



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**GENOTOXICIDAD INDUCIDA EN MUSGOS DE LA
ESPECIE *Hypnum amabile* EXPUESTOS EN CINCO
DIFERENTES SITIOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO Y
ZONA METROPOLITANA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIOLOGO

P R E S E N T A:

MIGUEL ÁNGEL ZAVALA SÁNCHEZ



**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO
CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX, 2018**



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.

1. Datos del alumno

Zavala
Sánchez
Miguel Ángel
5520951579
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
310153384

2. Datos del tutor

Dra.
Sandra Luz
Gómez
Arroyo

3. Datos del sinodal 1

Dra.
Josefina
Cortés
Eslava

4. Datos del Sinodal 2

Dra.
Sonia
Vázquez
Santana

5. Datos del Sinodal 3

M. en C.
María Eugenia
Muñiz
Díaz de León

6. Datos del Sinodal 4

M. en C.
Denisse Josefina
Badillo
Velázquez

7. Datos de la tesis

Genotoxicidad inducida en musgos de la especie *Hypnum amabile* expuestos en cinco diferentes sitios de la Ciudad de México y zona metropolitana.

p. 52
2018

Palabras clave: Genotoxicidad, ensayo cometa, contaminación atmosférica, *Hypnum amabile*.

Agradecimientos

Agradezco en primer lugar a mí tutora, la Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo, por haberme aceptado en su grupo de trabajo, por las enseñanzas, consejos y apoyo que me brindó a lo largo de mi estancia en el Laboratorio de Genotoxicología y Mutagénesis Ambiental y sobre todo por la oportunidad que me otorgó para trabajar en este gran proyecto.

Agradezco a la Dra. Josefina Cortés Eslava, por el apoyo técnico para el desarrollo de la presente tesis, así como por compartir sus conocimientos, por la paciencia y constancia que tuvo para formarme dentro del laboratorio, pero sobre todo por su solidaridad y consejos que me otorgó en los momentos difíciles.

Al Dr. Cesar Damián Alonso Murillo, por su apoyo incondicional y sus enseñanzas.

Agradezco a mi jurado, por el tiempo que dedicaron para la revisión de mi trabajo, en especial por sus consejos y opiniones para mejorarlo.

A mis compañeros del Centro de Ciencias de la Atmósfera, por su apoyo y amistad, en especial a la M. en C. Denisse Josefina Badillo Velázquez por su guía y lecciones dentro del laboratorio.

A la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Ciudad de México por la beca otorgada para la realización de la presente tesis a través del proyecto SECITI/057/2016.

Al Centro de Ciencias de la Atmósfera por permitirme hacer uso de sus instalaciones, por su equipo de trabajo y en especial a Victoria Carrillo Rodríguez por su valiosa amistad y consejos.

Y finalmente agradezco de todo corazón a la Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM.

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi familia, por apoyarme en todas mis decisiones, aconsejarme y escucharme. A ti mamá, por mantenerte siempre firme y fuerte ante toda circunstancia, por tus enseñanzas, cariño y amor. A ti papá por siempre estar a mi lado, por compartir conmigo tu sabiduría y amor por la vida, pero sobre todo por formarme como el hombre que soy hoy en día.

A mis tíos Guillermo Franco Altamirano y Guadalupe Vargas García por siempre estar al tanto de mí, por su amor y cariño, y a mis primos Uriel y Fabián Franco Vargas por su apoyo y lecciones de la vida.

A mi tía Guadalupe Trinidad Zavala Padilla y mi tío Carlos Segovia Urbano, por sus enseñanzas, consejos y pasión por la ciencia.

A mis amigos que han estado a lo largo de mi vida (Noel, Luis, Diego, Arturo, Toño y Richie). Gracias por estar siempre conmigo.

A mis amigos que conocí en la carrera (Ally, Adi, Vero, Mau, Daniel, Pepe), por esos grandiosos momentos que compartimos a lo largo de este tiempo y la grandiosa amistad que forjamos.

A Janet Rentería García, por compartirme sus conocimientos, apoyarme, escucharme y motivarme.

Para mí es una gran meta alcanzada en la vida, pero aún quedan muchas por delante.

Si lo observas, veras un pequeño punto. Eso es aquí. Eso es nuestro hogar. Eso somos nosotros. En él, ha vivido todo aquel de quien has escuchado alguna vez, todo ser humano que ha existido, vivió su vida ahí, en una mota de polvo suspendida en un rayo del sol.

La tierra es un pequeño escenario en la gran arena cósmica. Nuestro planeta es una solitaria mancha envuelta en la gran penumbra espacial. En nuestra obscuridad - en toda esta vastedad – no hay ninguna señal de que la ayuda vendrá de cualquier otro lugar para salvarnos de nosotros mismos. La Tierra es el único planeta que alberga vida, no existe ningún otro lugar, al menos en un futuro cercano, al cual nuestra especie pueda migrar, ¿Visitar?, sí, ¿Establecerse?, aún no. Nos guste o no, por el momento la tierra es donde tenemos que quedarnos. Para mí, esto recalca nuestra responsabilidad para tratarnos con amabilidad y compasión unos a otros para preservar y cuidar ese pálido punto azul, el único hogar que hemos conocido. — Carl Sagan, “Pale blue dot”, 13 de octubre, 1994.

Contenido

Resumen	1
Introducción	3
Contaminación mundial	3
Ciudad de México	3
Tipos de contaminantes.....	4
Metales pesados	5
Efectos en la salud	6
Plantas.....	7
Técnicas de detección de daño genotóxico	8
Antecedentes.....	10
Musgos como biomonitores de contaminación atmosférica	10
Justificación	12
Objetivo general	13
Objetivos específicos	13
Hipótesis.....	13
Materiales y métodos	14
Recolección y aclimatación del musgo	14
Exposición del musgo	15
Recolección y procesamiento de muestras	15
Ensayo cometa.....	16
Aislamiento de núcleos	16
Lisis	17
Electroforesis	17
Neutralización y fijación	17
Tinción, observación de portaobjetos y registro de núcleos	17
Análisis estadístico	18
Análisis de metales pesados	19
Procesamiento, secado y pulverización del musgo	19
Análisis de metales pesados en muestras pulverizadas	19
Análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos	20
Resultados	21
Ensayo cometa.....	21
Análisis de contaminantes presentes en los musgos	25

Metales pesados	25
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	29
Discusión.....	32
Conclusiones	44
Referencias.....	45

Resumen

La Ciudad de México (CDMX) ha sido catalogada como una de las más contaminadas del mundo, su relieve, las inversiones térmicas y la alta radiación solar por temporadas llegan a ser factores que evitan la dispersión de diversos agentes tóxicos. Se tiene conocimiento de los efectos perjudiciales de la contaminación en la salud de las personas a largo plazo, diferentes tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y respiratorias han sido relacionadas a la mala calidad del aire.

Con el fin de relacionar los efectos de la contaminación atmosférica con la respuesta biológica se planteó el uso del musgo de la especie *Hypnum amabile* como biomonitor del efecto genotóxico de la contaminación del aire, exponiéndolo en 5 estaciones de monitoreo ambiental en la CDMX y zona metropolitana (ZM) (Coyoacán, Iztapalapa, La Merced, San Agustín y Tlalnepantla) por el periodo de noviembre de 2016 a junio de 2017 y comparando los resultados contra un testigo que se mantuvo en una cámara de crecimiento con condiciones de temperatura, humedad y luz controladas en el Centro de Ciencias de la Atmosfera. Para esto se utilizó la técnica de electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa), ésta es una prueba que detecta la ruptura de cadenas de DNA y evidencia el daño genotóxico causado por la exposición prolongada a los contaminantes ambientales. Cada mes se recolectó el musgo expuesto en las diferentes estaciones, se hicieron cortes de los individuos para aislar los núcleos y se observó el daño inducido al DNA.

También se realizó el análisis químico de los musgos expuestos el cual reveló la presencia de los metales pesados: Al, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Cd, Sb and Pb y entre 16 y 25 hidrocarburos aromáticos policíclicos, entre los que destacan compuestos como benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, y benzo(b)fluoranteno, que se ha demostrado que son compuestos mutagénicos y carcinogénicos.

Los resultados obtenidos mostraron un mayor daño genotóxico en los musgos expuestos durante los meses de mayo y junio, además de los que permanecieron

expuestos por 8 meses que finalmente presentaron acumulación de daño. A los datos obtenidos se les aplicó análisis de varianza y la prueba post hoc Kruskal-Wallis $p < 0.001$ que mostraron diferencias significativas entre las estaciones y el testigo, siendo La Merced la estación que presentó más daño en la mayoría de los meses.

Se comprobó que el análisis de los musgos proporciona información sobre la presencia de contaminantes atmosféricos en los diferentes sitios de la CDMX y ZM, así como su patrón espacial y temporal, la forma en que son acumulados y su capacidad de inducir daño en la especie *Hypnum amabile*, revelando que puede ser empleado como biomonitor de daño al DNA.

Introducción

Contaminación mundial

La contaminación ambiental se ha convertido en uno de los problemas actuales más grandes a los cuales se enfrenta la humanidad en temas de salud pública, la contaminación del aire, agua y suelos está caracterizada principalmente por la urbanización e industrialización a gran escala (Kumar, 2016). En la última década la exposición del ser humano a contaminantes ambientales ha aumentado, especialmente de partículas suspendidas (PM), sin embargo, éste se encuentra expuesto también a metales pesados, gases atmosféricos e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) que, de igual manera, forman parte del conjunto de contaminantes atmosféricos hallados principalmente en las regiones urbanas de muchos países (Rai, 2013).

La contaminación atmosférica es un problema severo que ha captado la atención tanto de investigadores como de gobiernos que buscan reducir el impacto que este fenómeno tiene tanto en la población humana como en los ecosistemas que los rodean. El aumento de emisiones contaminantes está promovido principalmente por la sobrepoblación humana y el cambio de uso de suelo, especialmente en los países en desarrollo, pero aún más visible en los países industrializados (Mayer, 1999).

Ciudad de México

La CDMX cuenta con una población de 21 millones de habitantes (CONAPO, 2017), además, presenta ciertas características que afectan la dispersión de los contaminantes. Se encuentra aproximadamente a una altitud de 2,200 metros sobre el nivel del mar lo que la expone a altos niveles de radiación y promueve efectos meteorológicos como las inversiones térmicas, también está rodeada por distintas montañas y tiene altas emisiones de contaminantes atmosféricos (Weitzenfeld,

1992). Se tiene calculado que alrededor de 5 millones de automóviles circulan en la zona metropolitana (SEDEMA, 2016), así como también las 35 mil industrias que emiten contaminantes diariamente a la atmósfera (Molina y Molina, 2005), todo esto en conjunto la convierten en una de las ciudades más contaminadas del mundo (WHO, 2016).

Tipos de contaminantes

La actividad antropogénica da origen a una gran variedad de contaminantes atmosféricos, derivados principalmente de la quema de combustibles fósiles en vehículos automotores y la liberación de gases contaminantes por industrias, plantas de energía, refinerías de combustibles, etc. (Piraino et al., 2006).

Se ha detectado que la fuente más importante de emisión de gases contaminantes definitivamente son los vehículos automotores, principalmente en las áreas urbanas. La flota vehicular ha aumentado 10 veces su tamaño de 1950 al 2000 y se tiene estimado que se duplicará para el año 2030. La expansión de las ciudades favorece que los pobladores de las mismas se desplacen por distancias y tiempos más largos ya sea en transporte público o en automóvil particular, cualquiera de los 2 funcionan con combustibles fósiles (Mayer, 1999).

La dispersión de los contaminantes atmosféricos depende de las condiciones meteorológicas como la estabilidad atmosférica, velocidad, dirección e intensidad del viento como también de la frecuencia y magnitud de las lluvias, pero también depende de las condiciones topográficas e incluso de las edificaciones urbanas (Mayer, 1999).

Metales pesados

Los metales pesados son liberados al ambiente a partir de fuentes naturales y antropogénicas, la emisión de éstos se produce principalmente por la extracción, comercialización y uso en combustibles (Nriagu, 1980). Los metales son uno de los elementos más perjudiciales debido a su alta toxicidad y persistencia en el ambiente, éstos pueden ser peligrosos si se encuentran en altas concentraciones. La quema de combustibles fósiles libera metales pesados al ambiente. Metales como el Cr, Cu, Ni, Cd, Fe y Pb pueden ser encontrados en las partículas suspendidas totales que a su vez son atribuidos a la flota vehicular (Fernández et al., 2000).

Algunos metales pueden ser importantes para la producción de fitohormonas, auxinas y proteínas necesarias para el crecimiento y desarrollo de las plantas, ejemplo de estos metales son el zinc, cobre, hierro y azufre. No obstante, si las concentraciones de éstos se ven alteradas, las plantas pueden presentar cambios en el crecimiento, deterioro de órganos e incluso la pérdida de cultivos (Kumar, 2016).

Los metales pesados tienen efectos en los diferentes órganos de las plantas, siendo la raíz y la membrana plasmática las estructuras celulares que se encuentran principalmente en contacto. Las células de las raíces tienen cargas negativas e interaccionan directamente con las cargas positivas de los metales presentes en el suelo, es de esta manera como los metales se transportan al interior de la planta (Navarro et al., 2007).

Por otro lado, la membrana plasmática es afectada por la presencia de metales pesados, según el metal presente será el efecto causado como la desactivación de proteínas esenciales de membrana, la oxidación y entrecruzamiento de proteínas y el cambio de propiedades de los lípidos presentes en la membrana (Navarro et al., 2007).

Otros tipos de emisiones son los gases atmosféricos como el monóxido y dióxido de carbono (CO y CO₂, respectivamente), los óxidos nitrosos (NOX), el dióxido de azufre (SO₂), el ozono (O₃) y las partículas menores a 10 y 2.5 µm.

Efectos en la salud

La contaminación atmosférica ha amenazado tanto al medio como a los organismos vivos, la mezcla de diversos compuestos tóxicos presentes en la atmosfera es considerada como una posible causa de cáncer en diversos organismos (Piraino et al., 2006).

Se conoce el efecto genotóxico de ciertos agentes químicos, ejemplo de éstos son los metales pesados, los hidrocarburos alifáticos halogenados y compuestos aromáticos policíclicos. El desarrollo de cáncer, enfermedades cardiovasculares, la aparición de ciertos genes recesivos y heredables y otras enfermedades degenerativas han sido relacionadas como posibles efectos de la mezcla de gases contaminantes presentes en la atmósfera (Grant, 1998).

Asimismo, material particulado (<10 µm, PM₁₀) ha sido asociado a diversas enfermedades respiratorias y al aumento en tasa de aparición de cáncer pulmonar. Las PM₁₀ son una mezcla de compuestos orgánicos e inorgánicos, por ejemplo, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), compuestos halogenados, nitratos, ácidos, metales pesados, agua, etc. (Gábelová et al., 2004).

Los HAPs son compuestos que se encuentran de manera omnipresente en el ambiente, el origen de éstos puede ser natural como la combustión incompleta de materia orgánica o antropogénica como las emisiones de vehículos automotores, emisiones de industrias y plantas de energía, minería, entre otros (Abdel-Shafy y Mansour, 2016).

Los HAPs son compuestos inertes que se activan por vía metabólica y son capaces de formar aductos en el DNA y a su vez causar diversas alteraciones cromosómicas como deficiencias, sustitución de bases, corrimiento en el marco de lectura, mutaciones, etc. (Baird et al., 2005).

La ruptura de cadenas del DNA es causada por la exposición a contaminantes, este evento ha sido tomado como medida para determinar el daño al DNA (Gábelová et al., 2004).

Plantas

Las plantas al igual que los animales se encuentran expuestas a los contaminantes, éstas captan la mayor cantidad de agentes tóxicos atmosféricos como los gases y PM presentes en el ambiente. Comúnmente las partículas suspendidas tienden a depositarse en la superficie foliar de las plantas terrestres, es por esto que pueden ser excelentes indicadores de la calidad del aire (Kumar, 2016; Gómez-Arroyo et al., 2018a,b).

Usualmente, la exposición prolongada a contaminantes puede causar daños crónicos y agudos en las plantas. La aparición de heridas necróticas puede estar relacionada con la alta tasa de exposición a gases en poco tiempo, otros efectos como la baja tasa de crecimiento y casi nula producción de brotes han sido observados en plantas expuestas a bajas concentraciones de gases contaminantes por largos periodos de tiempo. Dependiendo de la capacidad de respuesta de la planta frente a los contaminantes presentes pueden alterarse diversos procesos bioquímicos, pues son capaces de absorber e integrar los contaminantes en su sistema (Agbaire y Esiefarienrhe et al., 2009).

Las plantas pueden ser excelentes organismos para la medición o el análisis toxicológico de ciertos contaminantes, éstas reaccionan a la presencia de otros agentes en tiempos de exposición que van desde minutos hasta varias semanas.

Se pueden realizar muestreos, son de manejo sencillo y más económicas que otras metodologías de medición y análisis ambiental (Piraino et al., 2006).

Diversos métodos de análisis de daño genotóxico han sido aplicados en las plantas, por ejemplo, Pereira et al. (2013) realizaron ensayos de micronúcleos en *Tradescantia pallida* concluyendo que puede ser utilizada como biomonitor para ensayos de respuesta genotóxica por contaminación ambiental.

Las plantas al encontrarse presentes y convivir en el mismo medio que los seres humanos pueden ser excelentes indicadores de la calidad del aire (Amato-Lourenco et al., 2017; Gómez-Arroyo et al., 2018a,b).

Técnicas de detección de daño genotóxico

A lo largo de los años se han desarrollado distintas técnicas para el análisis de daño al DNA por factores químicos, físicos o biológicos, ejemplo de éstas son, la prueba de micronúcleos, aberraciones cromosómicas, ensayo de Ames, hibridación fluorescente *in situ* (FISH por sus siglas en inglés) y recientemente el ensayo cometa o electroforesis unicelular (Tice et al., 2000).

Östling y Johanson (1984) fueron los primeros en desarrollar la técnica de electroforesis unicelular en microgel para detectar el daño inducido en el DNA. La metodología consiste en colocar en laminillas células embebidas en agarosa, a continuación, las células se lisan con detergentes y sales en altas concentraciones. Posteriormente, se realiza una electroforesis, las células que presentan incremento en las rupturas de doble cadena de DNA muestran incremento en la migración de éste hacia el ánodo. El método en su versión neutra mostró grandes alcances para la identificación de daño genotóxico (Östling y Johanson, 1984).

Posteriormente, Singh et al. (1988) desarrollaron la misma técnica, pero bajo condiciones alcalinas (pH > 13), que detecta rupturas de cadena sencilla en el DNA,

estas últimas están asociadas a la reparación por escisión incompleta de secuencias dañadas del DNA y a sitios alcalinos lábiles, además de que también permite identificar el daño por agentes oxidantes.

El daño genotóxico puede ser evaluado a través del momento de la cauda, este valor se define como el producto de la longitud recorrida por los fragmentos de DNA y la intensidad emitida por los mismos tras teñirlos con un fluorocromo. Mientras más alto sea el valor del momento de la cauda mayor será el daño genotóxico provocado por los agentes contaminantes (Gábelová et al., 2004; Rodríguez-Rey et al., 2016).

La electroforesis unicelular alcalina es una técnica que se ha aplicado en sistemas vegetales para la identificación de daño genotóxico inducido por distintos tipos de contaminantes (Koppen et al., 1996; Gómez-Arroyo et al., 2018a).

Antecedentes

Musgos como biomonitores de contaminación atmosférica

Los musgos son plantas que se encuentran presentes en la mayoría de los ecosistemas terrestres, sin embargo, no son organismos dominantes debido a su pequeño tamaño y a su incapacidad para evitar la pérdida de agua. A pesar de esto, son organismos que toleran fácilmente temperaturas bajas y altas sin sufrir daño, la carencia de nutrientes, el exceso o falta de luz, etc. Además, poseen una característica especial que solo algunas de las plantas superiores tienen: pueden sobrevivir en un estado de latencia ante la deshidratación y son capaces de recuperar sus funciones vitales al ser rehumedecidos (Abaigar et al., 2004).

Los musgos cumplen en la naturaleza funciones ecológicas fundamentales, almacenan grandes cantidades de agua en los bosques, evitan la erosión de los suelos, asimilan nutrientes minerales de las lluvias, etc. (Abaigar et al., 2004). Son plantas no vasculares capaces de absorber sus nutrientes y humedad directamente de la atmósfera, a diferencia de las plantas superiores no poseen un tejido conductor complejo ni raíces capaces de absorber los nutrientes necesarios para su desarrollo. (Valencia, 2014).

Estos organismos pueden ser de gran utilidad al ser empleados como biomonitores de contaminantes puesto que es posible encontrarlos en cualquier parte. Además, tienen una gran área de exposición, esto permite la buena movilidad de los metales a lo largo del organismo, finalmente los metales se depositan tanto en la parte externa de la membrana como en la pared celular (Natali et al., 2016).

Existen diversos estudios desde 1970 en donde se han empleado musgos como bioindicadores de contaminantes, en especial como detectores de metales pesados ya que pueden acumularlos en la pared celular. (Abaigar et al., 2004). El

almacenamiento de metales pesados en las paredes celulares de estas plantas se debe a la característica conformación de la misma, se ha detectado que éstas contienen diferentes fitoquelatinas, las cuales son proteínas que “secuestran” a los metales pesados debido a su configuración química tan singular. La presencia de estas proteínas de unión a metales o iones específicos se piensa que son con fines de protección al organismo, pues aísla los metales en vacuolas o en sitios en donde el efecto tóxico de estos metales no puede causar ningún tipo de daño a las plantas (Krzyszowska et al., 2016).

Estas estrategias de acumulación han sido observadas en plantas hiperacumuladoras de metales pesados, en especial de las que acumulan plomo (Pb) como el Álamo híbrido (*Populus tremula L. x tremuloides* Michx.). De ésta manera se considera que las plantas que crecen cerca de minas tienen estos mecanismos de defensa, pues en las áreas cercanas a las mismas se han detectado grandes cantidades de metales de diferentes tipos dada la actividad que se lleva a cabo en las minas (Krzyszowska, 2011).

Asimismo, en atmósferas contaminadas se han utilizado diferentes especies de musgos para obtener datos, acerca del depósito de metales pesados, cambios en el patrón de acumulación, difusión de emisiones a larga distancia y fuentes locales de emisión (Chakraborty y Paratkar, 2006). Así como en diferentes localizaciones geográficas como Londres (Vingiani et al., 2015), París (Natali et al., 2016), Región Toscana (De Nicola et al., 2013), Cerdeña en Italia (Cortis et al., 2016), Estambul, Turquía (Coskun et al., 2009), Girona (Rivera et al., 2011) y Galicia (Ares et al., 2014), España, Bulgaria (Hristozova et al., 2014), Nigeria (Ite et al., 2014), Albania (Gjikaj et al., 2015), China (Chen et al., 2015), entre otros.

También se ha descrito la capacidad de los musgos de absorber y acumular hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Spagnoulo et al., 2017), por lo que han sido utilizados como biomonitores en diversos sitios que presentan atmósferas con alto grado de contaminación por HAPs (Ares et al., 2009; De Nicola et al., 2013; Vulkovič et al. 2015; Ite et al., 2014).

Justificación

El uso de biomonitores para el estudio y medición de los contaminantes presentes en la atmosfera es una excelente opción, tienen un manejo sencillo, son más económicos y son integrativos (Natali et al., 2016). Los métodos físicos y químicos con los que se cuenta hoy para el análisis del aire presente en la atmósfera son ineficientes para determinar el posible riesgo a los organismos (Lowry, 1995). Los métodos vivos como organismos centinela o marcadores biológicos permiten una medición directa de los efectos cito y genotóxicos de los contaminantes presentes en el ambiente, cuyos datos no pueden otorgar un método físico ni químico, pero son útiles para establecer el posible efecto en otros seres vivos (Piraino et al., 2006).

En la actualidad existen gran variedad de estudios donde se han utilizado musgos como organismos bioacumuladores de metales pesados (Harmens et al., 2015) e incluso de HAPs (Spagnoulo et al., 2017), empleados principalmente por su gran capacidad de compartamentalizar dichos compuestos. Sin embargo, no se han realizado estudios del efecto genotóxico que tienen dichos compuestos sobre estos organismos.

Entre los principales contaminantes atmosféricos presentes en la Ciudad de México y zona metropolitana determinados por la Red de Monitoreo Automático (RAMA) se encuentran gases como el ozono, monóxido de carbono, dióxido de nitrógeno, óxidos de azufre, partículas menores a 10 μm (PM10) y menores a 2.5 μm (PM2.5), hidrocarburos aromáticos policíclicos (Villalobos-Pietrini et al., 2006). También están presentes metales pesados como cobre, zinc y aluminio (Quintana et al., 2011), diferentes agentes biológicos (Calderón-Ezquerro et al., 2018). Todos estos elementos constituyen un problema complicado y surge la necesidad de realizar estudios que permitan verificar el efecto que provocan en los organismos, por lo que en este estudio se plantean los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar la respuesta del musgo *Hypnum amabile* como bioindicador del efecto genotóxico de la contaminación del aire mediante la exposición a diferentes estaciones de la Red de Monitoreo Ambiental de la CDMX y ZM: Coyoacán, Iztapalapa, La Merced, San Agustín y Tlalnepantla, evaluando el daño al DNA mediante la técnica de electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa).

Objetivos específicos

- Comparar en las 5 zonas de estudio el nivel de daño al DNA inducido por los contaminantes presentes en la atmósfera durante la época de lluvias y de secas.
- Analizar la presencia de metales pesados e hidrocarburos aromáticos policíclicos en los musgos expuestos cada mes y en el acumulado de 8 meses.

Hipótesis

Dado que los musgos son organismos que absorben los nutrientes y humedad del ambiente, sí la especie *Hypnum amabile* es expuesta a una atmosfera contaminada como la de la CDMX y ZM, éstos absorberán contaminantes como metales pesados e HAPs, los cuales podrían inducir daño al DNA que podría ser observado y cuantificado por la técnica del ensayo cometa.

Materiales y métodos

Recolección y aclimatación del musgo

En octubre de 2016, se recolectaron en Chignahuapan, Puebla, México (Fig. 1), musgos de la especie *Hypnum amabile* (Fig. 2), para ello se seleccionaron “tapetes” en una zona boscosa y se transportaron al Centro de Ciencias de la Atmósfera. Posteriormente, se separaron en bolsas de red y se almacenaron en una cámara de crecimiento con temperatura y humedad regulada para aclimatarlos durante un mes.

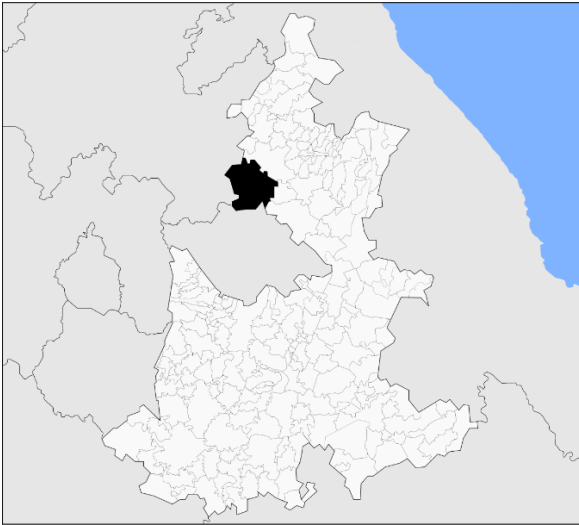


Figura 1. Municipio de Chignahuapan, Estado de Puebla, México.



Figura 2. *Hypnum amabile*

Exposición del musgo

Se instalaron soportes y redes con iguales cantidades de musgos en 5 distintos sitios de monitoreo ambiental, 3 de ellos en la CDMX (Coyoacán, Iztapalapa y La Merced) y 2 en la ZM (Ecatepec y Tlalnepantla). Al inicio se colocaron 6 bolsas con musgo en cada una de las estaciones, 3 de ellas se expusieron por 8 meses (tiempo de duración total del estudio) y las otras 3 fueron colocadas al principio y retiradas al final de cada mes de exposición que comprendió de noviembre de 2016 a junio de 2017. Cada tercer día se hizo un mantenimiento manual con aspersores y agua durante los periodos mencionados anteriormente.

Recolección y procesamiento de muestras

A final de cada mes, de cada estación se recolectaron 3 bolsas y se colocaron 3 bolsas con musgo fresco para el siguiente mes de exposición, a 2 de las bolsas recolectadas se les aplicó el siguiente procedimiento:

1. Se tomó una pequeña cantidad de individuos del total de musgo para realizar el ensayo cometa (Fig. 3).
2. Al resto se les quitó el sustrato para mantener solamente a los individuos, estos fueron destinados al análisis de metales pesados.

Para el último mes se recolectaron todas las bolsas de las distintas estaciones (en total 6 en cada una, 3 de ellas correspondientes al mes de junio y otras 3 a los 8 meses de exposición a las cuales se les aplicó el mismo procedimiento anteriormente mencionado.



Figura 3. Muestras de *Hypnum amabile* utilizados para el ensayo cometa.

Ensayo cometa

Aislamiento de núcleos

Se utilizaron 2 individuos de cada estación, además del testigo. Éstos fueron lavados cuidadosamente con agua desionizada para eliminar cualquier contaminante superficial. Después se colocaron en cajas Petri de vidrio, éstas fueron colocadas sobre hielo y a continuación se le añadieron 300 μL de amortiguador salino de fosfatos (PBS por sus siglas en inglés) con pH 7.5 a cada una. Posteriormente, se realizaron cortes transversales sobre el caulidido de cada individuo dentro del amortiguador y se dejó por 10 minutos para obtener una precipitación de núcleos. Después de este intervalo se prepararon los portaobjetos con los núcleos embebidos en agarosa de punto de fusión bajo, para lo cual se tomaron, con ayuda de una micropipeta, 50 μL de la suspensión de núcleos y se colocó cuidadosamente en un microtubo que contenía 50 μL de agarosa de punto de fusión bajo al 1%. Inmediatamente se mezcló suavemente la suspensión de núcleos con la agarosa y se tomaron 80 μL de la mezcla para colocarla sobre un cubreobjetos y se empalmó con un portaobjetos previamente cubierto con agarosa de punto de fusión normal al 1% evitando la formación de burbujas de aire, tras la solidificación de ésta se colocó una tercera capa de agarosa de punto de fusión bajo para sellar cualquier poro que estuviera presente.

Lisis

Los portaobjetos con núcleos en agarosa previamente solidificada fueron colocados en una caja de fondo plano de manera ordenada en posición horizontal, en ésta se vertieron 35 mL de solución lisis (2.5 M de NaCl, 0.1 M de EDTA, 10 mM de Tris, 10 N de NaOH, 10% DMSO, 1% Triton X-100, agua desionizada y pH 10) y se dejó en reposo por 1 hora a 4 °C y en oscuridad.

Electroforesis

Transcurrida una hora, los portaobjetos fueron retirados de la solución de lisis, secados y colocados en una cámara de electroforesis, a continuación, se añadió el amortiguador de electroforesis (10 N NaOH y 200 mM EDTA y pH > 13) para cubrir por completo los portaobjetos y se dejó reposar por 15 minutos para permitir el desenrollamiento del DNA, todo esto a 4 °C. Transcurrido este lapso, se inició la electroforesis por 15 minutos a 25 Voltios y 300 mA.

Neutralización y fijación

Tras la electroforesis los portaobjetos fueron retirados de la cámara, secados y neutralizados con una solución de Tris a pH 7.5. A continuación fueron fijados colocándolos en una caja Coplin con etanol al 100% por 5 minutos.

Tinción, observación de portaobjetos y registro de núcleos

Para la observación se empleó un microscopio de fluorescencia marca Zeiss modelo Axiostar Plus equipado con un filtro de excitación de 515 – 560 nm y un filtro de barrera de 590 nm, las laminillas fueron teñidas con bromuro de etidio (0.2 µg/mL) y observadas con el objetivo de 40X (Fig. 4). Los núcleos fueron registrados con el programa Comet Assay IV (Perceptive Instruments), se encontraron núcleos de

diversos tamaños, algunos con y otros sin daño, el criterio de daño utilizado fue el momento de la cauda registrado por el software. Los datos fueron guardados para su posterior análisis.

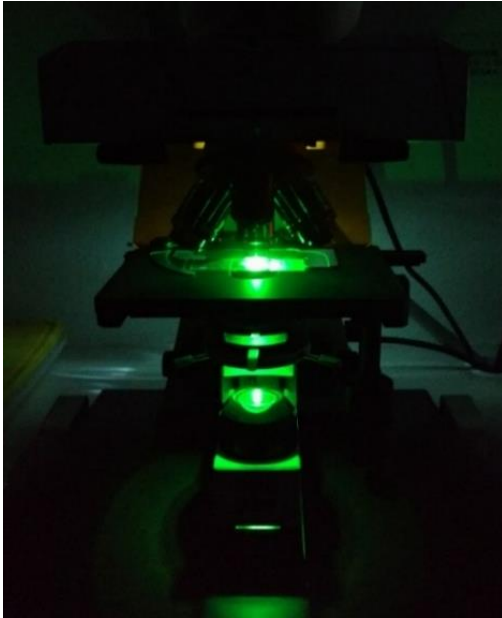


Figura 4. Microscopio óptico de fluorescencia marca Zeiss utilizado para observar las laminillas y con ayuda del programa Comet Assay IV (Perceptive Instruments) analizar los núcleos.

Análisis estadístico

Se realizaron pruebas estadísticas sobre todos los resultados obtenidos de la lectura de laminillas de ensayo cometa utilizando el programa Statistica 8.0 Stat Soft, Inc. Se aplicó un ANOVA y la prueba post hoc Kruskal-Wallis $p < 0.0001$. Así como una regresión lineal múltiple para saber si existe correlación entre los metales pesados y los HAPS con el momento de la cauda con el programa Statistica 8.0 Stat Soft. Finalmente fueron graficados los resultados por mes de exposición junto con los acumulados.

Análisis de metales pesados

Procesamiento, secado y pulverización del musgo

Para el análisis de metales pesados, del total de musgo destinado para este protocolo se lavó la mitad para eliminar los contaminantes superficiales y el resto se dejó sin lavar (Fig. 5), después se secaron a 40 °C durante 6 días y se almacenaron para más adelante pulverizarlos; para esto se ocupó un molino de rotor GF marca FRITSCH, una vez pulverizadas las muestras fueron empaquetadas y etiquetadas para ser analizadas posteriormente.



Figura 5. Muestra de *Hypnum amabile* para el análisis de metales pesados.

Análisis de metales pesados en muestras pulverizadas

Se pesó 0.2 g de muestra y se adicionó 5 mL de HNO₃ grado ultrapuro. Las muestras se dejaron en pre-digestión una noche bajo la campana de extracción. Posteriormente, se empleó un digestor UltraWAVE de la marca Milestone para digerir por completo las muestras. Al terminar el proceso de digestión por microondas, las muestras se enfriaron y se aforaron a 50 mL de HNO₃ al 2%. Se filtraron, etiquetaron y almacenaron a 4 °C hasta su posterior análisis.

Para el análisis de muestras se realizaron mediciones por el método de espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente (por sus siglas en ingles ICP-MS), modelo iCAP Qc de la marca Thermo Scientific, en el

Laboratorio ICP-MS del Instituto de Geofísica de la UNAM. El instrumento fue calibrado y optimizado para el correcto examen de información.

Análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos

Se realizó una extracción líquido-sólido del musgo completo, para lo cual se tomaron 20 g de musgo, se adicionaron 16 HAP deuterados y se extrajeron en la celda a microescala modificada, empleando 50 mL de diclorometano y las condiciones óptimas de extracción obtenidas del diseño de experimentos. En los tres casos, del aforo final a 1 mL, se tomó una alícuota de 80 μ L y se adicionó otra de 20 μ L con 6 HAP fluorados como estándares internos. El análisis instrumental se llevó a cabo por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Resultados

Ensayo cometa

Durante la observación de las laminillas obtenidas en el ensayo cometa se registraron núcleos con daño de distintos valores y algunos otros que no presentaban un daño aparente (Figs. 6-8).

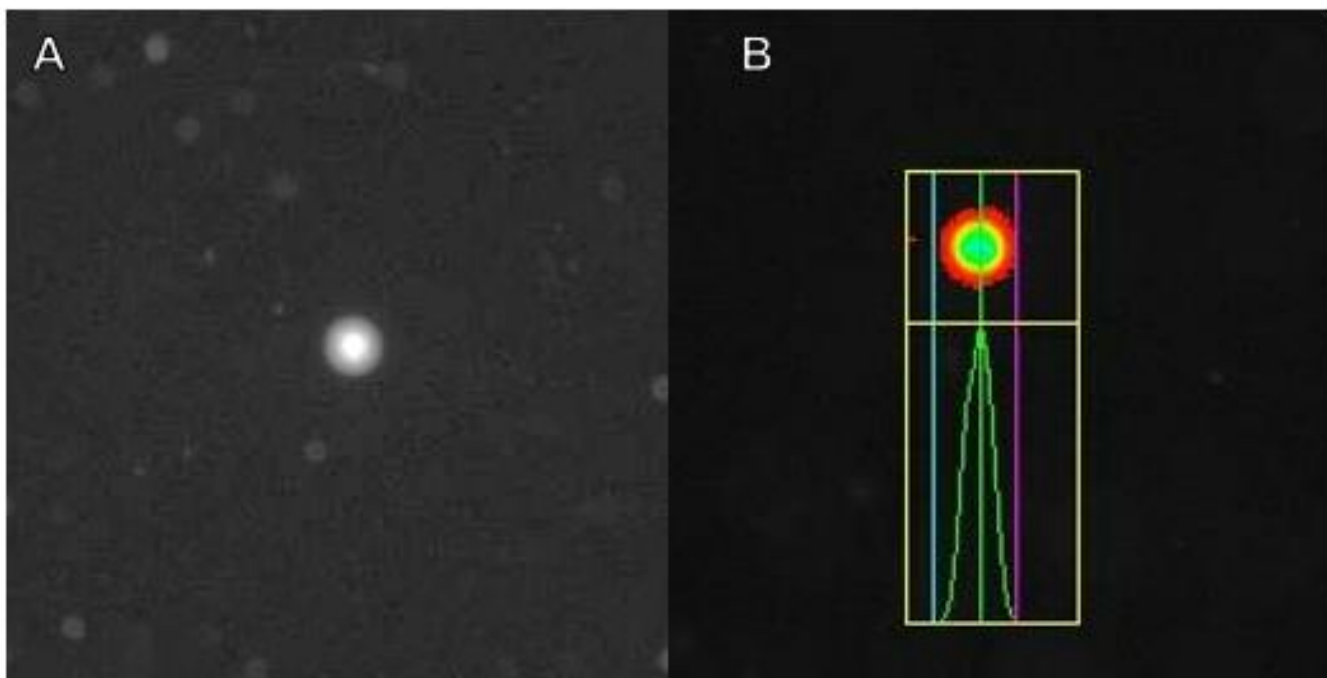


Fig. 6. A) Núcleo sin daño. B) Núcleo sin daño marcado con el programa Comet Assay IV (Perceptive Instruments).

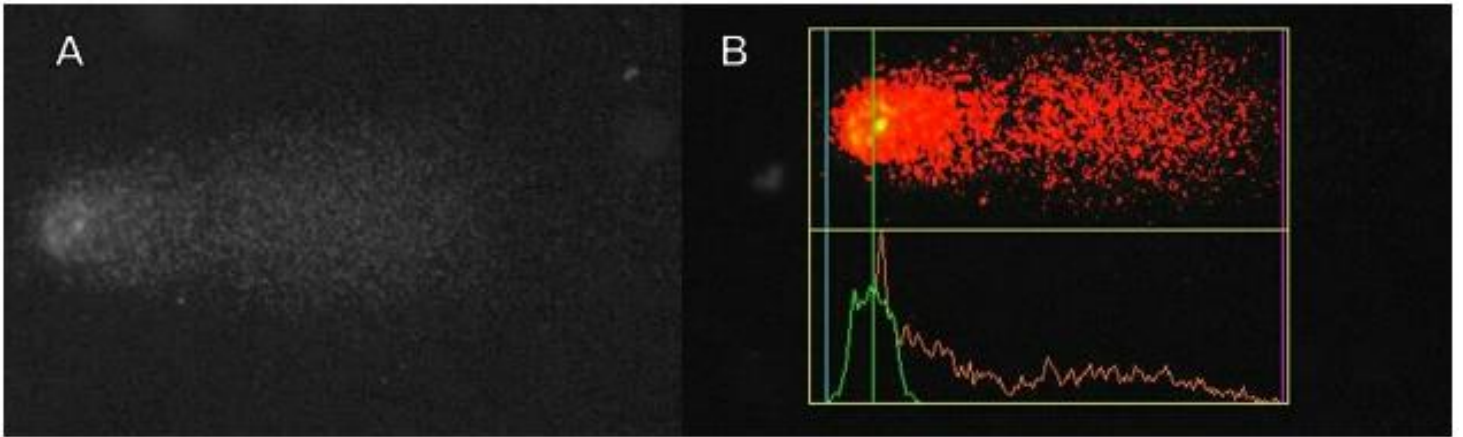


Fig. 7. A) Núcleo con daño. B) Núcleo con daño marcado con el programa Comet Assay IV (Perceptive Instruments).

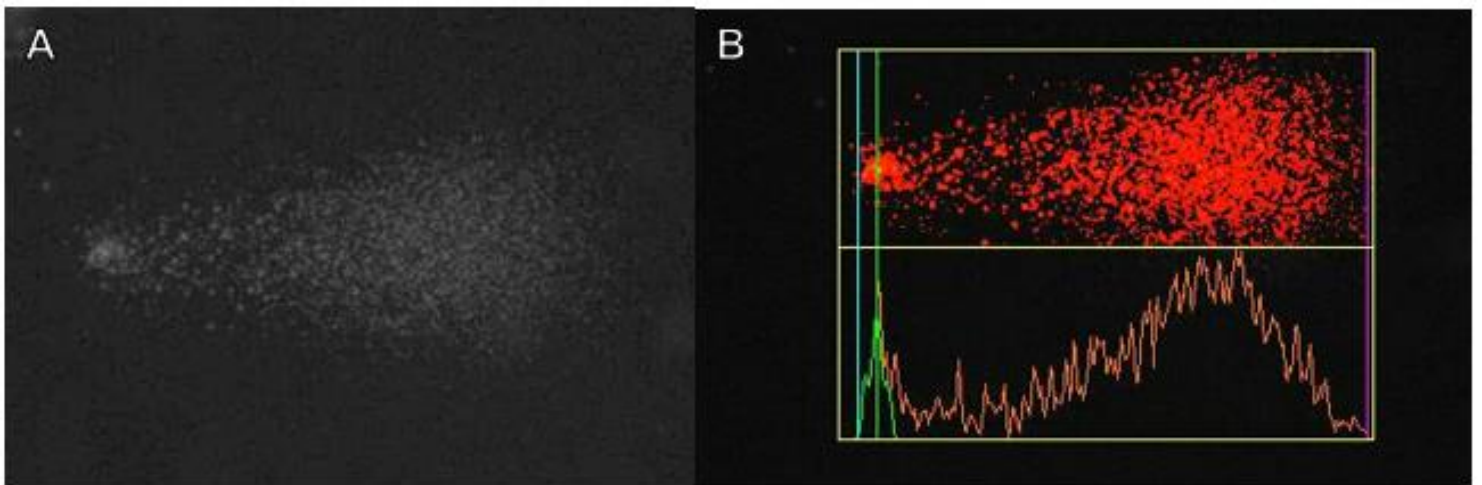


Fig. 8. A) Núcleo con daño severo. B) Núcleo con daño severo marcado con el programa Comet Assay IV (Perceptive Instruments).

Se muestran las gráficas de los resultados obtenidos del daño genotóxico provocado en los musgos expuestos en los cinco sitios de la CDMX y ZM, pertenecientes a la temporada de secas-frías (noviembre, diciembre de 2016 y enero de 2017), secas-cálidas (febrero, marzo y abril de 2017), de los meses de lluvias (mayo y junio de 2017) y del acumulado de 8 meses (Fig. 9).

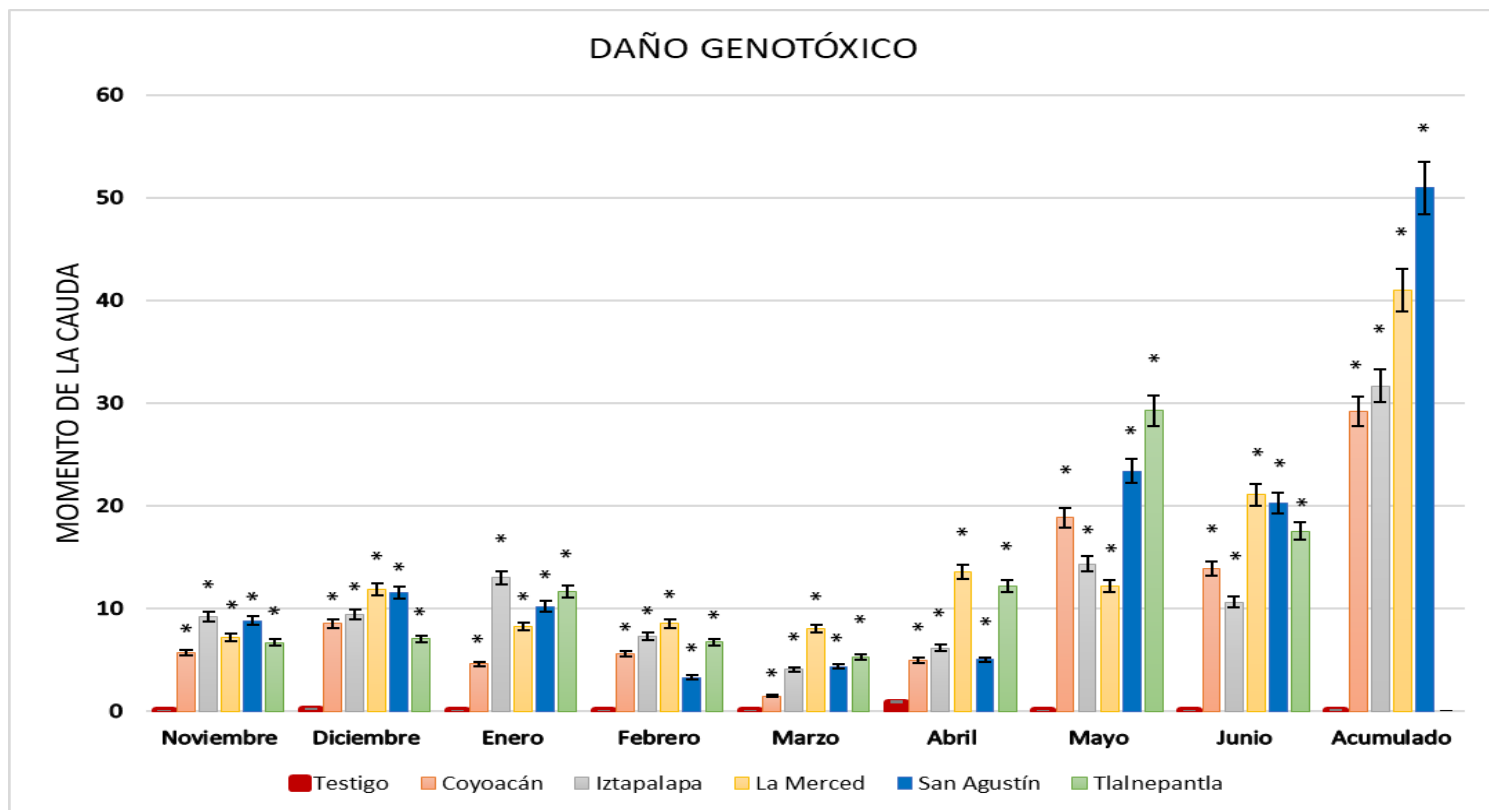


Fig. 9. Promedio del momento de la cauda \pm error estándar en el musgo *Hypnum amabile* expuesto durante noviembre de 2016 a junio de 2017 en diferentes sitios de la CDMX y ZM. *Indica la diferencia significativa entre el sitio de exposición y el testigo. ANOVA, post hoc Kruskal-Wallis $p < 0.001$.

Durante el mes de noviembre en todas las estaciones se presentaron diferencias significativas de los valores del momento de la cauda al ser comparadas con el testigo, que en todos los meses de exposición corresponde a los musgos que permanecieron en condiciones controladas sin contacto con contaminantes, siendo Iztapalapa la estación con el valor más alto.

En el mes de diciembre se repite nuevamente la tendencia de las 5 estaciones con diferencias significativas contra el testigo, siendo La Merced la que tuvo los valores más altos en este mes.

En enero se presentan en las 5 estaciones diferencias significativas en los valores del momento de la cauda, en esta ocasión Iztapalapa fue la que mostró los resultados más altos.

En febrero se vuelven a presentar diferencias significativas de los valores del momento de la cauda entre todas las estaciones contra el testigo, siendo el valor más alto la estación de La merced.

En el mes de marzo la estación de La merced presentó los valores más altos del momento de la cauda, sobresaliendo de las demás estaciones, sin embargo, tras realizar la prueba de Kruskal-Wallis todas las estaciones muestran diferencias significativas contra el testigo

En abril la estación de La Merced vuelve a sobresalir de las demás con los valores más altos, sin embargo, tras realizar la prueba de Kruskal-Wallis todas muestran diferencias significativas respecto al testigo

En el mes de mayo los valores obtenidos en el momento de la cauda fueron los más altos; sin tomar en cuenta el acumulado de 8 meses. En este mes todas las estaciones presentaron diferencias contra el testigo, siendo Tlalnepantla la que mostró los valores más altos.

En junio los valores del momento de la cauda vuelven a ser altos en general, pero no tan altos como los que se presentaron en mayo. En este mes la estación de La Merced presentó los valores de momento de la cauda más altos, sin embargo, todas las estaciones mostraron diferencias significativas contra el testigo.

Para el acumulado de 8 meses no existen datos en la estación de Tlalnepantla para poder comparar contra el testigo, el resto de las estaciones presentaron diferencias significativas con valores muy altos, San Agustín mostró los valores más altos y Coyoacán los más bajos, los valores del momento de la cauda de este grupo de musgos fue el más alto en comparación a los demás meses de exposición.

Análisis de contaminantes presentes en los musgos

Metales pesados

Los metales pesados detectados en los musgos que fueron expuestos durante los meses de noviembre de 2016 a junio de 2017 en las distintas estaciones de la CDMX y la zona metropolitana fueron: Aluminio (Al), Antimonio (Sb), Arsénico (As), Cadmio (Cd), Cobalto (Co), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Hierro (Fe), Manganeseo (Mn), Molibdeno (Mo), Níquel (Ni), Plomo (Pb), Vanadio (V) y Zinc (Zn), siendo los más concentrados: Al, Fe, Mn, Cu, Pb y Cr en las distintas estaciones y diversos meses (Tablas 1-3).

Tabla 1. Concentración de metales pesados en el musgo *Hypnum amabile* expuesto durante la temporada de secas-frías (noviembre, diciembre 2016 y enero 2017) en diferentes sitios de la ZM de la CDMX.

Meses	Al	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Mo	Cd	Sb	Pb
Noviembre														
Testigo	404	2	6	205	756	0.8	4	4	20	0.2	0.3	0.1	0.04	4
Coyoacán	3	8	18	483	2	1	11	41	69	0.3	9	0.5	0.2	7
Iztapalapa	899	4	8	312	875	0.6	6	56	31	0.3	5	0.3	0.1	6
La Merced	2252.8	7.1	11.9	408.3	2034.3	1.3	7.9	14.1	39.6	0.3	3	0.3	0.1	6
San Agustín	1082.7	4.5	16.4	281.8	1062.3	0.9	9.9	6.8	28.2	0.2	4	0.3	0.1	6
Tlalnepantla	1416.2	6.7	29.3	320.8	1382.3	1.3	17.1	15.6	44.3	0.3	5	0.93	0.1	17
Diciembre														
Testigo	384	2	5	177	704	0.6	3	5	18.8	<LD	0.3	0.1	0.05	3
Coyoacán	1	4	8	287	964	0.7	5	18	31	0.1	4	1	0.2	17
Iztapalapa	919	3	8	218	862	0.7	6	10	21	0.1	3	0.6	0.2	10
La Merced	863	4	13	230	858	0.7	8	15	25	0.08	4	0.2	0.2	5
San Agustín	865	3	6	194	794	0.6	4	7	21	0.07	2	0.3	0.1	5
Tlalnepantla	1	5	9	260	1	0.8	7	16	30	0.1	3	0.5	0.2	8
Enero														
Testigo	369	2	5	175	573	0.2	2	6.72	18.6	<LD	0.4	0.1	0.06	1
Coyoacán	1.2	5	9	355.6	1.1	0.9	6	51	28	0.2	4	0.1	0.1	4
Iztapalapa	932	4	5	328.3	840	0.7	4	29	26	0.2	3	0.2	0.2	3
La Merced	719	3	7	302.3	580	0.6	4	11	20	0.1	2	0.1	0.1	2
San Agustín	830	4	13	349.8	726	0.8	7	10	28	<LD	4	0.1	0.1	2
Tlalnepantla	825	4	13	179.7	773	0.7	7	15	23	<LD	4	0.1	0.1	3

Tabla 2. Concentración de metales pesados en el musgo *Hypnum amabile* expuesto durante la temporada de secas-cálidas (febrero, marzo y abril 2017) en diferentes sitios de la ZM de la CDMX.

Meses	Al	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Mo	Cd	Sb	Pb
Febrero														
Testigo	392	2	3.4	237	605	0.3	3	8	17	<LD	0.4	0.1	0.05	0.5
Coyoacán	840	4	5	349	710	0.6	4	52	32	0.1	3	0.8	0.2	2
Iztapalapa	804	4	5	320	744	0.6	4	48	26	<LD	2	0.1	0.1	0.6
La Merced	683	3	6	307	656	0.6	4	16	25	<LD	2	0.2	0.07	4
San Agustín	1	5	6	306	983	0.7	5	24	25	0.2	4	0.2	0.1	5
Tlalnepantla	1.2	5	10	277	1	0.9	7	32	31	0.1	2	0.1	0.06	4
Marzo														
Testigo	372	3	2	300	717	0.2	2	6	19	0.09	0.4	0.1	0.04	2
Coyoacán	560	4	3	329	808	0.6	3	56	36	0.1	2	0.1	0.1	3
Iztapalapa	1	6	4	443	1.5	0.9	4	86	59	0.1	3	0.3	0.1	4
La Merced	979	5	5	494	1.4	1	4	29	51	0.1	3	0.2	0.1	4
San Agustín	1.1	5	6	412	1.7	1	4	26	40	0.1	3	0.3	0.1	5
Tlalnepantla	763	5	5	463	1.2	0.9	6	38	87	0.1	3	0.2	0.2	5
Abril														
Testigo	369	2	3.1	257	1.1	0.5	3	8	16	0.1	0.3	0.1	0.06	2
Coyoacán	735	4	5	319	1.2	0.8	4	39	32	0.1	2	0.2	0.1	4
Iztapalapa	947	5	6	387	1.6	1	5	22	34	0.1	2	0.3	0.1	5
La Merced	681	4	5	304	1.2	1	3	17	37	0.1	2	0.1	0.1	3
San Agustín	713	5	7	386	1.2	0.9	5	23	34	0.1	2	0.2	0.1	4
Tlalnepantla	680	4	5	321	1.3	0.7	4	22	46	0.1	2	0.4	0.1	8

Tabla 3. Concentración de metales pesados en el musgo *Hypnum amabile* expuesto durante la temporada de lluvias (mayo y junio 2017) en diferentes sitios de la ZM de la CDMX.

Meses	Al	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Mo	Cd	Sb	Pb
<i>Mayo</i>														
<i>Testigo</i>	407	2	4	196	706	0.5	3	9.7	17.1	0.1	0.4	0.1	0.1	2
<i>Coyoacán</i>	585	4	8	232	1043	0.7	5	32	29	0.1	3	0.3	0.2	7
<i>Iztapalapa</i>	568	4	9	274	992	0.7	6	21	26	0.1	3	0.1	0.1	2
<i>La Merced</i>	543	4	7	249	864	0.7	5	10	26	0.1	2	0.1	0.1	2
<i>San Agustín</i>	448	4	6	226	838	0.6	4	10	22	0.1	2	0.1	0.1	3
<i>Tlalnepantla</i>	595	6	7	321	1076	0.9	5	17	33	0.4	3	0.1	0.1	3
<i>Junio</i>														
<i>Testigo</i>	360	2	3.4	193	681	0.6	2	4.2	16	0.1	0.4	0.1	0.1	2
<i>Coyoacán</i>	508	4	6	242	840	0.6	4	38	27	0.2	2	0.1	0.1	3
<i>Iztapalapa</i>	485	4	4	300	910	0.6	3	21	34	0.2	2	0.1	0.1	2
<i>La Merced</i>	650	4	4	273	904	0.6	4	14	28	0.2	2	0.1	0.1	2
<i>San Agustín</i>	870	5	6	296	1224	0.8	4	16	41	0.3	2	0.4	0.1	8
<i>Tlalnepantla</i>	808	6	6	327	1142	0.9	6	22	47	0.4	2	0.2	0.2	3

Hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los hidrocarburos determinados en los musgos expuestos en las cinco estaciones y en los distintos meses fueron: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, 2-metilantraceno, 1-metilantraceno, 4,5-metilenfenantreno, 9-metilantraceno, 3,6-dimetilfenantreno, fluoranteno, 9,10-dimetilantraceno, pireno, reteno, tripticeno, benzo[a]antraceno, trifenileno, criseno, dibenzo[a,c]antraceno, indeno[1,2,3-cd]pireno y benzo[ghi]perileno, los más concentrados fueron naftaleno, acenafteno, fenantreno, antraceno, 2-metilantraceno, 1-metilantraceno, 3,6-dimetilfenantreno, fluoranteno, 9,10-dimetilantraceno, pireno, reteno, benzo[a]antraceno y dibenzo[a,c]antraceno.

Del análisis de la regresión lineal múltiple, se observó que para el mes de noviembre en los metales pesados no se encontraron correlaciones. En el caso de los HAPs se notó una correlación con el fluoranteno con un valor de $R^2=0.96$, el 9,10-dimetilantraceno con un valor de $R^2=0.92$ y pireno con un valor de $R^2=0.87$, todos con una $p>0.05$.

En el mes de diciembre se apreció una correlación con el metal pesado As con un valor de $R^2=0.81$ y $p>0.05$. Para los HAPs, se halló una correlación con el benzo[a]antraceno y dibenzo[a,h]antraceno con un valor de $R^2=0.99$, el 3,6-dimetilfenantreno y fluoranteno con $R^2=0.97$ y el criseno con $R^2=0.92$ y $p>0.05$.

En enero se encontró una correlación con el metal pesado Cd con un valor de $R^2=0.73$ y $p>0.05$. Para los HAPs se determinó una correlación con el benzo[a]antraceno con $R^2=0.84$, el naftaleno con $R^2=0.78$ y el 9-metilantraceno con $R^2=0.78$ y $p>0.05$.

Para el mes de febrero se evidenció una correlación con el Co en presencia de Fe con un valor de $R^2=0.82$ y $p>0.05$. Además, se mostró una correlación con el HAP criseno con $R^2=0.96$ y $p>0.05$.

En el mes de marzo en los metales pesados se manifestó una correlación con el Cr con $R^2=0.71$, Mn con $R^2=0.92$ y con el Co con $R^2=0.84$, todos con una $p>0.05$. Por otro lado, en los HAPs se notó una correlación con el dibenzo[a,h]antraceno en presencia de trifenileno con $R^2=0.93$ y el antraceno en presencia de fenantreno con $R^2=0.94$ y $p>0.05$.

En el mes de abril se encontró una correlación con As en presencia de Mo y Cd con un valor de $R^2=0.93$ y $p>0.05$. En el caso de los HAPs no se encontraron correlaciones.

En mayo en los metales pesados se observó una correlación con el V con $R^2=0.87$ y $p>0.05$. Además, en los HAPs se notó una correlación con el acenaftileno con $R^2=0.82$ y el naftaleno con $R^2=0.77$ y $p>0.05$.

Para el mes de junio se obtuvo una correlación con el metal pesado Al con un valor de $R^2=0.70$, el As con $R^2=0.74$ y el Mo con $R^2=0.72$ y $p>0.05$. Por otro lado, en el caso de los HAPs se manifestó una correlación con el fluoranteno y tripticeno con un valor de $R^2=0.99$, fluoreno y fenantreno con $R^2=0.99$ y fluoranteno en presencia de pireno con $R^2=0.92$ y $p>0.05$.

Finalmente, para el acumulado se encontró una correlación con el metal pesado As con un valor de $R^2=0.81$, el Al con un valor de $R^2=0.86$, el V con un valor de $R^2=0.93$ y el Co con un valor de $R^2=0.81$ y $p>0.05$. No existen datos de HAPs para el acumulado, no sé si sea conveniente poner este último párrafo.

Por otro lado, la Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA) detectó y cuantificó diversos contaminantes inorgánicos presentes en los distintos meses de estudio, tales como óxidos nitrosos (NOX), ozono (O₃), dióxido de azufre (SO₂), y partículas menores a 10 µm (PM₁₀) y 2.5 µm (PM_{2.5}).

Para el mes de noviembre se encontraron altos niveles de NOX y O₃.

En el mes de diciembre la base de datos de la RAMA detectó los NOX, PM₁₀ y los SO₂ como los contaminantes atmosféricos predominantes.

En enero se encontró que los contaminantes sobresalientes según la RAMA fueron los NOX y O₃.

Para el mes de febrero los contaminantes predominantes fueron los NOX, PM₁₀, PM_{2.5} y SO₂.

En el mes de marzo los gases más concentrados fueron los NOX y SO₂.

En abril según la RAMA los contaminantes atmosféricos de mayor concentración fueron los NOX y O₃.

Para el mes de mayo los NOX, PM₁₀ y SO₂ fueron los contaminantes inorgánicos predominantes.

Finalmente, para el mes de junio la RAMA registró que los contaminantes de mayor concentración fueron los NOX.

Discusión

En el mundo entero se tiene amplio conocimiento de los efectos perjudiciales de los contaminantes atmosféricos, tanto en el bienestar de los seres vivos como en el complejo escenario de la química atmosférica. La Organización Mundial de la Salud estimó que en 2012 los contaminantes ambientales fueron causantes de la muerte de aproximadamente 12,6 millones de personas en todo el mundo, es por eso que en numerosos países se han elaborado leyes o normativas que reglamentan las concentraciones de gases y partículas contaminantes presentes en el ambiente (WHO, 2016).

En nuestro país se cuenta con las Normas Oficiales Mexicanas, las cuales regulan los límites permisibles de contaminantes presentes en la atmósfera con el objetivo de minimizar el daño provocado por éstos a la salud de los habitantes de la República Mexicana, dentro de los cuales destacan las normas NOM-025-SSA1-2014, NOM-020-SSA1-2014 y NOM-022-SSA1-2010 que regulan la emisión de PM₁₀ y PM_{2.5}, O₃ y SO₂, respectivamente. (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, 2017).

Existen elementos que se encuentran en el material particulado del aire de la Ciudad de México, en especial los metales pesados, que debido a su toxicidad elevada pueden ser nocivos tanto para microorganismos como para animales plantas y humanos entre los metales que suponen un riesgo para la salud se encuentran el As, Cd, Co, Cr, Pb y V (Navarro et al., 2007).

Es importante destacar que el comportamiento del daño genotóxico provocado por los diversos contaminantes mostrado en la figura 9, fue distinto en cada una de las estaciones y en los diferentes meses de exposición, notándose que tanto en noviembre de 2016, en la estación de Iztapalapa, se detectaron las mayores concentraciones de Al, Fe y Cu, en diciembre de 2016, en La Merced, que es el sitio que mostró mayor daño genotóxico, nuevamente se encuentran en cantidades

superiores el Al y Fe, además de Mn, en enero de 2017, en Iztapalapa, que muestra los valores más elevados de momento de la cauda, otra vez los metales presentes más concentrados fueron Al y Fe, mientras que en febrero en La Merced, fueron Al y Pb. En marzo en La Merced de nueva cuenta los metales más abundantes fueron Al y Fe, lo mismo que en abril en La Merced, donde de nuevo coincide la presencia de Al y Fe, como los más concentrados seguidos de Cu y Pb. El mismo comportamiento se observa en mayo, en Tlalnepantla, los metales más altos fueron Al y Fe, igual que en junio Al y Fe, otra vez fueron los más elevados, pero en este mes el Cu también se presentó en elevadas concentraciones. Mientras que en el acumulado de ocho meses en los musgos expuestos en Tlalnepantla, se evidenciaron las concentraciones mayores de AL, Cr, Fe, Ni y Zn, sin embargo en este caso la acumulación de contaminantes provocó la muerte celular, motivo por el cual no fue posible realizar el análisis del efecto genotóxico en dicho sitio, no obstante en San Agustín se observó el valor más alto de momento de la cauda, siendo los metales Al, Fe, Mn, Cu, Ni, Zn Cr y V, los más concentrados.

Como se ha mencionado anteriormente, el aluminio es el metal pesado que se encuentra en mayor cantidad en los musgos expuestos en las diversas estaciones, en las cuales se presentan los valores más altos de momento de la cauda, a este respecto se ha descrito que el Al es un metal presente en agua, aire y suelo, sin embargo, éste se presenta siempre en cantidades extremadamente bajas y formando parte de los minerales terrestres. Se han observado plantas que de manera natural acumulan Al, ejemplo de éstas son las de té que llegan a almacenar hasta 30 µg del mismo sin expresar ningún tipo de daño (Pietraszewska, 2001). Mientras que en los musgos que fueron expuestos en la CDMX y ZM se presentaron concentraciones extremadamente elevadas de este metal, los valores más altos variaron de 900 a 3000 µg/g de musgo dependiendo de la estación y el mes.

La toxicidad de este metal ha sido registrada en varios estudios. Se ha detectado que comúnmente interfiere en el desarrollo de raíces y brotes, esto es debido a que el Al promueve el entrecruzamiento de pectinas de la pared celular volviéndola más

sólida. También interfiere con la replicación del DNA aumentando la rigidez de la doble hélice (Pietraszewska, 2001).

Respecto al efecto genotóxico en plantas se ha descrito que induce efectos clastogénicos y aneugénicos en células meristemáticas de la raíz de *Allium cepa* (Dovgaliuk et al., 2001a,b), así como micronúcleos y aberraciones cromosómicas, observados en interfase y anafase, respectivamente, en células de la raíz de *Vicia faba* (Yi et al., 2010).

El Fe también se detectó en concentraciones altas en los musgos y en las estaciones que presentaron los valores de momento de la cauda mayores, éste es un metal pesado que suele ser necesario para el desarrollo de las plantas, a pesar de esto, en elevadas concentraciones puede ser tóxico para las mismas. Su papel principal es la donación y retención de electrones en la cadena transportadora de electrones en la fotosíntesis. (Connolly y Guerinot, 2002).

El Fe es otro de los metales que se encontraron en muy altas cantidades en los musgos expuestos en la CDMX y ZM. Los valores variaron de 600 a 2200 µg/g de musgo. Wheeler et al. (1985) realizaron una serie de experimentos con *Epilobium hirsutum* y *Juncus subnodulosus*, estas plantas fueron sometidas a concentraciones de 100 y 200 mg de Fe, los resultados obtenidos muestran que ambas reaccionan a estas concentraciones, e incluso en pocas horas, evidencian signos como obscurecimiento de las raíces, siendo *E. hirsutum* la que presenta una mayor sensibilidad a estos parámetros.

En cuanto al efecto genotóxico, no se han descrito trabajos en plantas, se ha mencionado que el Fe induce aberraciones cromosómicas y daño al DNA evaluado a través del ensayo cometa, en cultivo de linfocitos humanos (Lima et al., 2008) y un débil efecto en la inducción de mutaciones reversas en *Salmonella typhimurium* (Maenosono et al., 2007). Sin embargo, también se ha mencionado que puede

actuar mediante estrés oxidante y causar daño al DNA a través de especies reactivas de oxígeno (Demougeot et al., 2003), posiblemente este podría ser un mecanismo involucrado en la producción de cometas en los musgos expuestos en los diversos sitios de la Ciudad de México y zona metropolitana.

El Mn también fue detectado en concentraciones altas en los musgos que presentaron los valores mayores de momento de la cauda en los diversos sitios de la Ciudad de México y zona metropolitana en los diferentes meses de exposición, este metal actúa como un micronutriente que requieren las plantas para su desarrollo, sus principales funciones son en el fotosistema 2 en donde se une a la superóxido dismutasa como cofactor, además se asocia también en la biosíntesis de ácidos grasos, flavonoides y lignina. Sin embargo, el exceso en concentración del mismo suele ser perjudicial para las plantas, principalmente en el crecimiento y desarrollo de hojas. Asimismo, se ha detectado que las altas concentraciones de éste provocan que especies reactivas de oxígeno se acumulen rápidamente, lo que termina en la necrosis de ciertas partes de las plantas (Zhao et al., 2017).

Concentraciones tan bajas como 1 mg resultan ser tóxicas para *Nicotiana tabacum* y *Solanum tuberosum*. El exceso de éste puede interferir en la translocación, absorción y uso de otros minerales esenciales como el Ca, Mg y el P (El-Jaoual y Cox, 1998). En los musgos expuestos la concentración de este metal varía de 200 a 450 µg/g de musgo.

No se han descrito efectos genotóxicos del Mn en plantas, se ha mencionado que provoca efecto débil en la inducción de mutaciones reversas en *Salmonella typhimurium*, aberraciones cromosómica y daño al DNA evaluado mediante el ensayo cometa en linfocitos humanos (Lima et al. 2008) y este último también en ratones (Prá et al., 2008).

El cobre Cu es otro metal pesado que se encontró en concentraciones elevadas en los musgos expuestos en las estaciones de Iztapalapa en noviembre de 2016, La

Merced en abril de 2017, Tlalnepantla en junio de 2017 y en el acumulado de 8 meses, éste es un metal pesado que usualmente se emplea en pesticidas para la agricultura. Se ha observado que influye directamente en la fotosíntesis de las plantas atacando principalmente el fotosistema 2 que se encuentra en los tilacoides de las mismas. En consecuencia, las plantas que han sido expuestas a altas cantidades de Cu muestran efectos como blanqueamiento de sus hojas y marchitamiento (Küpper et al., 2009).

Existen plantas hiperacumuladoras de metales, para evitar que éstos se concentren en el citoplasma las plantas almacenan los metales en vacuolas, bloqueando así el efecto tóxico de los metales que atrapan (Küpper et al., 2009). En los musgos expuestos en el presente estudio las cantidades detectadas de cobre van de 15 a 120 µg/g de musgo, en otros estudios, se ha detectado que en cantidades de 36 a 536 µg inhiben la elongación de raíces de plantas de tomate (Rooney et al., 2006).

En relación al efecto genotóxico en plantas se ha mencionado que el Cu induce mutaciones somáticas en pelos estaminales de *Tradescantia* (Montvydiené et al., 1999), alteraciones cromosómicas en células meristemáticas de la raíz de *Allium cepa* (Abubacker y Sathya, 2017), micronúcleos en tétradas de *Tradescantia* (Knasmüller et al., 1998), micronúcleos en células de la raíz de *Vicia faba* (Steinkellner et al.; 1998; Marcato-Roamin, 2009; Dhyévre et al. 2014).

El Pb también se detectó en concentraciones altas en los musgos expuestos en las estaciones que presentaron los valores de momento de la cauda mayores siendo la estación de La Merced en febrero y abril de 2017 donde se detectaron las concentraciones más elevadas. Éste es un metal pesado muy tóxico, en el pasado se ocupó en la producción de gasolinas, pintura, aleaciones metálicas y baterías. Su uso dio como resultado un enorme problema de salud pública a mediados de los años 80, desde entonces no se ha vuelto a utilizar con estos fines lo que ha bajado su concentración en el ambiente drásticamente en los últimos años (United States Environmental Protection Agency, 2011; Küpper et al., 2017). En la actualidad se

sigue encontrando emisiones de este metal en especial por parte de industrias siderúrgicas que lo utilizan en sus procesos industriales (United States Environmental Protection Agency, 2011).

En un estudio reciente (Küpper et al., 2017) utilizando *Arabidopsis thaliana* se observó que con concentraciones sub-micro molares de este metal se inhibe el crecimiento e induce la síntesis de fitoquelatinas en plantas terrestres. Las concentraciones de este metal presentes en los musgos fueron de 2 a 17 $\mu\text{g/g}$ de musgo.

En relación al efecto genotóxico en plantas, el Pb induce daño al DNA en células de la raíz de *Vicia faba*, evaluado a través del ensayo cometa y la prueba de micronúcleos alcanzando las mayores frecuencias en la concentración de 10 μM , los autores concluyen que el efecto observado se debe principalmente a la producción de especies reactivas de oxígeno (Pourrut et al., 2011), este metal también induce micronúcleos en tétradas de *Tradescantia* (Montvydiené et al., 1999). Otras investigaciones demuestran que el estrés oxidante provocado por este metal es el causante del efecto tóxico en la misma planta (Shahid et al., 2012, 2014). Asimismo, Steinkellner et al. (1998) y Shahid et al. (2011) describen la inducción de micronúcleos en raíces de *Vicia faba* y de igual manera provoca aberraciones cromosómicas en células del meristemo radicular de en *Vigna subterranean* (Oladele et al., 2013) y de *Allium cepa* (Abubacker y Sathya, 2017).

El Cr se encontró en cantidades elevadas, únicamente en el acumulado de ocho meses de los musgos expuestos en la estaciones de Tlalnepantla y San Agustín. Es un metal sumamente utilizado en la industria metalúrgica, la toxicidad de éste depende principalmente de su valencia, por ejemplo, el cromo hexavalente (Cr (VI)) es mucho más tóxico y móvil que el cromo trivalente (Cr (III)). La forma en que el Cr es absorbido por las plantas es por medio de acarreadores metabólicos que toman este elemento indiscriminadamente (Cervantes et al., 2001).

El estrés causado por la presencia del Cr en las plantas induce principalmente 3 tipos de respuesta en las plantas expuestas:

1. Variación en la elaboración de clorofila y antocianinas (Boonyapookana et al., 2002).
2. Producción elevada de glutatión y ácido ascórbico que tiene efectos perjudiciales en las plantas (Shanker, 2003).
3. Alteraciones en base metabólica dirigida a la producción de metabolitos que conceden resistencia al estrés por Cr, tales como fitoquelatinas e histidinas (Schmöger, 2001).

Además, se ha observado en *Pisum sativum* que la exposición a concentraciones que van de 20 a 200 μM durante 7 días altera la activación de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y antióxido catalasa que son unos de los mecanismos de desintoxicación metálica de las plantas (Shanker et al., 2005).

Respecto al efecto genotóxico, induce alteraciones cromosómicas en células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba* (Gómez-Arroyo et al., 1983, 1987), micronúcleos en tétradas de *Tradescantia* (Villalobos-Pietrini et al., 1986) y mutaciones somáticas en pelos estaminales de *Tradescantia* (Montvydiené et al., 2012), así como alteraciones cromosómicas observadas en anafase en células meristemáticas de la raíz de *Allium cepa* (Abubacker y Sathya, 2017).

En el caso de las muestras de los musgos expuestos a la atmosfera contaminada de la Ciudad de México y zona metropolitana, se observaron valores que van de 5 a 12 $\mu\text{g/g}$ de musgo de este metal.

El Ni y el Zn, se encontraron en concentraciones elevadas, únicamente en el acumulado de ocho meses, tanto en la estación de Tlalnepantla, como en San Agustín. El Ni es un constituyente de la ureasa y en pequeñas cantidades es esencial para algunas especies de plantas, sin embargo no es importante para el metabolismo de las plantas, pero en altas concentraciones es tóxico para las

mismas (Seregin y Kozhevnikova, 2006). A nivel genotóxico provoca micronúcleos en tétradas de *Tradescantia* y en células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba* (Knasmüller et al., 1998), induce aberraciones cromosómicas en *Allium cepa* (Rank y Niesel, 1998), así como intercambio de cromátidas hermanas en *Vicia faba* (Gómez-Arroyo et al., 2001), junto con otros metales en *Phaseolus vulgaris* L. causa daño al DNA (Gjorgieva et al., 2013).

El Zn se considera un elemento esencial para las plantas, pero en altas concentraciones es fitotóxico (Welch, 1995), este metal es constituyente de metaloenzimas o cofactor de varias enzimas tales como anhidrasas, deshidrogenasas, oxidasas y peroxidasas (Hewitt, 1983). A nivel genotóxico, el Zn junto con Cd, Pb y Cr en muestras de suelo contaminado, provoca aberraciones cromosómicas analizadas en células en anafase de la raíz de *Cicer arietinum* (Siddiqui, 2015), induce aberraciones cromosómicas en meristemas radiculares de *Allium cepa* (Rank y Niesel 1998; Abubacker y Sathya, 2017) y en *Vigna subterranean* (Oladele et al., 2013), micronúcleos en células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba* (Marcato-Romain, 2009), en *Phaseolus vulgaris* L. al ser combinado con otros metales provoca daño al DNA (Gjorgieva et al., 2013).

En el musgo *Hypnum cupressiforme* el Cr, Cu, Ni and Zn presentes en lugares cercanos a una refinería, se establece que no se produce daño al DNA o mutaciones por estos metales usando el método de polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (Cortis et al., 2016).

Otro de los metales pesados que se encontró en cantidades elevadas únicamente en los musgos que estuvieron expuestos durante los ocho meses que duró el estudio fue el V, este metal está presente en todas las plantas en bajas concentraciones, actúa catalizando reacciones redox en el transporte de electrones en los fotosistemas I y II (Bode et al., 1990), en *Capsicum annuum* en bajas cantidades estimula el crecimiento de la planta, mientras que en concentraciones elevadas es tóxico (García Jiménez et al. 2018). A nivel genotóxico se ha

mencionado que provoca micronúcleos en tétradas de *Tradescantia* y daño cromosómico en células del meristemo radicular de *Allium cepa* (Mišík et al., 2014).

El Sb, As, Cd y Mo, también fueron detectados en todas las muestras de musgos expuestos en los cinco sitios, de la Ciudad de México y zona metropolitana, y en el acumulado de 8 meses, pero en concentraciones muy bajas. El valor más alto y el más bajo para el Sb fueron 0.158 y 0.085 µg/g de musgo respectivamente. En el caso del As el valor más alto fue de 0.311 µg/g de musgo y el más bajo fue de 0.07 µg/g de musgo. Para el Cd las concentraciones más altas fueron de 0.305 µg/g de musgo y las más bajas fueron de 0.125 µg/g de musgo. Finalmente, la concentración más alta del Mo tuvo fue de 3.281 µg/g de musgo y el más bajo fue de 1.537 µg/g de musgo.

Es importante señalar que debido a que los musgos estuvieron expuestos a una mezcla de metales pesados, es difícil atribuir el efecto a alguno de ellos, sin embargo la presencia de las concentraciones más elevadas de Al, Fe, en los musgos que presentan mayor daño genotóxico, hace suponer que posiblemente la contribución de los mismos es importante, sin embargo no hay que descartar el hecho de que su efecto es diferente cuando se prueban por separado que al estar juntos, a este respecto se ha descrito que en algunos sistemas de prueba vegetales se observa un efecto sinérgico, cuando se mezclan los metales, que al ser probados por separado (Montvydiené et al., 1999). Este hecho se evidencia con claridad en los resultados de los valores del momento de la cauda, ya que en el acumulado de 8 meses de exposición se presentan los valores más altos de momento de la cauda llegando a ser casi el doble que en mayo y junio, que es donde se obtuvo el mayor daño genotóxico de los meses analizados. También es relevante destacar, que los mayores valores del momento de la cauda, se presentaron en los meses de lluvias, mayo y junio, este mismo comportamiento se observó en *Taraxacum officinale* y *Robinsonecio gerberifolius*, expuestos durante la temporada de secas y lluvias a diferentes atmósferas de la Ciudad de México, en las cuales se detectaron concentraciones altas de metales pesados y el efecto genotóxico, evaluado a través

del ensayo cometa, fue mayor en la temporada de lluvias (Gómez-Arroyo et al., 2018a).

Además de los metales pesados, al realizar la determinación de HAPs se corroboró que algunos de estos compuestos han sido comprobados como agentes genotóxicos y por lo mismo son sumamente peligrosos, muchos de ellos se encuentran registrados por la IARC relacionados al desarrollo de cáncer, siendo benzo[a]pireno el único que se encuentra como carcinógeno (grupo 1) (Morales et al., 2016).

Por otro lado, la agencia de protección ambiental de los Estados Unidos de América (EPA), ha detectado 16 HAPs de gran peligrosidad, entre ellos destaca el acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo[a]pireno, flouranteno, fluoreno, etc. (Ma et al., 2010). Dentro de los HAPs, se encontraron una gran variedad de éstos en los musgos expuestos en la Ciudad de México y zona metropolitana, los más concentrados fueron: 9-metilantraceno, acenaftaleno, acenafteno, acenaftileno, antraceno, fluoreno y tripticeno.

En las plantas los HAPs tienden a absorberse por estomas y también se adsorben a las hojas por depósito húmedo o seco de partículas, este último en ocasiones está favorecido por las ceras que recubren las hojas (McLachlan y Horstmann, 1998). Se ha descrito que los musgos tienen gran capacidad para almacenar estos compuestos, principalmente aquellos de alto peso molecular. Asimismo, los factores ambientales como temperatura y temporada del año son factores que influyen en la acumulación de HAPs (Huang et al., 2018).

A nivel genotóxico en plantas son pocos los estudios que se han realizado, Ramos de Raunho et al. (2013), detectan daño genotóxico expresado por micronúcleos, puentes anafásicos, rompimientos cromosómicos y cromosomas retardados en raíces de *Allium cepa* tratadas con los extractos obtenidos de muestras de material orgánico colectado en la atmósfera de Rio de Janeiro, Brasil, el efecto provocado lo

atribuyen a los nitro-HAPs. Asimismo, en *Tradescantia* expuesta a la atmósfera contaminada por emisiones de incineradores en Bratislava, República Eslovaca, se describe incremento en la frecuencia de micronúcleos en tétradas de esta planta (Mišík et al., 2007). En aguas contaminadas utilizadas en irrigación se demostró que los HAPs contenidos en ella, principalmente el benzo(a)pireno incrementan la frecuencia de micronúcleos en *Vicia faba* L. (Song et al., 2006). En plantas de *Trifolium repens* L., tratadas con los HAPs, benzo(a)pireno y naftaleno en suelos contaminados con estos compuestos provocaron efecto genotóxico evaluado a través de alteraciones en la secuencia del DNA (Aina et al., 2006). En *Tradescantia* el benzo(a)pireno provoca mutaciones somáticas en las células de los pelos estaminales (Yakovleva et al., 2011). En suelos contaminados con una mezcla de HAPs formada por antraceno, pireno, fenantreno y fluoreno, se observaron alteraciones cromosómicas como puentes, fragmentos y cromosomas retardados en anafase y micronúcleos en interfase en meristemas radiculares de *Vicia faba* (Castiglione et al., 2016).

Dado el hecho de que se encuentran tanto metales pesados como HAPs dentro de los musgos constituyendo una mezcla de compuestos, es difícil atribuir a alguno de éstos el efecto genotóxico. La prueba estadística de correlación múltiple permitió correlacionar las variaciones que existen en las concentraciones tanto de metales como de HAPs en conjunto con los valores del momento de la cauda de cada estación por cada mes. Así, es posible determinar o identificar cuales contaminantes solos o en conjunto con cualquier otro tienen un efecto potencial en el valor del momento de la cauda.

Por otro lado, la incineración de materia orgánica tiene como resultado la emisión de gases traza y pueden ser de origen natural y antropogénico, entre los que se encuentran CO, CO₂, CH₄, SO₂, NOX, etc. (Saud et al., 2011).

El azufre se encuentra presente principalmente en carbón y petróleo de manera natural, es un contaminante que se concentra de manera general en las zonas

urbanas e industriales (Secretaria de Salud, 2010). El SO_2 ha sido estudiado por su capacidad de inhibición de fotosíntesis. En 1985, Freer-Smith estableció que con una concentración de 60 ppb de este gas por 28 días inhiben la fotosíntesis de *Betula pendula* (Darrall, 1989). Según la RAMA los valores más altos de SO_2 se encontraban entre 13 ppb en la estación de La Merced en el mes de enero.

El O_3 es un contaminante al que poco se le ha estudiado en relación a la inhibición de la fotosíntesis. En 1985, Reich y Amundson revelaron tras varios estudios que la inhibición de la fotosíntesis se presenta con concentraciones de 35-45 ppb en periodos que van de 147-180 horas en un lapso de 3 semanas (Darrall, 1989). Datos presentes en la RAMA muestran que la concentración más alta de este contaminante se encontraba en 52 ppb principalmente en el mes de mayo que corresponde a uno de los meses en los que se llevaron a cabo las exposiciones de los musgos a la contaminación atmosférica de la Ciudad de México y zona metropolitana, siendo la estación de Tlalhepantla, en la que se observó el mayor daño genotóxico.

Asimismo, se ha detectado que los NO_x no afectan seriamente la actividad fotosintética de las plantas, sin embargo, en combinación con otros gases como SO_2 la inhibición sucede en concentraciones bajas de ambos contaminantes (Darrall, 1989). Las cantidades más altas de NO_x según la RAMA mostró valores de 70 ppb en el mes de diciembre en la estación de La Merced, aunque de manera general todos los meses presentaron valores relativamente altos.

Conclusiones

Los musgos pueden ser excelentes biomonitores de contaminantes ambientales, su disponibilidad en el medio y su capacidad para acumular los distintos contaminantes en el ambiente los hace un buen organismo vegetal que se puede utilizar para estos fines, además, la capacidad de resistir sequías le permite sobrevivir a ambientes tan hostiles como los de las ciudades.

La electroforesis unicelular alcalina es una técnica de detección de daño genotóxico muy sensible que se puede utilizar para detectar principalmente sitios álcali-lábiles y rupturas de cadena sencilla o doble en el DNA, de esta manera se puede medir el daño provocado por los contaminantes atmosféricos sobre los sistemas vegetales.

Se comprueba la presencia de daño en el DNA de los musgos de la especie *Hypnum amabile* que puede atribuirse a los contaminantes ambientales presentes en la CDMX y ZM.

Los datos muestran que los meses de lluvia (mayo y junio) fueron donde se presentó mayor daño que en los periodos de secas-frías y secas-cálidas.

Los resultados indican que el musgo *Hypnum amabile* puede ser empleado como biomonitor de daño al DNA inducido por contaminantes ambientales y como bioacumulador de contaminantes atmosféricos.

Referencias

- Abaigar, J., Olivera, E. (2004). Los briófitos: plantas diminutas al borde del masoquismo. Páginas de información ambiental, 17, 24-28. Recuperado de <https://www.uam.es/informacion/asociaciones/SEB/paginas%20viejas/divulgacion/articuloinfoambiental.pdf>
- Abdel-Shafy, H., Mansour, M. (2016). A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. Egyptian Journal of Petroleum, 25, 107-123.
- Abubacker, M.N., Sathya, C. (2017). Genotoxic effect of heavy metals Cr, Cu, Pb and Zn using *Allium cepa* L. Biosciences Biotechnology Research Asia, 14, 1181-1186.
- Agbaire, P., Esiefarienrhe, E. (2009). Air pollution tolerance indices (apti) of some plants around Otorogun gas plant in Delta State. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 13(1), 11-14.
- Aina, R., Palin, L., Citterio, S. (2006). Molecular evidence for benzo(a)pyrene and naphthalene genotoxicity in *Trifolium repens* L. Chemosphere, 65, 666-673.
- Amato-Lourenco, L., Lobo, D., Guimaraes, E., Lopes, T., Carvalho-Oliveira, R., Saiki, M., Mauad, T. (2017). Biomonitoring of genotoxic effects and elemental accumulation derived from air pollution in community urban gardens. Science of the Total Environment, 575, 1438-1444.
- Ares, A., Aboal, J.R., REAL, c., Caballeira, A. (2009). Use of the terrestrial moss *Pseudoscleropodium purum* to detect sources of small scale contamination by PHAs. Atmospheric Environment 43, 5501-5509.
- Ares, A., Fernández, J.A., Carballeira A., Aboal, J.R. 2014. Towards the methodological optimization of the moss bag technique in terms of contaminants concentrations and replicability values. Atmospheric Environment, 94, 496-507.
- Baird, W., Hooven, L., Mahadevan, B. (2005). Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and mechanism of action. Environmental and Molecular Mutagenesis, 45, 106-114.
- Bode, H.P., Friebel, C., Fuhmann, F. (1990). Vanadium uptake by yeast cells. BBA-Biomembranes, 1022, 163-170.
- Boonyapookana, B., Upatham E. S., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., Singhakaew, S. (2002). Phytoaccumulation and phytotoxicity of cadmium and chromium in duckweed *Wolffia globosa*. International Journal of Phytoremediation, 4, 87-100.
- Calderón-Ezquerro, M.C., Guerrero-Guerra, C., Galán, C., Serrano-Silva, N., Guidos-Fogelbach G., Jiménez-Martínez, M.C., Larenas-Linnenian, D. y López-Espinosa, E.D. (2018). Pollen in the atmosphere of Mexico City and its impact on the health of the pediatric population. Atmospheric Environment. 186, 198-208.
- Castiglione, M.R., Giorgetti, L., Becarelli, S., Siracusa, G., Lorenzi, R., Di Gregorio, S. (2016). Polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soils: bioaugmentation of autochthonous bacteria and toxicological assessment of

- the bioremediation process by means of *Vicia faba* L. Environmental Science and Pollution Research 23, 7930-7941.
- Cervantes, C., Garcia, J. C., Devars, S., Corona, F. G., Tavera, H. L., Torres-Guzman, J. (2001). Interactions of chromium with micro-organisms and plants. Microbiological Reviews, 25, 335-347.
- Chakraborty, S., & Paratkar, G. (2006). Biomonitoring of Trace Element Air Pollution Using Mosses. *Aerosol and Air Quality Research*, 6(3), 247–258.
- Chen, Y-E, Cui, J-M, Yang, J-C, Zhang, Z-W, Yuan, M. Song, C., Yang, H., Liu, H-M., Wang, C.Q., Zhang, H.Y. (2015). Biomonitoring heavy metal contaminations by moss visible. *Journal of Hazardous Materials*, 296, 201-209.
- Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. (2017, 31 diciembre). Normas Oficiales Mexicanas (NOM) de Calidad del Aire Ambiente. Recuperado 29 mayo, 2018, de <https://www.gob.mx/cofepris/acciones-y-programas/4-normas-oficiales-mexicanas-nom-de-calidad-del-aire-ambiente>
- CONAPO. (2017, October 23). Proyecciones de la Población 2010-2050 [Dataset]. Recuperado 22 mayo, 2018, de http://www.conapo.gob.mx/work/models/CONAPO/Proyecciones/Datos/Estimaciones_y_Proyecciones/2010_2030/DistritoFederal_pry.xlsx
- Connolly, E., Guerinot, M. (2002). Iron stress in plants. *Genome Biology*, 3(8), 1-4.
- Cortis, P., Vannini, C., Cogoni, A., De Mattia, F., Bracale, M., Mezzasalma, V., Labra, M. (2016). Chemical, molecular and proteomic analysis of moss bag biomonitoring in a petrochemical área of Sardinia (Italy). *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 2288-2300.
- Coskun, M., Steinnes, E., Coskun, M. (2009). Comparison of epigenic moss (*Hypnum cupressiforme*) and lichen (*Cladonia rangiformis*) as biomonitor species of atmospheric metal deposition. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82, 1-5.
- Darrall, N. (1989). The effect of air pollutants on physiological processes in plants. *Plant, Cell and Environment*, 12, 1-30.
- De Nicola, F., Spagnuolo, V., Baldantoni, D., Sessa, L., Alfani, A., Bargagli, R., Monaci, F. (2013). Improved biomonitoring of airborne contaminants by combined use of holm oak leaves and epiphytic moss. *Chemosphere*, 92, 1224-1230.
- Demougeot, C., Methy, D., Prigent-Tessier, A., Garnier, P., Bertrand, N., Guiland, J.C., Beley, A., Marie, C. (2003). Effects of a direct injection of liposoluble iron into rat striatum. Importance of the rate of iron delivery to cells. *Free Radical Research*, 37, 59-67.
- Dhyèvre, A., Foltête, A.S., Aran, D., Muller, S.Y., Cotelle, S. (2014). Effects of soil Ph on the *Vicia*-micronucleus genotoxicity assay. *Mutation Research*, 774, 17-21.
- Dovgaliuk, A.I., Kaliniak, T.B., Blium, I.B. 2001a Assessment of phyto and cytotoxic effects of heavy metals and aluminum compounds using onion apical root meristem. *TSitologiia i Genetika*, 35, 3-9.

- Dovgaliuk, A.I., Kaliniak, T.B., Blium I.B. (2001b). Cytogenetic effects of toxic metal salts on apical meristem cells of *Allium cepa* L. seed roots. *Tsitologija i Genetika*, 35, 3-10.
- El-Jaoual, T., Cox, D. (1998). Manganese toxicity in plants. *Journal of Plant Nutrition*, 21(2), 353–386.
- Fernández, A., Ternero, M., Barragan, F., Jiménez, J. (2000). An approach to characterization of sources of urban airborne particles through heavy metal speciation. *Chemosphere Global Change Science*, 2, 123-136.
- Freer-Smith, P. H. (1985). The inline of SO₂ and NO_x on the growth development and gas exchange of *Betula pendula*. *New Phytologist*, 99, 417-430.
- Gábelová, A., Valovicová, Z., Horváthová, E., Slamenová, D., Binková, B., Srám, R., Farmer, P. (2004). Genotoxicity of environmental air pollution in three European cities: Prague, Kosice and Sofia. *Mutation Research*, 563, 49-59.
- García-Jiménez, A., Trejo-Téllez, L.I., Guillén-Sánchez, D., Gómez-Merino, F.C. (2018). Vanadium stimulated pepper plant growth and flowering, increases concentrations of aminoacids, sugars and chlrophylls, and modifies nutrient concentrations. *PLoS ONE* 13, 1-20.
- Gjorgieva, D., Kadifkova, Panovska, T.K., Ruskovska, T., Bačeva, K., Stalfilov T. (2013). Mineral nutrient imbalance, total antioxidants level and DNA damage in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) exposed to heavy metals. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19, 499-507.
- Gjikaj, I., Vasjari, M., Terpo, M. (2015). Air pollution studies in Albania using the moss biomonitoring technique, Europe. *Acad. Res.* 3, 1609-1626.
- Gómez-Arroyo, S. y Villalobos-Pietrini, R. (1983). Chromosomal alterations induced by some chromium salts. *Cytologia*. 48, 185-193.
- Gómez-Arroyo, S., Villagómez, M.L. y Villalobos-Pietrini, R. (1987). Effects induced by chromium trioxide on root tip chromosomes of *Vicia faba*. *Contaminación Ambiental*, 2, 55-61, 1987.
- Gómez-Arroyo, S., Cortés-Eslava, J., Bedolla-Cansino, R.M., Villalobos-Pietrini, R., Calderón-Segura, M.E., Ramírez-Delgado, Y. (2001) Sister chromatid exchanges induced by heavy metals in *Vicia faba*. *Biologia Plantarum*, 44, 591-594.
- Gómez-Arroyo, S., Cortés-Eslava, J., Loza-Gómez, P., Arenas-Huertero, F., Grutter de la Mora, M., Morton Bermea, O. (2018a). In situ biomonitoring of air quality in rural and urban environments of Mexico valley through genotoxicity evaluates in wild plants. *Atmospheric Pollution Research*. 9, 119-125.
- Gómez-Arroyo, S., Barba-García, A., Arenas-Huertero, F., Cortés-Eslava, J., Grutter de la Mora, M., García-Martínez, R. (2018b). Indicators of environmental contamination by heavy metals in leaves of *Taraxacum officinale* in two zones of the metropolitan area of Mexico City. *Environmental Science and Pollution Research* 25, 4739-4749.
- Grant, W. (1998). Higher plant assays for the detection of genotoxicity in air polluted environments. *Ecosystem Health*, 4, 210-229.
- Harmens, H., Norris, D., Sharps, K., Mills, G., Alber, R., Aleksiyenak, Y., Zechmeister, H. (2015). Heavy metal and nitrogen concentrations in mosses are declining across Europe whilst some “hotspots” remain in 2010. *Environmental Pollution*, 200, 93–104.

- Hewitt, E.J. (1983). En: Metals and micronutrients: uptake and utilization by plants, Robb, D.A., Pierpoint W.S. (Eds.), Academic Press, Londres, pp. 277-300.
- Hristozova, G., Marinova, S., Pavlova, L., Goryainova, M., Vladimirova Frontasyeva, M., Stafilov, T. (2014). Atmospheric deposition study in the area of Kardzhali lead-zinc plant base on moss analysis. *American Journal of Analytical Chemistry*, 5, 920-931.
- Huang, S., DAI, c., Zhou, Y., Peng, H., Yi, K., Qin, P., Luo, S., Zhang, X. (2018). Comparisons of three plant species in accumulating polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from the atmosphere: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 16548-16566.
- Ite, A., Imaobong, I., Ibok, U.J. (2014). Distribution of some atmospheric heavy metals in lichen and moss samples collected from Eket and Ibeno local government areas of Akwa Ibom state Nigeria. 2014. *American Journal of Environmental Protection*, 2, 22-31.
- Knasmüller, S., Gottmann, E., Steinkellner, H., Fomin, A., Pickl, C., Paschke, A., Gödd, R. y Kundi, M. (1998). Detection of genotoxic effects of heavy metals contaminated soils with plant bioassays. *Mutation Research*, 420, 37-48.
- Koppen, G., & Verschaeve, L. (1996). The alkaline comet test on plant cells: A new genotoxicity test for DNA strand breaks in *Vicia faba* root cells. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 360(3), 193–200.
- Krzesłowska, M. (2011). The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide remodeling and its role in defense strategy. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 35-51.
- Krzesłowska, M., Rabęda, I., Basińska, A., Lewandowski, M., Mellerowicz, E., Napieralska, A., Woźny, A. (2016). Pectinous cell wall thickenings formation – A common defense strategy of plants to cope with Pb. *Environmental Pollution*, 214, 354-361.
- Kumar, P. (2016). Impacts of particulate matter pollution on plants: Implications for environmental biomonitoring. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 129, 120-136.
- Küpper, H., Götz, B., Mijovilovich, A., Frithjof, C., Meyer-Klaucke, W. (2009). Complexation and toxicity of copper in higher plants. Characterization of copper accumulation, speciation, and toxicity in *Crassula helmsii* as a new copper accumulator. *Plant Physiology*, 151, 702-714.
- Küpper, H. (2017). Lead toxicity in plants. *Metal Ions in Life Sciences*, 17, 491-500.
- Lima, P.D., Vasconcellos, M.C., Montenegro, R.A., Sombra, C.M., Bahia, M.O., Costa-Lotufo, L.V., Pessoa, C.O., Moraes, M.O., Burbano, R.R. (2008). Genotoxic and cytotoxic effects of iron sulfate in cultured human lymphocytes treated in different phases of cell cycle. *Toxicology In Vitro*, 22, 723-729.
- Lowry, L. (1995). Role of biomarkers of exposure in the assessment of health risks. *Toxicology Letters*, 77, 31-38.
- Ma, X., Ran, Y., Gong, J., Chen, D. (2010). Sequential accelerated solvent extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons with different solvents: performance and implication. *Journal of Environmental Quality*, 39, 2072.

- Maenosono, S., Suzuki, T., & Saita, S. (2007). Mutagenicity of water-soluble FePt nanoparticles in Ames test. *The Journal of Toxicological Sciences*, 32(5), 575–579.
- Marcato-Romain, C.E., Pinelli, E., Pourrut, B., Silvestre, J. y Guiresse, M. (2009). Assessment of the genotoxicity of Cu and Zn in raw and anaerobically digested slurry with the *Vicia faba* micronucleus test. *Mutation Research*, 672, 113-118.
- Mayer, H. (1999). Air pollution in cities. *Atmospheric Environment*, 33, 4029-4037.
- McLachlan, M., Horstmann, M. (1998). Forests as filters of airborne organic pollutants: a model. *Environmental Science and Technology*, 32, 413-420.
- Mišík, M., Mičieta, K., Solenská, M., Mišíková, K., Písařčíková, H., Knasmüller, S. (2007). *In situ* biomonitoring of the genotoxic effects of mixed industrial emissions using *Tradescantia* micronucleus and pollen abortion tests with wild life plants: demonstration of the efficacy of emission controls in an eastern European city. *Environmental Pollution* 145, 459-466.
- Mišík, M., Burke, I.T., Reismüller, M., Pichler, C., Rainer, B., Mišíková, K., Mayes, W.M., Knasmüller, S. (2014). Red mud a byproduct of aluminium production contains soluble vanadium that causes genotoxic and cytotoxic effects in higher plants. *Science of the Total Environment*, 493, 883-890.
- Molina, L., Molina, M. (2005). La calidad del aire en la megaciudad de México. Un enfoque integral. (Rev. ed.). México, México: Bremauntz.
- Montvydienė, D., Lakačauskienė R. y Marčiulionienė, D. (1999). Investigations of toxic and genotoxic effects of heavy metals and their model mixture on plants. *Acta Zoologica Lituonica*, 9, 3-11.
- Morales, G., Morales, P., Haza, A. (2016). Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) (I): toxicidad, exposición de la población y alimentos implicados. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 10(1), 1-15.
- Natali, M., Zanella, A., Rankovic, A., Banas, D., Cantaluppi, C., Abbadie, L., Lata, J. (2016). Assessment of trace metal air pollution in Paris using slurry-TXRF analysis on cemetery mosses. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 23496-23510.
- Navarro, J., Aguilar, I., Lopez, J. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente*, 16, 10-25.
- Nriagu, J. (1980). A silent epidemic of environmental metal poisoning? *Environmental Pollution*, 50, 139-161.
- Oladele, E.O., Odeigah, P.G.C., Taiwo, I.A. (2013). The genotoxic effect of lead and zinc on bambara groundnut (*Vigna subterranean*). *African Journal of Environmental Science and Technology*, 7, 9-13.
- Östling, O., Johanson, K. (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 123, 291-298.
- Pereira, B., Campos Júnior, E., & Morelli, S. (2013). *In situ* biomonitoring of the genotoxic effects of vehicular pollution in Uberlândia, Brazil, using a *Tradescantia* micronucleus assay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 87, 17–22.

- Pietraszewska, T. (2001). Effect of aluminium on plant growth and metabolism. *Acta Biochimica Polonica*, 48, 673-686.
- Piraino, F. Aina, R. Palin, L. Prato, N. Sgorbati, S. Santagostino, A. Citterio, S. (2006). Air quality biomonitoring: Assessment of air pollution genotoxicity in the Province of Novara (North Italy) by using *Trifolium repens L.* and molecular markers. *Science of The Total Environment*, 372(1), 350–359.
- Pourrut, B., Jean, S., Silvestre, J. y Pinelli, E. (2011). Lead-induced DNA damage in *Vicia faba* root cells: Potential involvement of oxidative stress. *Mutation Research*, 726. 123-128.
- Prá, D., Franke, S.I., Giulian, R., Yoneama. M.L., Dias, J.F., Erdtmann B., Henriques, J.A. (2008). Genotoxicity and mutagenicity of iron and copper in mice. *Biometals*, 21, 289-297.
- Rai, P. (2013). Environmental magnetic studies of particulates with special reference to biomagnetic monitoring using roadside plant leaves. *Atmospheric Environment*, 72, 113-129.
- Ramos de Raunho, C., Machado Correa, S., Mazzei, J.L., Fortes Aiub, C.A., Felzenszwalb, I. (2013). Genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitro-derived in respirable airborne particulate matter collected from urban areas of Rio de Janeiro (Brazil). *BioMed Research International*, Volumen 2013, Artículo ID 765352, 9 páginas.
- Rank, J., & Nielsen, M. (1998). Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 418(2-3), 113–119.
- Reich, P., Amundson, R. (1985). Ambient levels of ozone reduce net photosynthesis in tree and crop species. *Science*, 230, 566-570.
- Rivera, M. Zechmeister, H., Medina-Ramón, M., Basagaña, X., Foraster, M., Bouso, L., Moreno, T., Solanas, P., Ramos, R., Köllensperger, G., Deltel, A., Vizcaya, D., Künzli, N. (2011). Monitoring of heavy metal concentrations in home outdoor air using moss bags. *Environmental Pollution*, 159, 954-962.
- Rodríguez-Rey, A., Noris-García, E., Fundora, M. (2016). Principios y relevancia del ensayo cometa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35, 184-194.
- Rooney, C., Zhao, F., & McGrath, S. (2006). Soil factors controlling the expression of copper toxicity to plants in a wide range of european soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(3), 726–732.
- Saud, T., Mandal, T. K., Gadi, R., Singh, D., Sharma, S., Saxena, M., Mukherjee, A. (2011). Emission estimates of particulate matter (PM) and trace gases (SO₂, NO and NO₂) from biomass fuels used in rural sector of Indo-Gangetic Plain, India. *Atmospheric Environment*, 45, 5913-5923.
- Schmöger, M.E.V. (2001). Phytochelatins: Complexation of metals and metalloids, studies on the phytochelatin synthase. PhD Thesis, Munich University of Technology (TUM), Munich, Germany.
- Secretaria de Salud. (2010). NORMA Oficial Mexicana NOM-022-SSA1-2010, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al dióxido de azufre (SO₂). Valor normado para la concentración de dióxido de azufre (SO₂) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de

- la población. Recuperado 17 mayo, 2018, de <http://200.33.112.174/archivo/noms/NOM%20022%20SSA%202010%20SO2.pdf>
- SEDEMA. (2016). Informes anuales de calidad del aire [Dataset]. Recuperado 17 mayo, 2018, de http://www.aire.cdmx.gob.mx/descargas/publicaciones/flippingbook/informe_anual_calidad_aire_2016v1/
- Seregin, I.V y Kozhevnikova, A.D. (2006). Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 53, 257–277.
- Shahid, M., Pinelli, E., Pourrut, B., Silvestre, J. y Dumat, C. (2011). Lead-induced genotoxicity to *Vicia faba* L. roots in relation with metal cell uptake and initial speciation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 76-84.
- Shahid, M., Dumat, C., Silvestre, J., Pinelli, E. (2012). Effect of fulvic acids on lead-induced oxidative stress to metal sensitive *Vicia faba* L. plant. *Biology and Fertility of Soils*, 48, 689-697.
- Shahid, M., Pinelli, E., Pourrut, B., Silvestre, J. y Dumat, C. (2014). Effects of organic ligands on lead-induced oxidative damage and enhanced antioxidant defense in the leaves of *Vicia faba* plants. *Journal of Geochemical Exploration*, 144, 282-289.
- Shanker, A. (2003). Physiological, biochemical and molecular aspects of chromium toxicity and tolerance in selected crops and tree species. PhD Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India.
- Shanker, A., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., Avudainayagam, S. (2005). Chromium toxicity in plants. *Environment International*, 31, 739-753.
- Siddiqui, S. (2015). DNA damage in *Cicer* plant grow on soil polluted with heavy metals. *Journal of King Saud University-Science*, 27, 217-223.
- Singh, N., McCoy, M., Tice, R., Schneider, E. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175, 184-191.
- Song, Y.F., Wilke, B-M., Song, X.Y., Gong, P., Zhou, Q.X., Yang G.F. (2006). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and heavy metals (HMs) as well as their genotoxicity in soil after long-term wastewater irrigation. *Chemosphere*, 65, 1859-1868.
- Spagnuolo, V., Figlioli, F., De Nicola, F., Capozzi, F., & Giordano, S. (2017). Tracking the route of phenanthrene uptake in mosses: An experimental trial. *Science of The Total Environment*, 575, 1066–1073.
- Steinkellner, H., Mun-Sik, K., Helma, C., Ecker, S., Ma, T-H., Horak, O., Kundi, M., Knasmuller, S. (1998). Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 31, 183-191.
- Tice, R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Sasaki, Y. (2000). Single cell gel/comet assay: Guidelines for in vitro and In vivo genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35, 206-221.
- United States Environmental Protection Agency. (2011). Report on the Environment (Lead Emissions). Recuperado de <https://www.epa.gov/roe/>

- Valencia, S. (2014). Introducción a las embriofitas (Ed. rev.). México, México: Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial.
- Villalobos-Pietrini, R., Gómez-Arroyo, S., Flores-Márquez, A.R. y Cisneros, A. *Tradescantia-micronucleus* test on potassium dichromate. (2006) *Contaminación Ambiental*, 2, 63-70.
- Vingiani, S., De Nicola, F., Purvis, W., Concha-Graña, E., Muniategui-Lorenzo, S., López-Mahía, P. Adamo, P. (2015). Active Biomonitoring of Heavy Metals and PAHs with Mosses and Lichens: a Case Study in the Cities of Naples and London. *Water, Air, & Soil Pollution*, 8, 226–240.
- Vuković, G., Anić Urošević, M., Miodrag, P., Janković, M., Goryainova, Z., Tomašević, M., Propović, A. (2015). Residential heating contribution to level of air pollution (PAHs major trace, and rare earth elements): a moss bag case study. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 18956-18966.
- Weitzenfeld, H. (1992). Contaminación atmosférica y salud en América Latina. *Infectología*, 12, 403-416.
- Welch, R.M. (1995). Micronutrient nutrition of plants. *Critical Review in Plant Sciences*, 14, 49-82.
- Wheeler, B., Al-Farraj, M., & Cook, R. (1985). Iron toxicity to plants in base-rich wetlands: Comparative effects on the distribution and growth of *Epilobium hirsutum* L. and *Juncus subnodulosus* Schrank. *New Phytologist*, 100(4), 653–669.
- WHO. (2016). Global Health Observatory data repository [Dataset]. Retrieved May 17, 2018, from <http://apps.who.int/gho/data/view.main.SDGPM25116v?lang=en>
- WHO. (2016, 15 marzo). Cada año mueren 12,6 millones de personas a causa de la insalubridad del medio ambiente. Recuperado 23 julio, 2018, de <http://www.who.int/es/news-room/detail/15-03-2016-an-estimated-12-6-million-deaths-each-year-are-attributable-to-unhealthy-environments>.
- Yakovleva, E.V., Beznosikov, V.A., Kondratenok, B.M., Khomichenko A.A. (2011). Genotoxic effects in *Tradescantia* plant (clone 2) induced by benzo(a)pyrene. *Contemporary Problems of Ecology*, 4, 594-599.
- Yi M., Yi H., Li H., Wu L. (2010). Aluminum induces chromosome aberrations, micronuclei, and cell cycle dysfunction in root cells of *Vicia faba*. *Environmental Toxicology*, 25, 124-129.
- Zhao, J., Wang, W., Zhou, H., Wang, R., Zhang, P., Wang, H., Xu, J. (2017). Manganese toxicity inhibited root growth by disrupting auxin biosynthesis and transport in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1-8.