidalgo. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. pp: 16-45.
- 9.- Cala, R. V. 1995. Contaminación y depuración de suelos. Instituto Tecnológico Geominero de España. Madrid, España. pp: 49-75.

- 10.- Campana, M. A.; Panzeri, A. M.; Moreno, V. J.; Dulot, F. N. 1999. Genotoxic evaluation of the pyrethroid lambda-cyhalothrin using the micronucleus test in erythrocytes of the fish (*Cheirodon interruptus*). *Mutat. Res.* 438: 155-161.
- 11.- Castro de Esparza, M. L. 1997. Evaluación de riesgos para la salud por el uso de las aguas residuales en la agricultura. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS). Lima, Perú. pp: 1-7.
- 12.- Chakravarty, B. y Srivastava, S. 1992. Toxicity of some heavy metals in vivo and in vitro in *Helianthus annuus*. *Mutat. Res.* 283: 287-294.
- 13.- Chauhan, L. K. S.; Dikshith, T. S. S.; Sundararaman, V. 1986. Effect of deltamethrin on plant cells I. Cytological effects on the root meristems of *Allium cepa*. *Mutat. Res.* 171: 25-30.
- 14.- Cortes, M. J. ; Tejeda, G. C.; Sánchez, V. C.1993. Aprovechamiento de aguas residuales en la agricultura. Situación actual en México. Comisión Nacional del Agua. México. pp: 4-7.
- 15.- Cotelle, S.; Masfaraud, J. F.; Férad, J. F. 1999. Assessment of the genotoxicity of contaminated soil with the *Allium/Vicia*-micronucleus and the *Tradescantia*-micronucleus assays. *Mutat. Res.* 426: 167- 171.
- 16.- Crites, R. y Tchobanoglous, G. 2000. Tratamiento de aguas residuales en pequeñas poblaciones. McGraw-Hill. México pp: 33-96.
- 17.- Cruz, C. J. L. 1997. Contaminación por metales pesados en cultivos regados con aguas del río Lerma, en la región de Salamanca, Guanajuato. Tesis Profesional. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 4-40.
- 18.- Cuellar, R. C. H. 1988. Alternativas para el control de descargas de aguas residuales en México. Primer congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Guadalajara, Jalisco. pp: 7-21.
- 19.- Cuenca, A. E. 2000. Efecto del agua residual en cultivos de cebolla. Tesis de Maestría en Ciencias. Biología. Facultad de Ciencias. UNAM.

- 20.- Curtis, P. J. 1986. Introducción a la citología vegetal. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 115-123.
- 21.- De Marco, A.; Romanelli, M.; Stazi, M. A.; Vitagliano, E. 1986. Induction of micronucleated cells in *Vicia faba* and *Allium cepa* root tips treated with nitrilotriacetic acid (NTA). *Mutat. Res.* 171: 145-148.
- 22.- De Marco, A.; Paglialunga, S.; Rizzoni, M.; Testa, A.; Trinca, S. 1988. Induction of micronuclei in *Vicia faba* root tips treated with heavy metals (cadmium and chromium) in the presence of NTA. *Mutat. Res.* 206: 311-315.
- 23.- Duan, Ch. Q.; Hu, B.; Jiang, X. H.; Wen, Ch. H.; Wang, Z.; Wang, Y. X. 1999. Genotoxicity of water samples from Dianchi lake detected by the *Vicia faba* micronucleus test. *Mutat. Res.* 426: 121-125.
- 24.- Durán, C. R. y Hernández, G. R. 1998. Efecto de las aguas residuales en la agricultura, con énfasis a la horticultura. Departamento de Irrigación. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 83-103.
- 25.- Evans, H. J. y Sparrow, A. H. 1961. Nuclear factors affecting radiosensitivity. II. Dependence on nuclear and chromosome structure and organization. Fundamental aspects of radiosensitivity. Brookhaven Symp. Biol. 14: 101-107.
- 26.- Evans, J. H. 1997. Historical perspectives on the development of the in vitro micronucleus test: a personal view. *Mutat. Res.* 392: 5-10.
- 27.- Fenech, M. y Crott, J. W. 2002. Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes evidence for breakage-fusion-bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutat. Res.* 504: 131-136.
- 28.- Fiskesjo, G. 1993. The *Allium* test in wastewater monitoring. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 8: 291-298.
- 29.- Friauff, W.; Pötter, L. F.; Cordier, A. ; Suter, W. 1998. Automatic analysis of the in vitro micronucleus test on V79 cells. *Mutat. Res.* 423: 57-68.

- 30.- García, M. M. R. 1993. Contaminantes tóxicos prioritarios en agua. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 71-102.
- 31.- Gardea, T. J. L.; Peralta, V. J. R.; Montes, M. R.; Corral, D.B. 2004. Bioaccumulation of cadmium, chromium and copper by *Convolvulus arvensis* L.: impact on plant growth and uptake of nutritional elements. Bio. Tech. 92: 229-235.
- 32.- Gardner, E. J.; Simmons, M. J.; Snustad, P. D. 1999. Principios de Genética. 4a. edición. Uteha-Noriega editores. México. pp: 54-57.
- 33.- Giri, A. K.; Sanyal, R.; Talukder, G.; Sharma, A. 1981. Mutachromosomal effects of some trace elements on mammalian systems. Bionature 1: 55-58.
- 34.- Gollapudi, B. B.; Mendrala, A. L.; Linscombe, V. A. 1995. Evaluation of the genetic toxicity of the organophosphate insecticide chlorpyrifos. Mutat. Res. 342: 25-36.
- 35.- Gómez, A. S. y Villalobos, P. R. 1983. Chromosomal alterations induced by some chromium salts. Cytologia 48: 185-193.
- 36.- Gómez, A. S.; Castillo, R. P.; Villalobos, P. R. 1986. Chromosomal alterations induced in *Vicia faba* by different industrial solvents: thinner, toluene, benzene, n-hexane, n-heptane and ethyl acetate. Cytologia 51: 133-142.
- 37.- Gómez, A. S. y Villalobos, P. R. 1997. El intercambio de Cromátidas Hermanas en *Vicia faba* como monitor genético de contaminantes ambientales. En: Resúmenes del VII Congreso Nacional de Genética. Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, Baja California Norte.
- 38.- Gopalan, H. N. B. 1999. Ecosystem health and human well being: the mission of the international programme on plant bioassays. Mutat. Res. 426: 99-102.
- 39.- Griffiths, A. J. F.; Gelbart, W. M.; Miller, J. H.; Lewontin, R. C. 2000. Genética Moderna. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid, España. pp: 92-96.
- 40.- Granados, S. D. y Pérez, C. L. 1995. Destrucción del planeta y educación ambiental. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 103-107.

- 41.- Grant, W. F.; Lee, H. G.; Logan, D. M.; Salamone, M. F. 1992. The use of *Tradescantia* and *Vicia faba* bioassays for the in situ detection of mutagens in an aquatic environment. *Mutat. Res.* 270: 53-64.
- 42.- Grant, W. F. 1994. The present status on higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutat. Res.* 310 (2): 175-185.
- 43.- Grover, I. S. y Satwinderjeet, K. 1999. Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the *Allium* root anaphase aberration and micronucleus assays. *Mutat. Res.* 426 (2): 183-188.
- 44.- Guerrero, L. M. 1997. El agua. 2ª. Reimpresión. Fondo de Cultura Económica. México. pp: 61-87.
- 45.- Gustavino, B.; Vitagliano, E.; Sottili, A.; Rizzoni, M. 1987. A comparison between short-term evolution of micronuclei induced by X-rays and colchicine in root tips of *Vicia faba*. *Mutat. Res.* 192: 109-119.
- 46.- Instituto de Información e Investigación Geográfica Estadística y Catastral del Gobierno del Estado de México (IGECEM). 2003. <http://www.edomexico.gob.mx>
- 47.- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI). 2003. <http://www.inegi.gob.mx>
- 48.- Jha, A. N.; Noditi, M.; Nilsson, R.; Natatajan, A. T. 1992. Genotoxic effects of sodium arsenite on human cells. *Mutat. Res.* 284: 215-221.
- 49.- Ji, Q.; Yang, H.; Zhang, X. 1999. *Vicia* root-micronuclei assays on the clastogenicity of waters samples from the Kui river near Xuzhou city, People's Republic of China. *Mutat. Res.* 426: 133-135.
- 50.- Jiang, Y. G.; Yu, Z. D.; Liu, G. Z.; Chen, R. Z.; Peng, G. Y. 1999. Genotoxicity of waters samples from the scenic Lijiang river in the Guilin area, China, evaluated by *Tradescantia* bioassays. *Mutat. Res.* 426: 137-141.
- 51.- Joutchev, G.; Stergios, M.; Schubert, I. 2002. A comparison of N-methyl-N-nitrosourea-induced chromatid aberrations and micronuclei in barley meristems using FISH techniques. *Mutat. Res.* 517: 47-51.

- 52.- Kanaya, N.; Gill, B. S.; Grover, I. S.; Murin, A.; Osiecka, R.; Sandhu, S. S.; Andersson, H. C. 1994. *Vicia faba* chromosomal aberration assay. *Mutat. Res.* 310: 231-247.
- 53.- Kihlman, B. A. 1966. Actions of chemicals on dividing cells. Printice Hall. New Jersey. pp: 143-157.
- 54.- Klug, W. S. y Cummings, M. R. 1999. Conceptos de Genética. 5ª. Edición. Prentice Hall. Madrid, España. pp: 25-27.
- 55.- Knasmüller, S.; Gottmann, E.; Steinkellner, H.; Fomin, A.; Pickl, Ch.; Paschke, A.; Göd, R.; Kundi, M. . 1998. Detection of genotoxic effects of heavy metal contaminated soils with plant bioassays. *Mutat. Res.* 420: 37-48.
- 56.- Kong, M. S. y Ma, T. H. 1999. Genotoxicity of contaminated soil and shallow well water detected by plant bioassays. *Mutat. Res.* 426: 224-228.
- 57.- Liu, Y.; Wu, Z.; Chen, J. 1998. Differential effects of aneugens and clastogens on incidences of multinucleated cell and micronucleate cells in Chinese hamster lung (V79) cell line in vitro. *Mutat. Res.* 413: 39-45.
- 58.- Ma, T. H.; Cabrera, G. L.; Chen, R.; Gill, B. S. ; Sandhu, S. S. ; Vandenberg, A. L. ; Salamone, M. F. 1994. *Tradescantia* micronucleus bioassay. *Mutat. Res.* 310: 221-230.
- 59.- Ma, T. H.; Xu, Z.; Xu, Ch.; McConnell, H. ; Valtierra, R. E. ; Arreola, G. A. ; Zhang, H. 1995. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. *Mutat. Res.* 334: 185-195.
- 60.- Ma, T. H.; Grant, W. F. ; de Serres, F. J.. 1997. The genotoxicity monitoring of air, water and soil. A preliminary report of the International Programme on Plant Bioassays (IPPB). *Mutat. Res.* 379 (1), Supplement 1, page 599.
- 61.- Majer, B. J. ; Tschierko, D. ; Daschke, A.; Wennrich, R.; Kundi, M.; Kandeler, E.; Knasmüller, S. 2002. Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: a comparative investigation. *Mutat. Res.* 515: 111-124.

- 62.- Maravilla, G. R. 1998. Efecto citogenética en *vicia faba* del agua de lluvia de la ciudad de México. Tesis de Maestría en Ciencias. Biología. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- 63.- Marcano, L.; Carruyo, I.; Montirl, X.; Bracho, M.; Soto, L. M. 1999. Valoración del efecto tóxico del cadmio en células meristemáticas de cebolla *Allium cepa* L. Rev. Fac. Agron. 16: 476-487.
- 64.- Matter, B. E. y Grauwieeler, J. 1974. Micronuclei in mouse bonemarrow cells. A simple in vivo model for the evaluation of grug induced chromosomal aberrations. Mutat. Res. 23: 239-249.
- 65.- Melo, S. F. M.; Márquez, E. C.; Juárez, J. M.; Martínez, M. F.; Miranda, R. P.; Esquivel, R. L. 2003. Análisis de metales pesados en las aguas residuales del río San Javier y repercusión en la salud e impacto ambiental. Departamento de Química, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politecnico Nacional. México.
- 66.- Metcalf y Eddy. 1996. Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización. 3ª. Edición. McGraw-Hill. México. pp: 53-135.
- 67.- Miao, M.; Fu, R.; Yang, D.; Zheng, L. 1999. *Vicia* root micronucleus assay on the clastogenicity of water samples from the Xiaoqing river in Shandong Province of the People's Republic of China. Mutat. Res. 426: 143-145.
- 68.- Minissi, S. y Lombi, E. 1997. Heavy metal content and mutagenic activity, evaluated by *Vicia faba* micronucleus test, of Tíber river sediments. Mutat. Res. 393: 17-21.
- 69.-Minissi, S.; Caccese, D.; Passafiume, F.; Grella, A. ; Ciccotti, E. ; Rizzoni, M. 1998. Mutagenicity (micronucleus test in *Vicia faba* root tips) polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metal content of sediments collected in Tiber river an dits tributaries within the urban area of Rome. Mutat. Res. 420: 77-84
- 70.- Mohamed, K. B. y Ma, T. H. 1999. Tradescantia-micronucleus and stamen hair mutation assays on genotoxicity of the gaseous and liquid forms of pesticidas. Mutat. Res. 426: 193-199.

- 71.- Moreno, L. J. F. 2001. Genotoxicidad del insecticida clorpirifos en células apicales de raíz de haba (*Vicia faba* L.). Tesis de Licenciatura. Ingeniería Agrícola. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Cuautitlán Izcalli, México.
- 72.- Müller, W. U. y Rode, A. 2002. The micronucleus assay in human lymphocytes after high radiation doses (5-15 Gy). *Mutat. Res.* 502: 47-51.
- 73.- Nakayama, F. S. y Bucks, D. A. 1991. Water quality in drip/trickle irrigation: A review. *Irrigation Science* 12: 187-192.
- 74.- Nicoloff, H. Y Gecheff, K. 1976. Methods of scoring induced chromosome structural changes in barley. *Mutat. Res.* 34: 233-244.
- 75.- Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación, 6 de enero de 1997.
- 76.- Ortiz, V. B. y Ortiz, S. A. 1990. Edafología. 3ª edición. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 254-256.
- 77.- Palacios, O. J. 2002. Estudio del efecto de aguas residuales en diversos cultivos en el Valle del Mezquital, Hidalgo. Tesis de Licenciatura. Departamento de Suelos, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- 78.- Palafox, M. D. 2003. Evaluación genotóxica de aguas residuales de la actividad de tenería utilizadas para riego en el municipio de León, Guanajuato. Tesis de Licenciatura. Ingeniería Agrícola. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Cuautitlán Izcalli, México.
- 79.- Pescod, M. M. 1992. Wastewater treatment and use in agriculture. FAO. *Irrig & Drain.* Paper No. 47. Roma. pp: 1-7.
- 80.- Ramalho, R. S. 1996. Tratamiento de aguas residuales. Reverté. México. pp: 1-64.
- 81.- Ramírez, D. Y. 1999. Efecto citogenético inducido por níquel en *Vicia faba*. Tesis de Licenciatura. Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM.

- 82.- Ramírez, C. A. 1999. Monografía Municipal de Zumpango. Versión preliminar. <http://www.edomex.gob.mx/Se/zumpango.htm>
- 83.- Rank, J. y Nielsen, M. H. 1994. Evaluation of the *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. *Mutat. Res.* 312 (1): 17-24.
- 84.- Rizzoni, M.; Vitagliano, E.; Marconi, M. C.; Sottili, A.; Gustavino, B. 1987. Micronucleus induction by low doses of X-rays in *Vicia faba* root tips. *Mutat. Res.* 176: 205-209.
- 85.- Robbiano, L.; Mereto, E.; Migliazzi, M. A.; Pastore, P.; Brambilla, G. 1998. Increased frequency of micronucleated kidney cell in rats exposed to halogenated anaesthetics. *Mutat. Res.* 413: 1-6.
- 86.- Rodríguez, G. S.; Pimentel, D.; Weinstein, L. H. 1998. In situ assessment of pesticide genotoxicity in an integrated pest management program I-*Tradescantia* micronucleus assay. *Mutat. Res.* 412: 235-244.
- 87.- Ruiz, E. F.; Rabago, V. M. E.; Lecona, S. U.; Pérez, A. B.; Ma, T. H. 1992. *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) bioassay on clastogenicity of wastewater and in situ monitoring. *Mutat. Res.* 270: 45-51.
- 88.-Saéñz, F. R. 1997. Modernización y avances en el uso de aguas negras para la irrigación. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS). Lima, Perú. pp: 27-34.
- 89.- Sainz, A.; Grande, J. A.; de la Torre, M. L. 2004. Characterisation of heavy metal discharge into the Ria of Huelva. *Environ. Int.* 30: 557-566.
- 90.- Samborska, C. A. 1987. Cytogenetic disturbances in germinating seeds of broad bean (*Vicia faba* L. var. minor) caused by herbicide Avadex B. W. *Genetica Polonica* 28 (3): 277-287.
- 91.- Sawger, T. W. 1994. Cellular methods of genotoxicity and carcinogenicity. In: Introduction to in vitro cytotoxicology. Mechanisms and methods. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. pp: 75-105.

92.- Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). 1994. Manual de aprovechamiento de aguas residuales en el riego agrícola. Dirección General de Usos del Agua y Prevención de la contaminación. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México. pp: 245-263.

93.- Seoáñez, C. M. y Angulo, A. I. 1999. Aguas residuales urbanas. Tratamientos naturales de bajo costo y aprovechamiento. Mundi-Prensa. México. pp: 47-87.

94.- Schimid, W. 1973. Chemical mutagen testing on in vivo somatic mammalian cells. Agents and Actions 3: 77-85.

95.- Schimid, W. 1975. The micronucleus test. Mutat. Res. 31: 9-15.

96.- Steinkellner, H.; Mun-Sik, K.; Helma, Ch.; Ecker, S.; Ma, T. H.; Horak, O.; Kundi, M.; Knasmüller, S. 1998. Genotoxic effects of heavy metal: comparative investigation with plant bioassays. Environ. Mol. Mutat. 31: 189-191.

97.- Sudheer, K. M.; Unnikrishnan, M. K.; Uma, D. P. 2003. Effect of 5-aminosalicylic acid on radiation induced micronuclei in mouse bone marrow. Mutat. Res. 527: 7-14.

98.- Tebbutt, T. H. Y. 2002. Fundamentos de control de la calidad del agua. Limusa-Noriega Editores. México. pp: 19-53.

99.- Tejeda, G. C. 1993. Programa Nacional para el aprovechamiento de aguas residuales. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). México. pp: 87-93.

100.- Trosic, I.; Busljeta, I.; Kasuba, V.; Rozgas, R. 2002. Micronucleus induction alter whole-body microwave irradiation of rats. Mutat. Res. 521: 73-79.

101.- Valencia, Q. P. R. 1987. Efecto del Dimetil Sulfoxido (DMSO) sobre las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*. Tesis de Licenciatura. Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM.

102.- Valencia, Q. P. R. 1992. Efecto de los insecticidas carbamicos metomil y oximil sobre los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*. Tesis de Maestría en Biología Celular. Facultad de Ciencias, UNAM

103.- Wang, S. y Wang, X. 1999. The *Tradescantia*-micronucleus test on the genotoxicity of UV-B radiation. *Mutat. Res.* 426: 151-153.

104.- Yang, G. 1999. *Tradescantia*-micronucleus assay on the water quality of lake Hongzhe in Jiangsu Province, China. *Mutat. Res.* 426: 155-157.

105.- Zhang, Y. X. y Yang, X. L. 1994. The toxic effects of cadmium on cell division and chromosomal morphology of *Hordeum vulgare*. *Mutat. Res.* 312: 121-126.

106.- Zhang, Y. y Xiao, H. 1998. Antagonistic effect of calcium, zinc and selenium against cadmium induced chromosomal aberrations and micronuclei in root cell of *Hordeum vulgare*. *Mutat. Res.* 420: 1-6.