

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE RIESGO ECOLÓGICO EN LA ZONA METROPOLITANA DE MONTERREY DEBIDO A METALES PESADOS (Pb Y Cd) Y EMPLEO DE ESTRATEGIAS DE BIORREMEDIACIÓN PARA SU MITIGACIÓN A TRAVÉS DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL.**

POR

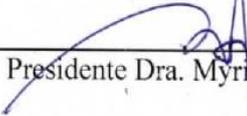
Q.F.B. DALILA CASTILLO NAVA

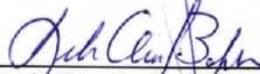
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

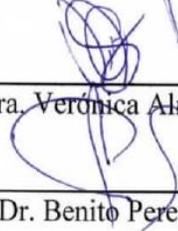
DOCTORADO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN BIOTECNOLOGIA

**DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE RIESGO ECOLÓGICO EN LA ZONA METROPOLITANA DE MONTERREY DEBIDO A METALES PESADOS (Pb Y Cd) Y EMPLEO DE ESTRATEGIAS DE BIORREMEDIACIÓN PARA SU MITIGACIÓN A TRAVÉS DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL.**

**Comité de Tesis**

  
\_\_\_\_\_  
Presidente Dra. Myriam Elías Santos

  
\_\_\_\_\_  
Secretario Dra. Isela Quintero Zapata

  
\_\_\_\_\_  
Vocal Dra. Verónica Almaguer Cantú

\_\_\_\_\_  
Vocal Dr. Benito Pereyra Alférez

  
\_\_\_\_\_  
Vocal Dr. Hugo Alberto Luna

  
\_\_\_\_\_  
Subdirector de Posgrado Dra. Katiúska Azevêdo Niño



**DIRECCIÓN DE POSGRADO**

**DERECHOS RESERVADOS©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo pudo llevarse a cabo gracias al apoyo de una beca por parte del Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías y al Instituto de Biotecnología de la Universidad Autónoma de Nuevo León, laboratorio 2 de Biotecnología Ambiental.

En especial quiero agradecer a la Dra. Myriam Elías Santos y al Dr. Hugo Luna Olvera por la confianza depositada en el trabajo realizado, por todo su apoyo, comprensión y soporte durante el proceso. Gracias por darme la oportunidad de pertenecer a su gran equipo y de aprender durante este tiempo sobre el tema que nos apasiona: el cuidado del medio ambiente.

El trabajo de investigación es un trabajo en equipo, por lo que agradezco infinitamente a mis compañeros del laboratorio 2 de Biotecnología ambiental todo el apoyo que tuvieron conmigo en mi paso por el mismo, a mis tesis de pregrado Jenny, Perla, Claudia, Yessica, mi mayor felicidad es verlas realizadas en su ejercicio profesional, gracias por el tiempo que compartimos. Quiero agradecer también de manera muy especial a la Dra. Magda Vargas cuya asesoría, apoyo, pero sobre todo con su amistad me permitieron dar los pasos finales para la finalización de este trabajo.

Al laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL por todo el apoyo brindado.

A la Universidad Comenius en Bratislava, al equipo de trabajo de fisiología vegetal, Dr. Alexander Lux gracias por tanto conocimiento en tan poco tiempo, gracias por su calidez humana y por las enseñanzas recibidas, por la humildad y compañerismo de todo el equipo mostrado en todo momento.

Al Dr. Ulrico J. Lopez Chuken, y al Dr. Arcadio Valdés, muchas gracias por todos sus conocimientos y asesoría, por sus pacientes retroalimentaciones y por la constante admiración que tengo hacia ustedes, son unos mentores y profesionales excelentes y los admiraré siempre.

A Dios, y a mi hermosa familia por permitirme llegar a este momento. GRACIAS

## **DEDICATORIAS**

A todas aquellas personas que impactaron en mi vida para que este sueño se volviera realidad, dedico humildemente este trabajo.

# ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	4
DEDICATORIAS .....	5
ÍNDICE DE TABLAS.....	8
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
RESUMEN.....	11
ABSTRACT.....	14
INTRODUCCIÓN .....	17
ANTECEDENTES.....	19
JUSTIFICACIÓN.....	21
HIPÓTESIS.....	23
OBJETIVO DEL TRABAJO.....	24
CAPÍTULO 1:.....	25
<b>Presencia de metales pesados en polvo de calle de la zona metropolitana de monterrey....</b>	<b>25</b>
<b>Resumen.....</b>	<b>25</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>26</b>
<b>Material y métodos .....</b>	<b>28</b>
<b>Resultados y Discusión.....</b>	<b>37</b>
CAPITULO 2:.....	46
<b>Evaluación del efecto fisiológico, histológico, factor de traslocación y bioconcentración de metales pesados en <i>P. Stratiotes</i> y <i>Salvinia auriculata</i>.....</b>	<b>46</b>
<b>Resumen.....</b>	<b>46</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>48</b>
<b>Resultados y Discusión .....</b>	<b>54</b>
CAPITULO 3:.....	65
<b>Remoción de metales pesados de efluentes reales contaminados en humedal artificial adaptado con <i>P. stratiotes</i> y <i>Salvinia spp.</i> .....</b>	<b>65</b>
<b>Resumen.....</b>	<b>65</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>67</b>
<b>Material y métodos .....</b>	<b>69</b>
<b>Resultados y Discusión .....</b>	<b>81</b>

**CONCLUSIONES..... 97**  
**PERSPECTIVAS ..... 98**  
**BIBLIOGRAFÍA..... 99**

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Sitios de muestreo, coordenadas y actividad de cada punto de muestreo de polvo de calle en la ZMM.....	30
Tabla 2: Interpretación de la clasificación: índice de geoacumulación (Müller, 1969), índice ecológico potencial e índice de riesgo ecológico (Hakanson, 1980). .....	36
Tabla 3: Comparación de las correlaciones de Pearson: correlación de datos totales y zonas con correlaciones significativas .....	40
Tabla 4: Concentraciones de metales en el polvo de la calle por zona de muestreo, índice de Geo-acumulación (I-Geo) y Riesgo Ecológico Potencial (Eri). .....	42
Tabla 5: Clasificación del Factor de Translocación (FT) y Factor de Bioacumulación (FBC) (Dowdy & McKone 1997) .....	52
Tabla 6: Concentraciones de Pb, Cd y Sb encontradas en hojas y raíces de <i>S. auriculata</i> , con su respectivo error estándar (n=3), cálculo de Factor de bioconcentración (FCB) y Factor de Translocación (FT). .....	55
Tabla 7: Concentraciones de Pb, Cd y Sb encontradas en hojas y raíces de <i>P. stratiotes</i> , con su respectivo error estándar (n=3), cálculo de Factor de bioconcentración (FCB) y Factor de Translocación (FT). .....	57
Tabla 8: Contenido de nutrientes esenciales en las diferentes diluciones de los medios de trabajo. Las determinaciones fueron llevadas a cabo por el laboratorio de servicios profesionales de la Facultad de ciencias Químicas UANL.....	81
Tabla 9: Parámetros de mantenimiento con diferentes concentraciones de medio nutritivo. Los asteriscos señalan los valores significativos a un $p>0.05$ .....	82
Tabla 10: Hallazgos en sitio impactado de zona sur de la ZMM.....	94
Tabla 11: Análisis del efluente a tratar, sedimento de sitio y los valores finales después del tratamiento comparado con la NOM-001-SEMARNAT-2021 (Valor instantáneo en ríos, arroyos, canales y drenes). .....	96

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1: Localización geográfica de los puntos de muestreo en la ZMM, el punto verde señalado es el punto de referencia de un sitio no contaminado. El resto de los puntos marca con diferente color las diferentes zonas de muestreo.....	29
Fig. 2: Concentración promedio de Pb + 2, Zn + 2 y Cd + 2 en polvo de calle por zona de muestreo y su Riesgo Ecológico Potencial (Eri). Los niveles I a V indican la clasificación de Hakanson (1980) I: Potencial bajo, II: Potencial moderado, III: Potencial considerable IV: Potencial alto, V: Potencial muy alto. ....	37
Fig. 3: Índice de riesgo ecológico por zonas de muestreo: zona Industrial (industrial zone), zona vehicular (vehicular zone) y zona comercial (comercial zone). Los niveles de RI están indicados para los números I: Bajo riesgo (Low risk), II: Riesgo moderado (moderate risk) III: riesgo considerable (considerable risk), IV: Riesgo muy alto (Very High Risk).....	44
Fig. 4: a) Mantenimiento y propagación de <i>P. stratiotes</i> y <i>S. auriculata</i> en contenedores al aire libre con medio Hoagland al 10%, b) y c) cosecha de <i>S. auriculata</i> Y <i>P. stratiotes</i> respectivamente. ....	50
Fig. 5: Grupos de experimentación con Pb (300mg/l), Cd (3mg/l) y Sb (10mg/l), a la izquierda grupos de experimentación con <i>P. stratiotes</i> , a la derecha grupos de experimentación con <i>S. auriculata</i> . ....	51
Fig. 6: a. Material requerido para la preparación de la muestra, corte y aclarado. b el uso de la zanahoria como soporte de la preparación de las secciones manuales de las raíces. C uso de soporte de zanahoria para realizar cortes de hojas. d) Cortes transversales hechos manualmente transferidos a porta objetos e) lavado de la solución aclaradora (metanol) imagen obtenida de lux et. al (2015). ....	53
Fig. 7: Aspecto de las raíces en control sin metal, se observa la presencia de la banda de caspary y láminas de suberina Aspecto de las raíces en control sin metal, se observa la presencia de la banda de caspary y láminas de suberina .....	59
Fig. 8: Raíz de <i>P. stratiotes</i> : banda de caspary y depósitos de suberina en presencia de Cd (3mg/l), la línea verde muestra el nivel al que alcanza a detectarse la suberina y la línea roja, el nivel de otros agregados de lignina. ....	60
Fig. 9: Raíz de <i>P. stratiotes</i> banda de caspary y depósitos de suberina en epidermis en presencia de Pb (300mg/l), la línea verde muestra el nivel al que alcanza a detectarse la suberina.....	61
Fig. 10: Raíz de <i>P. stratiotes</i> banda de caspary y depósitos de suberina en epidermisv ante Sb la línea verde muestra el nivel al que alcanza a detectarse la suberina y la línea roja, el nivel de otros agregados de lignina.....	62
Fig. 11: Depósitos subero-lignificados en raíces laterales de <i>P. stratiotes</i> , ante Cd, Pb, y Sb.....	63
Fig. 12: Estructuras y depósitos de lignina en raíces de <i>P. stratiotes</i> ante Cd.....	64
Fig. 13: Estructura y depósitos de lignina en Raíces de <i>P. stratiotes</i> ante Pb.....	64
Fig. 14: Estructura y depósitos de lignina en Raíces de <i>P. stratiotes</i> ante Sb.....	64
Fig. 15: Tipos de humedales segun las plantas predominantes .....	68
Fig. 16: Sitio de colecta de <i>P. stratiotes</i> , el círculo en rojo muestra el sitio, cerca de la isla palapa en la laguna del Champayán, Altamira Tamaulipas. ....	69
Fig. 17: Humedal artificial superficial, construido a partir de un tanque de circulación, la superficie del humedal y un tanque dosificador con sensores eléctricos. El volumen total de trabajo del sistema es de .....	79

Fig. 18: Incremento de peso fresco en los diferentes tratamientos: SNT 1:10, SNT 1:1 y SNT concentrado comparados con el incremento en peso de L-C 1:10, L-C 1:1 y L-C conc., (1, 2 y 3 respectivamente). Peso fresco inicial 2g, 5500 luxes, fotoperíodo 24/24.....	84
Fig. 19: Incremento de peso fresco de <i>Salvinia spp.</i> en medio L-C a través del tiempo, los grupos corresponden a: 10% (dil. 1:10), 50% (dil. 1:1) y 100% (Concentrado) .....	85
Fig. 20: Incremento de peso fresco de <i>salvinia spp.</i> en SNT a través del tiempo, los grupos corresponden a: 10% (dil. 1:10), 50% (dil. 1:1) y 100% (Concentrado) .....	85
Fig. 21: Peso fresco al final del experimento (8 días) de <i>Salvinia spp.</i> , los (*) son los valores significativos comparados con el control (P >0.05), la concentración 100% corresponde al medio concentrado, 50% a la dilución 1:1 y 10% a la dilución 1:10 .....	86
Fig. 22: Cinética de adsorción Cd+2 5mg/L con turba sin tratamiento y con pretratamiento ácido (1% y 10% HCl) .....	87
Fig. 23: Cinética de adsorción Cd+2 100mg/L con turba sin tratamiento y con pretratamiento ácido (1% y 10% HCl).....	88
Fig. 24: Cinética de remoción de Pb+2 por <i>P. stratiotes</i> 5500 luxes, fotoperíodo 24/24 Luz, 3 grupos de trabajo: 75ppm, 150ppm, 300 ppm, n=5.....	90
Fig. 25: Longitud de raíz y peso fresco de <i>P. STRATIOTES</i> ANTE diferentes concentraciones de Pb+2 fotoperíodo 24/24 Luz, 3 grupos de trabajo: 75ppm, 150ppm, 300 ppm, n=5.....	91
Fig. 26: Remoción de Cadmio por <i>Salvinia spp.</i> , 2g (peso fresco) en un volumen total de 400ml durante 5 días con SNT como medio nutritivo de mantenimiento, 5000 luxes de iluminación, fotoperíodo 24h .....	92
Fig. 27: Izquierda: mapa de muestreo con la zona a explorar por el hallazgo de concentraciones altas de cadmio a pesar de no ser zona de actividad industrial. Derecha: Tiro de la mina cercana al río Elizondo.....	93
Fig. 28: Izquierda: Hallazgos de caramuelas ( <i>Illacmes plenipes</i> ) muertas en las márgenes del riachuelo Derecha: riachuelo sin presencia aparente de organismos vivos, con sedimentos rojizos probablemente producto de la actividad minera de antaño .....	93
Fig. 29: derrame de desechos de combustión y aceites al río la silla .....	95

## RESUMEN

El polvo de calle es un medio cada vez más reconocido como una de las fuentes más importantes de contaminación por metales pesados y de exposición humana a los mismos. Se evaluaron las concentraciones de metales pesados (Cd, Pb y Zn) en 41 muestras de polvo de calle en 6 municipios del área metropolitana de Monterrey, Nuevo León, encontrando resultados de orden de concentración de mayor a menor en las zonas centro, oriente, sur y sureste y en el orden de  $Pb > Zn > Cd$ . En todas las zonas fueron detectados los tres metales a excepción de las zonas centro y oriente donde no se detectó la presencia de Cd en los puntos muestreados. La zona centro se caracteriza por su actividad comercial y su tráfico vehicular y fue la zona con mayor contaminación por plomo, encontrando valores promedio de  $1590 \text{ mg kg}^{-1}$  en un área de  $0.450 \text{ m}^2$  obtenida de un muestreo representativo de un área promedio de  $25 \text{ m}^2$  y que representa precisamente el punto más concurrido de la zona metropolitana.

Se tomaron muestras de áreas alejadas de la ZMM consideradas como no impactadas por actividad antropogénica, mostrando concentraciones de plomo de  $7.36 \text{ mg kg}^{-1}$ , cadmio de  $0.25 \text{ mg kg}^{-1}$  y zinc de  $70.5 \text{ mg kg}^{-1}$ , sobre los cuales se calcularon los índices de riesgo ecológico como un nivel inicial y representativo de la orografía de la región, encontrándose índices de riesgo ecológico dentro del rango moderado al extremadamente alto de contaminación en todas las zonas excepto en la zona suroeste.

De acuerdo con los resultados obtenidos se observa que el plomo es el principal contaminante que contribuye a elevar los índices de riesgo ecológico en todas las zonas muestreadas.

*P. stratiotes* y *S. auriculata* fueron sometidas a concentraciones subletales de los metales Cd, Pb y Sb donde se buscó la supervivencia de la planta y a la vez una respuesta clara a la presencia de los contaminantes mediante 3 grupos de ensayo ( $n=3$ ) con concentraciones de Pb  $300 \text{ mg/L}$ , Cd  $3 \text{ mg/L}$  y Sb  $10 \text{ mg/L}$  en contenedores plásticos de 30 litros con medio Hoagland al 10% y manteniendo condiciones controladas en una cámara de crecimiento: fotoperíodo de 12h (día/noche), temperatura  $28^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ , humedad relativa

75% y  $200\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  de radiación fotosintéticamente activa. El experimento tuvo una duración de 16 días

La acumulación de cada uno de los metales en *S. auriculata* fue significativamente mayor en raíces que en hojas en todos los casos analizados, llegando a concentraciones de hasta 250367 mg/kg en el caso de Pb, seguido de Cd con 7837 mg/kg y finalmente 6573 mg/kg para Sb.

*P. stratiotes* ha sido ampliamente estudiada bajo diferentes condiciones de crecimiento y nutrición, pero existen pocos estudios relacionados con la remoción o bioacumulación de Sb en esta especie. Ante una concentración considerada como moderada a alta (10mg/l) se obtuvieron concentraciones de 6860mg/kg y 558mg/kg en raíz y hojas respectivamente. Los resultados obtenidos para *P. stratiotes* en este estudio son similares en condiciones de mantenimiento y concentración a los reportados por diversos autores, obteniéndose valores para Cd (1315 mg/kg), Pb (42862 mg/Kg) y Sb (6860mg/kg).

Los resultados histológicos llevados a cabo en las raíces de *P. stratiotes* muestran los mecanismos de defensa ante los contaminantes activando el alcance de la suberina lamelar y observándose bandas de caspary a mayor distancia de la base de la raíz, además mostrando producción de derivados lignocelulósicos los cuales varían dependiendo del metal estudiado.

La construcción del humedal de flujo superficial involucró la elección de un medio de mantenimiento donde se evaluaron el medio L-C (López -Chuken) y solución nutritiva de turba (SNT) sin dilución, al 50% y 10% evaluándose ambas especies durante 7 días en condiciones controladas: Fotoperíodo 24/24,  $29^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 5500 luxes, HR 65%, n=5, al final del experimento se analizan los parámetros de concentración de clorofila y peso fresco, adicionándose la medición de la raíz para el caso de *P. stratiotes* y siendo en todos los casos el grupo de SNT al 10% el que mejores condiciones de crecimiento mantuvo para ambas especies por lo que se decide utilizar para la adaptación del humedal. Se determinó la remoción debido a la SNT y a la SNT con pretratamiento ácido (TBT) y sin pretratamiento ácido (TB) evaluando 0.3g de turba en turba y 30ml de solución de  $\text{Cd}^{+2}$  en concentraciones de 5mg/L y 100mg/L y pH 5, manteniéndose en agitación (200 rpm a  $28^{\circ}\text{C}$ ) durante 5 horas, tomando 3 ml de muestra en diferentes intervalos de tiempo (0.5 horas, 1 hora, 2 horas, 3 horas y 5 horas) no obteniéndose diferencias significativas en la

remoción de TBT y TB por lo que para la construcción del humedal, se utiliza TB (sin pretratamiento), la remoción de la TB para Pb es tomado de resultados del grupo de investigación llevados a cabo anteriormente. La remoción de Pb y Cd a través del tiempo fue llevado a cabo en experimentos individuales: *P. stratiotes* en botes de 1L con 10% de medio SNT ajustados a pH5 en condiciones de invernadero (temperatura ambiental 30°C +/- 3°C, luz de lámpara con un ciclo de 12h/12h y 5500 luxes) La principal remoción se llevó a cabo en las primeras 48 horas, con una remoción final del 86% para 75mg/L de Pb, 75.82% para 150mg/L de Pb y 75.71% para 300mg/L de Pb, no observándose diferencia significativa entre el porcentaje de remoción final de los grupos 150mg/L y 300mg/L, sin embargo el grupo 150mg/L mostró un descenso en la concentración mayor al de 300mg/L.

*S. mínima* fue evaluada frente a Cd durante el tratamiento de 5 días alcanzando una remoción final del 57% 3.0 mg/l durante 5 días, 2 g de planta (peso fresco en 400ml y SNT 10% como medio nutritivo, ciclo de 12h/12h y 5500 luxes.

EL humedal superficial artificial fue construido para un volumen total de tratamiento de 150L distribuidos a lo largo del sistema, con un sistema de intensidad lumínica de 5000 luxes con fotoperíodo de 24h/24 h y SNT 10% como medio nutritivo, 20 plantas de *P. stratiotes* y 2 g de peso fresco de *S. mínima* manteniendo un flujo de 100ml/min, siendo acondicionado durante 24 horas antes para saturar el sistema y posteriormente adicionar 36 litros de efluente contaminado para dar un volumen de efluente a tratar de 136 L durante 72 horas, donde las concentraciones de los metales y las características principales de contaminación del agua descendieron hasta los niveles permisibles de la NOM-001-SEMARNAT-2021, y dejando material residual de 365g de material vegetal (Peso fresco), 232g de sedimento total retirado del humedal (peso fresco) y un volumen de 126L de efluente tratado.

## ABSTRACT

Street dust is increasingly recognized as one of the most important sources of heavy metal contamination and human exposure to them. The concentrations of heavy metals (Cd, Pb and Zn) were evaluated in 41 samples of street dust in 6 municipalities of the metropolitan area of Monterrey, Nuevo León, finding results in order of concentration from highest to lowest in the central, eastern, south and southeast and in the order of  $Pb > Zn > Cd$ . The three metals were detected in all areas, except for the central and eastern areas where the presence of Cd was not detected. Central area is characterized by its commercial activity and vehicular traffic and was the area with the highest lead contamination, finding average values of 1590 mg kg<sup>-1</sup> in an area of 0.450 m<sup>2</sup> obtained from a representative sampling of an average area of 25 m<sup>2</sup> and that it represents precisely the busiest point in the metropolitan area.

Reference samples were taken from areas far from the MMZ considered not impacted by anthropogenic activity, showing concentrations of lead of 7.36 mg kg<sup>-1</sup>, cadmium of 0.25 mg kg<sup>-1</sup> and zinc of 70.5 mg kg<sup>-1</sup>, on which the values were calculated ecological risk indices as an initial and representative level of the orography region, with ecological risk indices found within the moderate to extremely high range of contamination in all areas except in the southwest area.

According to the results obtained, it is observed that lead is the main contaminant that contributes to raising the ecological risk indices in all the sampled areas.

*P. stratiotes* and *S. auriculata* were subjected to sublethal concentrations of the metals Cd, Pb and Sb where the survival of the plant was sought and at the same time a clear response to the presence of the contaminants through 3 test groups (n=3) were Pb 300 mg/L, Cd 3 mg/L and Sb 10 mg/L in 30 liter plastic containers with 10% Hoagland medium and maintaining controlled conditions in a growth chamber: 12h photoperiod (day/night) , temperature 28°C ±1°C, relative humidity 75% and 200µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> of photosynthetically active radiation and 16 days duration.

The accumulation of each of the metals in *S. auriculata* was significantly higher in roots than in leaves in all the cases analyzed, reaching concentrations of up to 250,367 mg/kg in the case of Pb, followed by Cd with 7,837 mg/kg and finally 6573 mg/kg for Sb.

*P. stratiotes* has been widely studied under different growth and nutrition conditions, but there are few studies related to the removal or bioaccumulation of Sb in this species. At a concentration considered moderate to high (10mg/l), concentrations of 6860mg/kg and 558mg/kg were obtained in roots and leaves respectively.

The results obtained for *P. stratiotes* in this study are similar in maintenance conditions and concentration to those reported by various authors, obtaining values for Cd (1315 mg/kg), Pb (42862 mg/Kg) and Sb (6860 mg/kg).

The histological results carried out on the roots of *P. stratiotes* show the defense mechanisms against contaminants, activating suberin lamellae and observing caspary bands at a greater distance from the base of the root, also showing production of lignocellulosic derivatives. which vary depending on the metal studied.

The construction of the surface flow wetland involved the choice of a maintenance medium where the L-C medium (López -Chuken) and peat nutrient solution (SNT) were evaluated without dilution, 50% and 10%, both species for 7 days in controlled conditions: 24/24 photoperiod, 29°C ± 2°C, 5500 lux, RH 65%, n=5, at the end of the experiment the parameters of chlorophyll concentration and fresh weight are analyzed, adding the measurement of the root to the case of *P. stratiotes* and in all cases the 10% SNT group was the one that maintained the best growth conditions for both species, which is why it was decided to use it for the adaptation of the wetland.

The removal due to SNT and SNT with acid pretreatment (TBT) and without acid pretreatment (TB) was determined by evaluating 0.3g of peat in peat and 30ml of Cd<sup>+2</sup> solution in concentrations of 5mg/L and 100mg/L and pH 5, kept stirring (200 rpm at 28°C) for 5 hours, taking 3 ml of sample at different time intervals (0.5 hours, 1 hour, 2 hours, 3 hours and 5 hours), with no significant differences being obtained in the removal of TBT and TB, so for the construction of the wetland, TB is used (without pretreatment). Removal of Pb and Cd over time was carried out in individual experiments: *P. stratiotes*

in 1L jars with 10% SNT medium adjusted to pH5 in greenhouse conditions (ambient temperature 30°C +/- 3°C, light lamp with a 12h/12h cycle and 5500 lux) The main removal was carried out in the first 48 hours, with a final removal of 86% for 75mg/L of Pb, 75.82% for 150mg/L of Pb and 75.71 % for 300mg/L of Pb, no significant difference was observed between the final removal percentage of the 150mg/L and 300mg/L groups, however the 150mg/L group showed a greater decrease in concentration than that of 300mg/L.

*S. auriculata* was evaluated against Cd during the 5-day treatment, reaching a final removal of 57% 3.0 mg/l for 5 days, 2 g of plant (fresh weight in 400ml and 10% SNT as nutrient medium, 12h cycle/ 12h and 5500 lux).

Artificial surface wetland was built for a total treatment volume of 150L distributed throughout the system, with a light intensity system of 5000 lux with a 24h/24h photoperiod and 10% SNT as a nutrient medium, 20 *P. stratiotes* plants. and 2 g of fresh weight of *S. minimum* maintaining a flow of 100ml/min, being conditioned for 24 hours beforehand to saturate the system and subsequently adding 36 liters of contaminated effluent to give a volume of effluent to be treated of 136 L for 72 hours. , where the concentrations of metals and the main characteristics of water contamination decreased to the permissible levels of NOM-001-SEMARNAT-2021, and leaving residual material of 365g of plant material (fresh weight), 232g of total sediment removed from the wetland (fresh weight) and a volume of 126L of treated effluent.

## INTRODUCCIÓN

Dentro de los elementos en la tabla periódica, los metales pesados ocupan un lugar importante en la vida de los seres humanos, no solo al formar parte de numerosos procesos tecnológicos e industriales, si no como factores que pueden impactar de manera importante su desarrollo mental y físico, su salud, calidad y esperanza de vida dependiendo del nivel de exposición al que esté sometido.

Anteriormente la exposición a estos elementos pesados estaba ligado a la actividad de cada individuo o a la cercanía de sitios de explotación como la minería, sin embargo, esto ya no está limitado a estos factores, ya que la gran concentración derivada de la actividad antropogénica, los sitios contaminados sin resolución producto de emergencias o accidentes químicos, así como el crecimiento exponencial de las ciudades y el crecimiento en consecuencia del parque vehicular provocan que la población se encuentre expuesta por múltiples vías de entrada al organismo y a través de la atmósfera, el agua, los alimentos y la tierra que habita.

Existen numerosos efectos adversos en la salud humana derivados de la exposición a los metales pesados, teniendo el Plomo (Pb) y el Cadmio (Cd) un lugar especial en la consideración de las estrategias de remediación, el primero por su amplia distribución y alta concentración en todos los ecosistemas y el segundo por su capacidad carcinogénica y gran toxicidad. El otro gran problema que representan los metales pesados en el cuerpo humano es que difícilmente pueden eliminarse del cuerpo, ya que se unen fuertemente a proteínas y provocan en el caso del plomo por ejemplo acumulación en hígado y riñones llegando a provocar insuficiencia renal, retraso importante en el desarrollo cognitivo de los niños y aumento en las incidencias de cáncer de pulmón en el caso del cadmio por una parte por el consumo del tabaco y por su facilidad de adsorción por piel y mucosas.

Recientes estudios relacionan la sinergia de la exposición al plomo y al cadmio como factores “oficiales” del aumento del riesgo cardiovascular (Lamas et al., 2021) causando un incremento importante de enfermedades coronarias y accidentes cerebro vasculares derivados solo de la inhalación debida a la contaminación atmosférica. También empieza a aparecer dentro de la agenda pública como un factor importante en el desarrollo de los

niños, en el último reporte de la ENSANUT 2018, han agregado un estudio especial adicional a los cuestionarios de salud, un estudio en la población de niños de 1 a 4 años y mujeres embarazadas para establecer el nivel de plomo en sangre en este nivel de población y por entidad federativa (ENSANUT 2018).

Por todos estos motivos mencionados ha surgido la necesidad de investigar técnicas innovadoras para el tratamiento de los sitios contaminados y el manejo de la contaminación ambiental por metales y una de ellas es la fitorremediación, la aprovecha la capacidad de ciertas plantas para absorber, acumular, metabolizar, volatilizar o estabilizar contaminantes presentes en el suelo, aire, agua o sedimentos como: metales pesados, metales radioactivos, compuestos orgánicos y compuestos derivados del petróleo, representando una alternativa sustentable y de bajo costo en la mayoría de los casos comparado con otros métodos fisicoquímicos.

La fitorremediación es eficazmente utilizada emulando los ejemplos depuradores de la naturaleza como los humedales, los cuales pueden construirse de manera artificial en condiciones controladas para poder mitigar y resolver las emergencias ambientales y proporcionar soporte y servicios ambientales a la población ante la exposición crónica ambiental.

Existen dentro de las plantas consideradas plaga a nivel mundial por su incontrolable crecimiento y resistencia a los contaminantes *Pistia stratiotes* y *Salvinia auriculata* que pueden adaptarse bajo ciertos parámetros de acondicionamiento en humedales superficiales para tratar efluentes contaminados con metales pesados debido a su desarrollado sistema radicular que les permite por una parte contar con una gran extensión de área superficial y por su capacidad de interiorizar y acumular Pb y Cd a concentraciones donde otros organismos ven afectado su metabolismo de manera crítica para su supervivencia. Aunado a su poca necesidad de nutrientes específicos, su capacidad de reproducción y su capacidad de flotación permiten adaptar sistemas interesantes que pueden combinarse con materiales adsorbentes para una remediación rápida, limpia y eficaz con bajo costo de mantenimiento e instalación para tratamientos ex – situ.

## ANTECEDENTES

El estudio de los metales pesados en el medio ambiente y su efecto sobre la salud humana tiene ya varias décadas de ser explorado por muchos organismos internacionales, sin embargo en México tuvo importantes focos de atención en la década de los 80's con los casos de las empresas como Peñoles, que causaron un daño extenso y comprobable en la salud de la población, así como las voces que poco a poco se alzaron ante las empresas mineras por los visibles efectos que la extracción descontrolada y con sistemas no adecuados de tratamiento, impactaron numerosos sitios que hasta el momento siguen sin ser resueltos a falta de infraestructura económica para poder resolver las emergencias ambientales (Molina-Villalba et al., 2015).

Los estudios llevados a cabo de manera sistemática para determinar la calidad del aire de la zona metropolitana de Monterrey determinan la cantidad de partículas suspendidas en el ambiente (PM10 y 2.5), sin embargo, no se determinan las concentraciones de otros tóxicos como los metales pesados que pueden estar presentes en condiciones que los vuelven biodisponibles para las diferentes vías de absorción. La determinación del Potencial de riesgo ecológico y otras herramientas estadísticas y de cálculo, nos permiten determinar zonas con riesgos potencialmente altos de riesgo a la salud de la población, como es el caso de las investigaciones llevadas a cabo en el contenido de trazas de metales en los pozos de agua del área metropolitana de Monterrey donde se encuentran importantes concentraciones de elementos como B, Cr, Br, Zn, As, Al, y Cu, relacionados directamente con la actividad antropogénica de la zona (Ramos et al., 2023), hasta los llevados a cabo en otros compartimentos como el polvo presente en la calle, que se ha vuelto un modelo de estudio recurrente para determinar la cantidad de contaminantes presentes que pueden tener una gran movilidad en los compartimentos ambientales y afectar tanto la calidad del aire como el agua subterránea y superficial (Barajas-herrera, 2008; Blanco-Jiménez et al., 2015; Orta-García et al., 2016; Valdez Cerda et al., 2011)

Derivado de la contaminación por metales pesados en polvo de calle y material particulado, las estrategias de remediación y la evaluación de sitios impactados por la actividad antropogénica tiene poco abordaje por parte de las autoridades y pocos o ningún plan de desarrollo para la remediación de la misma, por lo que aportar estrategias de

biorremediación con tecnologías limpias y accesibles se vuelve una parte importante para acrecentar el abanico de opciones ante las emergencias ambientales que han ido exponencial aumento a través de los años. (Davis & Birch, 2010; Gill et al., 2014; Hwang et al., 2016)

La fitorremediación en humedales artificiales ha sido ampliamente estudiada con numerosas especies, en particular elegir aquellas especies adaptadas a las zonas de trabajo y que cumplan con características de hiperacumulación y reproducción rápida además de mecanismos de defensa bien establecido ante los contaminantes objetivos así como las condiciones óptimas de operación y mantenimiento del humedal ha dado perspectivas asequibles de tratamiento de efluentes contaminados por la industria directamente como los deshechos de la curtiduría, viñedos, granjas, drenajes ácidos de minas (Batty et al., 2006; Gill et al., 2014; Gomes et al., 2014; Sheoran & Sheoran, 2006; Stottmeister et al., 2006; Yadav & Chandra, 2011).

Las macrófitas flotantes como *Pistia stratiotes* y *Salvinia spp.* han sido ampliamente estudiadas a escala de laboratorio en humedales construidos para el tratamiento de deshechos reales o sintéticos, pero entender también los mecanismos que las fortalecen y su reacción ante los diferentes contaminantes y la combinación de ellos en el medio de mantenimiento es importante para potencializar y optimizar la operación de estos sistemas. Por ello las herramientas de evaluación de parámetros biológicos y el análisis histológicos y genéticos de las especies ante diferentes concentraciones de contaminantes y sus posibles mecanismos ante ellos han cobrado fuerza en los últimos años y acompaña cada vez más a los estudios de remediación lo que ha permitido mejorar la nutrición y soporte de manera más eficiente (Hauser et al., 2017; Kovác et al., 2018; Lux et al., 2015; Singha et al., 2019; Vaculík et al., 2012)

## JUSTIFICACIÓN

Conforme la actividad industrial creció en el noreste de México, múltiples emergencias ambientales surgieron a lo largo de los años, teniendo una tendencia acumulativa importante, principalmente debida al alto costo que implica la remediación de cada uno de estos sitios. La SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales) cuenta con un Inventario Nacional de Sitios Contaminados (INSC) donde reporta para el año 2018 un estimado de 913 sitios contaminados; a su vez la CONAGUA (Comisión Nacional del Agua) reporta para el mismo año un estimado de 40 sitios de aguas subterráneas contaminadas, sin embargo el número puede ser mucho mayor dado que el INSC se compone principalmente de aquéllos sitios que son denunciados formalmente a los organismos gubernamentales mencionados o que presentan una solicitud de remediación a los mismos (SEMARNAT, 2021).

Los sitios potencialmente contaminados, son aquellos sitios identificados pero que no han sido caracterizados para comprobar su contaminación. El censo de estos sitios fue llevado a cabo durante el período 2006-2011, obteniendo un total de 594 sitios contaminados a nivel nacional, y 623 sitios contaminados hasta el 2016 por lo que se carece de información actualizada sobre el estado actual de los sitios identificados en ese período de tiempo. La generación de información es una herramienta crucial para el diagnóstico y la toma de decisiones que impactan directamente en el bienestar de población y ecosistema, por lo que forma parte de los objetivos de la SEMARNAT al comprometer a las administraciones a tener un inventario actualizado y confiable para 2040 sobre estos sitios, no obstante el daño a la salud y la creciente contaminación sin intervención efectiva requieren de la investigación y aporte de datos con la finalidad de apoyar a la caracterización de sitios y la tendencia y estado de la contaminación en el país así como nuevas tecnologías amigables con el medio ambiente y asequibles económicamente que permitan un abordaje rápido y eficaz (SEMARNAT, 2021).

El daño a la salud y al medio ambiente debido a la presencia de metales pesados no se limita a los sitios contaminados, la movilidad a través de los diferentes ecosistemas debido a los cambios ambientales, condiciones del medio y características específicas del

elemento dificultan su remediación y caracterización. Su presencia en la atmósfera ha tomado relevancia mundial al estimarse al menos 7 millones de muertes de acuerdo con un informe de la OMS en 2012 derivadas de la exposición al aire contaminado tanto fuera como dentro de casa (World Health Organization [en línea], 2014).

No conforme con el alto costo en salud y calidad de vida de la población, el costo por remediar un solo sitio contaminado con metales pesados puede alcanzar cifras potencialmente imposibles de cubrir. Ledesma-Carrión en 2021 propuso tablas dinámicas que ayudaran a estimar los escenarios tomando como ejemplo el cierre de una mina donde los costos por m<sup>2</sup> ponen en contexto la gravedad de la situación actual del país y la urgencia de desarrollar tecnología para manejar este tipo de desastres.

Por último, el diseño de estrategias para remediar emergencias ambientales por metales pesados como pueden ser los humedales artificiales, cuando ya los metales pesados han llegado a afectar los sistemas acuíferos, necesitan ser reforzados con información y revisión del potencial de las plantas endémicas de la región que permitan mejorar los costos de remediación de manera sustancial sin daño al sitio y con la eficiencia y rapidez requerida (Alcázar-Medina et al., 2020; Navarrete-Rodríguez et al., 2020).

## **HIPÓTESIS**

La zona metropolitana de Monterrey presenta un índice de riesgo debido a la presencia de metales pesados (Pb, Cd y Zn) de acuerdo con la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 en polvo de calle.

El humedal superficial adaptado con macrófitas flotantes y medio de turba removerán los metales pesados del efluente contaminado hasta los niveles permitidos por la norma en condiciones normales de operación.

## OBJETIVO DEL TRABAJO

### Objetivo General

Determinar el índice de riesgo ecológico debido a la presencia de Pb, Cd y Zn en el área metropolitana de Monterrey y proponer una estrategia de fitorremediación a través de un humedal superficial para efluentes contaminados con metales pesados.

### Objetivos específicos

- Determinar el índice de riesgo ecológico mediante el análisis del contenido de metales pesados en especial Pb, Cd y Zn de polvo de calle de puntos de muestreos en la zona metropolitana de Monterrey
- Evaluar la capacidad de remoción de Pb y Cd por las especies *P. stratiotes* y *Salvinia spp.* En medios nutritivos convencionales y uno a base de turba (peat moss).
- Evaluar los cambios morfológicos y mecanismos de defensa de *P. stratiotes* ante la presencia de Pb y Cd.
- Evaluar los cambios morfológicos y mecanismos de defensa de *P. stratiotes* ante Sb como metal de interés en contraste con Pb y Cd.
- Remover los metales pesados presentes en un efluente contaminado mediante un humedal superficial adaptado con *P. stratiotes* y *Salvinia spp* a niveles permisibles de acuerdo con las normas mexicanas vigentes.

## CAPÍTULO 1:

### **Presencia de metales pesados en polvo de calle de la zona metropolitana de monterrey.**

#### **Resumen**

El polvo de calle es un medio cada vez más reconocido como una de las fuentes más importantes de contaminación por metales pesados y de exposición humana a los mismos. Se evaluaron las concentraciones de metales pesados (Cd, Pb y Zn) en 41 muestras de polvo de calle en 6 municipios del área metropolitana de Monterrey, Nuevo León, encontrando resultados de orden de concentración de mayor a menor en las zonas centro, oriente, sur y sureste y en el orden de  $Pb > Zn > Cd$ . En todas las zonas fueron detectados los tres metales a excepción de las zonas centro y oriente donde no se detectó la presencia de Cd en los puntos muestreados. La zona centro se caracteriza por su actividad comercial y su tráfico vehicular y fue la zona con mayor contaminación por plomo, encontrando valores promedio de  $1590 \text{ mg kg}^{-1}$  en un área de  $0.450 \text{ m}^2$  obtenida de un muestreo representativo de un área promedio de  $25 \text{ m}^2$  y que representa precisamente el punto más concurrido de la zona metropolitana.

Se tomaron muestras de áreas alejadas de la ZMM consideradas como no impactadas por actividad antropogénica, mostrando concentraciones de plomo de  $7.36 \text{ mg kg}^{-1}$ , cadmio de  $0.25 \text{ mg kg}^{-1}$  y zinc de  $70.5 \text{ mg kg}^{-1}$ , sobre los cuales se calcularon los índices de riesgo ecológico como un nivel inicial y representativo de la orografía de la región, encontrándose índices de riesgo ecológico dentro del rango moderado al extremadamente alto de contaminación en todas las zonas excepto en la zona suroeste.

De acuerdo con los resultados obtenidos se observa que el plomo es el principal contaminante que contribuye a elevar los índices de riesgo ecológico en todas las zonas muestreadas.

## **Introducción**

El polvo de calle es ampliamente reconocido como una de las fuentes de contaminación por metales pesados en áreas urbanas y representa una vía importante de exposición humana (Ghanavati et al., 2019; Kumar et al., 2013; Molina-Villalba et al., 2015). Diversos estudios reportan que el polvo de calle tiene una composición estimada de alrededor del 40% de cuarzo y otros minerales, cerca del 2% de materia orgánica y aproximadamente un 30% de otras partículas que son elementos potencialmente tóxicos (EPT), dentro de los cuales se encuentran principalmente metales pesados (Gunawardana et al., 2012; Karanasiou et al., 2014). La principal característica que permite al polvo de calle ser el vehículo de estos EPT es su tamaño de partícula, el cual es usualmente de apenas unos pocos micrones, está presente como un sedimento sólido o suspendido como un aerosol atmosférico viajando, suspendiéndose y precipitándose hacia la superficie a través de deposiciones secas o húmedas permitiéndole una gran movilidad en el ambiente (Elom et al., 2014; Liu et al., 2014). Cada metal pesado puede tener más de una fuente, dependiendo de la naturaleza del punto de muestreo y sus actividades antropogénicas específicas, particularmente de las emisiones de la industria automotriz de la cuales se desprende grandes cantidades de zinc (Zn), cobre (Cu), plomo (Pb), níquel (Ni), cromo (Cr) y cadmio (Cd), mientras que otros metales como el hierro (Fe), aluminio (Al) y manganeso (Mn), por citar solo algunos, pueden ser encontrados como parte natural de la composición del suelo por lo que su caracterización en la orografía de la regiones puede dar información importante sobre la actividad antropogénica de la zona (Gunawardana et al., 2012).

La principal vía de exposición del polvo de calle en humanos es a través de la inhalación, seguida por el contacto dérmico y la ingestión relacionada principalmente por sitios de comida expuestos a los mismos (Elom et al., 2014; Laidlaw & Taylor, 2011; Okorie et al., 2012; Valdez Cerda et al., 2011). La exposición a los metales pesados es causa de serios problemas de salud, como la disrupción endocrina, generación de radicales libres (que puede derivar en una gran diversidad de enfermedades crónico-degenerativas y neoplasias), e incluso el reemplazo de elementos esenciales en el cuerpo (Cao et al., 2014) por lo que la evaluación

de este tipo de contaminación y el cálculo del riesgo ecológico actual es importante para poder determinar medidas de precaución y remediación en la sociedad.

La Zona Metropolitana de Monterrey (ZMM), es la segunda región económica e industrial más importante de México, donde operan un estimado de 5800 empresas del giro metalúrgico, automotriz, químico, electrónico, de la construcción, materiales además de curtiduría, producción de papel, asbestos y cementos (INEGI, 2020). Por lo tanto, la selección de los metales en este estudio (Pb, Cd y Zn) fueron considerados por ser los más representativos de acuerdo con las actividades del área. La ZMM también es considerada una de las áreas más pobladas de México, siendo la tercera a nivel nacional con al menos 4 millones de habitantes de acuerdo con el último censo, y con cerca de 2.5 millones de vehículos los cuales contribuyen de manera muy importante a la emisión de particular menores a 2.5 micrones (PM 2.5) (Mancilla & Mendoza, 2012). Las condiciones secas del clima durante el verano y las temporadas de lluvia durante primavera y otoño, adicionalmente a la orografía circundante de la ZMM, incrementan la circulación y acumulación de polvo lo que provoca una gran movilidad de contaminantes con una deposición impredecible (Blanco-Jiménez et al. 2015) por lo que toma importancia los índices ecológicos como el índice de geo-acumulación (Igeo), el potencial de riesgo ecológico (Eri) y el índice de Riesgo Ecológico (RI), junto a herramientas estadísticas que permitan correlacionar e identificar las posibles fuentes de contaminación como el Análisis de Correlación de Pearson ayudan a sentar precedentes en el desarrollo de estrategias de acciones correctivas y preventivas e incluso para poder dar explicación al aumento en los índices de morbilidad y mortalidad en la población (Al-Khashman, 2013; Hakanson, 1980; Müller, 1969; Shi & Wang, 2013; Wu et al., 2014).

Pocos estudios se han llevado a cabo en la ZMM respecto a cómo han evolucionado los índices de contaminación y la presencia de los metales pesados en el polvo de calle, sus posibles fuentes actuales y su asociación al riesgo de salud humana, (Barajas-herrera, 2008; Gulia et al., 2019; Valdez Cerda et al., 2011), e incluso el incremento al riesgo cuando estos contaminantes son transportados por la lluvia y lavados de las calles hacia ríos o lagunas (Amato et al., 2014; Hwang et al., 2016; Karanasiou et al., 2014; M. Kumar et al., 2013; Pereira et al., 2015).

## **Material y métodos**

### **Características del sitio de estudio**

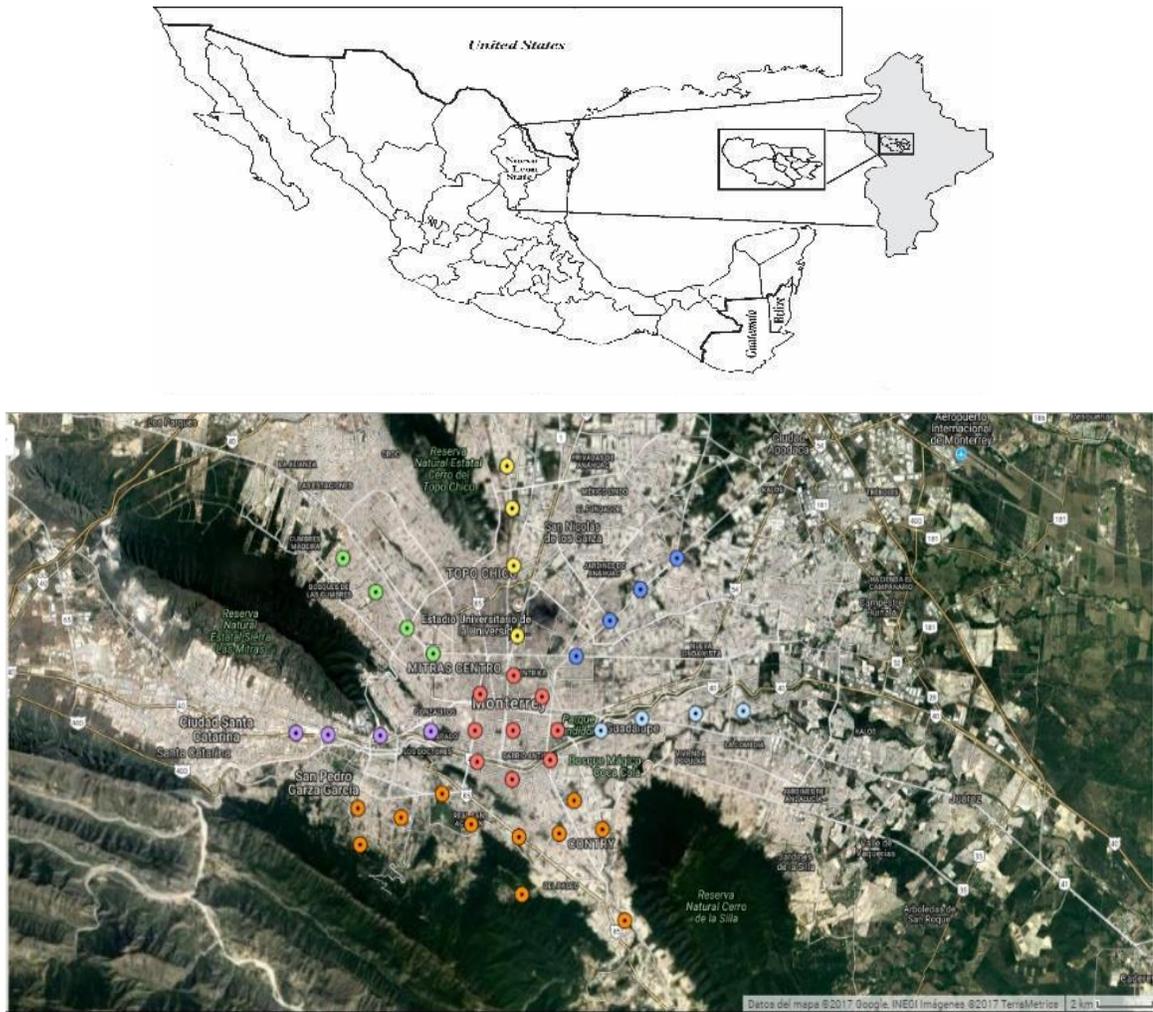
El estudio se llevó a cabo en 6 de los 12 municipios que integran la Zona Metropolitana de Monterrey (ZMM): General Escobedo, Guadalupe, Monterrey, San Nicolás de los Garza, San Pedro Garza García y Santa Catarina, los cuales se encuentran en el área central de la ZMM y poseen una densidad urbana promedio de 109 hab / ha (INEGI, 2020). El clima de la ZMM se define como seco y muy caliente durante el verano ( $30.5^{\circ}$  -  $41.5^{\circ}$  C) y frío en invierno ( $-2.0$  -  $6.0^{\circ}$  C), con una temperatura media anual de  $23^{\circ}$  C. y tiene 2 estaciones lluviosas principales: en abril y mayo (90 mm) y la principal en septiembre y octubre (240 mm), la precipitación promedio anual normalmente no excede 600 mm, y se clasifica dentro de los climas áridos semi-cálidos . El período de muestreo fue de abril a mayo de 2015 y mostró un patrón de lluvia inversa en comparación con las estadísticas de años anteriores que pudieron ser causadas por el fenómeno "El Niño" presente durante 2015 y principios de 2016. Por ejemplo, la precipitación fue de 80.9 mm en abril y 126,4 mm en mayo comparado con un promedio de 65,7 mm presente en agosto, septiembre y octubre (Comisión Nacional del Agua, 2015).

El área de la ZMM pertenece a la cuenca del Río Bravo-San Juan siendo sus principales cuerpos de agua el río Santa Catarina y el río La Silla, así como los arroyos Topo Chico, Talaverna, Elizondo y Río Seco en esta zona urbana. La ciudad está rodeada de montañas naturales de gran altitud (más de 1800 metros sobre el nivel del mar) como la Sierra de las Mitras, la Sierra de la Silla y el frente norte de la Sierra Madre Oriental. Su suelo es principalmente Litosol, Feozem, Vertisol y Regosol con estructuras calcáreas, su vegetación está concentrada (82%) en la zona del Cañón de El Huajuco, predominando el monte bajo sub-montano y presenta una desertificación del 15% en áreas no urbanizadas debido a la erosión y arrastre de materiales (Gobierno Municipal de Monterrey, 2013).

### **Determinación de sitios de muestreo**

Se analizaron tres metales pesados en el polvo de calle recolectado: Pb, Cd y Zn, ya que son representativos de la contaminación por fuentes móviles y estacionarias. Los sitios de muestreo fueron seleccionados usando un sistema de posicionamiento global (GPS) y siguiendo un patrón radial de  $45^{\circ}$  desde el centro antiguo (C) de la ciudad de Monterrey ( $25^{\circ} 40'17''N$  y  $100^{\circ} 18'31''O$ ). Se estableció una distancia radial de muestreo de

aproximadamente 3 km en ocho direcciones: Norte (N), Nordeste (NE), Noroeste (NO), Oeste (O), Este (E), Sur (S), Sureste (SE) y Suroeste (SO). Los sitios con influencia mínima aparente del tráfico industrial y vehicular se consideraron como referencia de puntos no impactados dentro del área de muestreo (Fig. 1).



**FIG. 1: LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DE LOS PUNTOS DE MUESTREO EN LA ZMM, EL PUNTO VERDE SEÑALADO ES EL PUNTO DE REFERENCIA DE UN SITIO NO CONTAMINADO. EL RESTO DE LOS PUNTOS MARCA CON DIFERENTE COLOR LAS DIFERENTES ZONAS DE MUESTREO**

Los ocho puntos más cercanos al punto de referencia formaron la región central y se agruparon en nueve conjuntos de datos. Se recolectó un total de 41 muestras de acuerdo con los puntos reflejados en la tabla 1.

**TABLA 1: SITIOS DE MUESTREO, COORDENADAS Y ACTIVIDAD DE CADA PUNTO DE MUESTREO DE POLVO DE CALLE EN LA ZMM.**

<b>Zona</b>	<b>Sitio de muestreo (Intersección de calles y municipio)</b>	<b>Coordenadas</b>	<b>Principal fuente de contaminación</b>
<b>Centro</b>	Benito Juárez, Monterrey	25°40'36.0"N, 100°18'51.0" O	Zona Comercial y tráfico vehicular
<b>Centro</b>	M.M de Llano y Batallón de San Blas, Monterrey	25°40'35.7"N, 100°17'38.2" O	Tráfico vehicular
<b>Centro</b>	Progreso y Platón Sánchez, Monterrey	25°41'19.7"N, 100°18'03.4" O	Industrial
<b>Centro</b>	Av. Venustiano Carranza, Monterrey	25°41'19.1"N, 100°19'49.2" O	Industrial y tráfico vehicular
<b>Centro</b>	Av. General Anaya, Monterrey	25°41'47.5"N, 100°18'49.8" O	Industrial y tráfico vehicular
<b>Centro</b>	Av. Venustiano Carranza, Monterrey	25°40'35.4"N, 100°19'55.5" O	Zona Comercial y tráfico vehicular
<b>Centro</b>	Calle Libertad, Monterrey	25°39'30.6"N, 100°18'52.8" O	Tráfico vehicular
<b>Centro</b>	Calle Miguel Nieto, Monterrey	25°39'54.3"N, 100°19'51.1" O	Industrial y tráfico vehicular
<b>Centro</b>	Calle Juventino Rosas, Monterrey	25°39'56.8"N, 100°17'51.0" O	Tráfico vehicular
<b>Noreste</b>	Av. López Mateos, San	25°44'23.1"N 100°14'19.6" O	Industrial y tráfico vehicular

	Nicolás de los Garza		
<b>Noreste</b>	Av. López Mateos y Conductores, San Nicolás de los Garza	25°43'41.0"N 100°15'20.7" O	Industrial y tráfico vehicular
<b>Noreste</b>	Av. López Mateos y Juan Pablo II, San Nicolás de los Garza	25°43'00.4"N 100°16'10.7"O	Industrial y tráfico vehicular
<b>Noreste</b>	Av. Ruiz Cortines y Olivo, Guadalupe	25°42'13.3"N 100°17'05.2" O	Industrial y tráfico vehicular
<b>Noroeste</b>	Av. Ruiz Cortines y Av. Gonzalitos, Monterrey	25°42'17.59"N,100°21'04.40"O	Tráfico vehicular
<b>Noroeste</b>	Calle Joaquín Pardavé y Quetzal, Monterrey	25°44'22.21"N,100°23'34.28"O	Tráfico vehicular
<b>Noroeste</b>	Calle Zapopan y Olmo, Monterrey	25°43'37.88"N,100°22'38.79"O	Tráfico vehicular
<b>Noroeste</b>	Av. Ruiz Cortines y Av. Rangel Frías, Monterrey	25°43'11.44"N,100°21'29.94"O	Industrial y tráfico vehicular
<b>Norte</b>	Av. Alfonso Reyes y Fco. Bocanegra, Monterrey	25°42'40.4"N 100°18'44.7"O	Industrial y tráfico vehicular
<b>Norte</b>	Av. Manuel L. Barragán y Av.	25°44'12.9"N 100°18'50.5"O	Industrial y tráfico vehicular

	Almazán, Monterrey		
<b>Norte</b>	Av. Stiva y Balcones de Anáhuac, San Nicolás de los Garza	25°45'27.9"N 100°18'53.1"O	Industrial y tráfico vehicular
<b>Norte</b>	Av. Raúl Salinas y Michoacán, Escobedo	25°46'24.1"N 100°19'01.5"O	Tráfico vehicular

<b>Zona</b>	<b>Sitio de muestreo (Intersección de calles y municipio)</b>	<b>Coordenadas</b>	<b>Principal fuente de contaminación</b>
<b>Oeste</b>	Av. Gonzalitos y Medirichaga, Monterrey	25°40'34.6"N 100°21'08.0"O	Tráfico vehicular
<b>Oeste</b>	Av. Rogelio Cantú Gómez, Monterrey	25°40'28.2"N 100°22'32.6"O	Tráfico vehicular
<b>Oeste</b>	Av. Gustavo Díaz Ordaz, San Pedro Garza García	25°40'29.0"N 100°24'00.5"O	Zona Comercial y tráfico vehicular
<b>Oeste</b>	Av. Gustavo Díaz Ordaz y Zinc, Santa Catarina	25°40'31.8"N 100°24'51.5"O	Industrial y tráfico vehicular
<b>Este</b>	Av. Morones Prieto y Guadalupe, Monterrey	25°40'35.4"N, 100°16'26.7" O	Tráfico vehicular
<b>Este</b>	Calle Aldama y Nicolás Bravo, Guadalupe	25°40'51.3"N, 100°15'18.4" O	Tráfico vehicular
<b>Este</b>	Av. Plutarco Elías Calles y Lázaro Cárdenas, Guadalupe	25°40'55.8"N, 100°13'49.5" O	Tráfico vehicular

<b>Este</b>	Av. Plutarco Elías Calles y San Rafael de los Lermas, Guadalupe	25°41'01.3"N, 100°12'30.9" O	Tráfico vehicular
<b>Sur</b>	Av. Lázaro Cárdenas y María Elena, San Pedro Garza García	25°38'15.2"N 100°18'42.4"O	Zona Comercial y tráfico vehicular
<b>Sur</b>	Av. Renacimiento y Florencia, Monterrey	25°36'59.3"N 100°18'38.1"O	Zona Comercial y tráfico vehicular
<b>Sur</b>	Av. Alfonso Reyes y Miramar, Monterrey	25°38'19.7"N 100°17'35.8"O	Tráfico vehicular
<b>Sur</b>	Av. Eugenio Garza Laguera, San Pedro Garza García	25°38'31.1"N 100°20'01.3"O	Zona Comercial y tráfico vehicular
<b>Sureste</b>	Av. Revolución y Alfonso Reyes, Guadalupe	25°38'24.96"N,100°16'23.46"O	Zona Comercial y tráfico vehicular
<b>Sureste</b>	Av. Luis Elizondo, Monterrey	25°39'2.57"N, 100°17'10.39"O	Zona Comercial y tráfico vehicular
<b>Sureste</b>	Av. Paseo de la Luz y parque natural Río la Silla, Monterrey	25°36'25.13"N,100°15'47.24"O	Tráfico vehicular
<b>Sureste</b>	Calle Copérnico y Galileo Galilei, Guadalupe	25°37'22.2"N 100°16'00.4"O	Tráfico vehicular
<b>Suroeste</b>	Av. Vasconcelos y Cedros, San Pedro Garza García	25°39'11.8"N 100°20'48.7"O	Tráfico vehicular
<b>Suroeste</b>	Calle Sierra del Pino y Montserrat, San Pedro Garza García	25°38'40.46"N,100°21'57.25"O	Tráfico vehicular

<b>Suroeste</b>	Av. Alfonso Reyes y Olimpiadas, San Pedro Garza García	25°38'52.8"N 100°23'09.8"O	Tráfico vehicular
<b>Suroeste</b>	Av. Colonial de la Sierra y Manzanares, San Pedro Garza García	25°38'05.0"N 100°23'05.2"O	Tráfico vehicular

Cada muestra se compuso de 5 submuestras tomadas en un área de 5 m<sup>2</sup> utilizando espátulas de polietileno. Cada submuestra se colocó en bolsas de polietileno etiquetadas y se almacenó a temperatura ambiente en un ambiente seco. Posteriormente, todas las muestras se pasaron a través de un tamiz de nylon de 2 mm para obtener una muestra compuesta para cada punto de muestreo, que se secó a 105°C. Entre muestreos, las espátulas de polietileno se lavaron completamente usando HCl al 5% seguido de agua desionizada para eliminar los metales adsorbidos en el material.

#### **Determinación de Pb, Cd y Zn por absorción atómica**

Todos los reactivos, ácidos y estándares metálicos utilizados para los análisis Pb, Zn y Cd fueron certificados como grado analítico (Merck, Alemania). Se utilizó agua desionizada grado miliq (equipo Milipure), placas de calentamiento y un espectrómetro de absorción atómica (GBC Modelo 932 AA) para la digestión y el análisis de las muestras.

Todo el material de vidrio utilizado se lavó con detergente alcalino, luego se colocó en un baño ácido (10% HCl) durante al menos 8 horas y posteriormente se enjuagó cinco veces con abundante agua desionizada y se dejó secar para su posterior uso en determinaciones cuantitativas (USEPA, 1996). Se utilizó un material de referencia (Metales ERA en suelo, D069-540) como parte de la validación del método y la calidad del estudio. Se analizó una muestra de este material de referencia con cada lote de muestras experimentales y, en todos los casos, los resultados estuvieron dentro del rango de concentración de metales reportado (Cd: 70 mg kg, Zn: 228 mg kg, Plomo: 150 mg / kg).

Las muestras se digirieron con ácido siguiendo el método de la EPA de EE. UU. 3050B (USEPA, 1996). Se colocó un gramo (peso seco) de cada muestra compuesta en matraces Erlenmeyer de 125 ml y se añadieron 30 ml de solución de HNO<sub>3</sub>: HCl (1: 3) y se calentó

a 300°C durante 1 hora. Después de la digestión, las muestras se dejaron enfriar y se filtraron (Whatman 41). Las muestras se diluyeron a 25 ml en un matraz volumétrico con agua miliq y se almacenaron a 4 ° C hasta el análisis. Junto con las muestras, se analizaron los testigos de digestión del material de referencia y el agua utilizada como controles.

### **Cálculo de índices de contaminación (I-Geo, $Er^i$ , RI)**

El índice de geo-acumulación (I-Geo) (Müller, 1969), el riesgo ecológico potencial ( $Er^i$ ) y el índice de riesgo ecológico (RI) (Hakanson, 1980), son herramientas importantes para estimar la contaminación de metales pesados tomando como referencia los valores naturales del suelo cerca del área de estudio, o valores encontrados cerca del área de estudio que se consideran no afectados (Al-Khashman, 2013; Kurt-Karakus, 2012; Li et al., 2015; Saeedi et al., 2012; Suryawanshi et al., 2016; Tang et al., 2013).

El I-Geo (Müller, 1969) se calculó de la siguiente manera:

$$I_{geo} = \frac{\log_2 C_s}{1.5 B_n}$$

Donde  $C_s$  refiere a la concentración del metal colectado en las muestras y  $B_n$  a los valores de referencia del sitio no contaminado. El factor 1.5 se aplica a los valores de fondo o referencia para controlar la variabilidad.

El potencial de riesgo ecológico ( $Er^i$ ) y el Índice de Riesgo Ecológico (RI) se obtuvieron calculando el factor de contaminación de cada metal ( $C_i^f$ ) en relación con los valores de fondo y al Factor tóxico del metal ( $Tr^i$ ) (Hakanson, 1980)

$$RI = Er^i; Er^i = Tr^i * C_i^f; C_i^f = \frac{C_i^1}{C_n^i}$$

$C_{o-1}^i$  es la concentración obtenida de cada metal en cada muestra obtenida,  $C_n^i$  corresponde a los valores de fondo determinados en el área considerada como no contaminada al suroeste de la ZMM. Finalmente, el  $Tr^i$  es un valor estándar para cada metal en particular, donde se establecen los valores siguientes según el metal analizado: Cd (30), Pb (5), Zn (1) y se basa en la toxicidad y naturaleza de cada uno de ellos, esto factores fueron establecidos por Hakanson (1980).

La interpretación de los valores de I-Geo, Er<sup>i</sup> y RI se muestra en la tabla 2.

**TABLA 2: INTERPRETACIÓN DE LA CLASIFICACIÓN: ÍNDICE DE GEOACUMULACIÓN (MÜLLER, 1969), ÍNDICE ECOLÓGICO POTENCIAL E ÍNDICE DE RIESGO ECOLÓGICO (HAKANSON, 1980).**

Índice de Geo- accumulación		Potencial de riesgo ecológico		Índice de Riesgo Ecológico	
<i>Valor</i>	<i>Clasificación</i>	<i>Valor</i>	<i>Clasificación</i>	<i>Valor</i>	<i>Clasificación</i>
<b>I-geo</b> ≤ 0	No contaminado	Er <sup>i</sup> < 40	Bajo potencial	RI ≤ 150	Bajo Riesgo
<b>0 &lt; I-geo</b> <1	No contaminado- moderadamente contaminado	40 ≤ Er <sup>i</sup> < 80	Moderado potencial	150 ≤ RI < 300	Moderado riesgo
<b>1 ≤ I-geo</b> <2	Moderadamente contaminado	80 ≤ Er <sup>i</sup> < 160	Considerable potencial	300 ≤ RI < 600	Considerable riesgo
<b>2 ≤ I-geo</b> <3	Moderado a altamente contaminado	160 ≤ Er <sup>i</sup> < 320	Alto potencial	RI ≥ 600	Muy alto riesgo
<b>3 ≤ I-geo</b> <4	Altamente contaminado	Er <sup>i</sup> ≥ 320	Muy alto potencial		
<b>4 ≤ I-geo</b> <5	Alto a extremadamente contaminado				
<b>I-geo</b> ≥ 5	Extremadamente contaminado				

### Métodos estadísticos

La desviación estándar (SD) y las correlaciones de Pearson se calcularon utilizando el software IBM® SPSS Statistics 20, el límite de detección se calculó con la fórmula: MDL = Mean + (2 × SD)

## Resultados y Discusión

### Concentración de metales y su Er<sup>i</sup>

Los resultados promedio obtenidos de las áreas de muestreo se presentan en la fig. 2

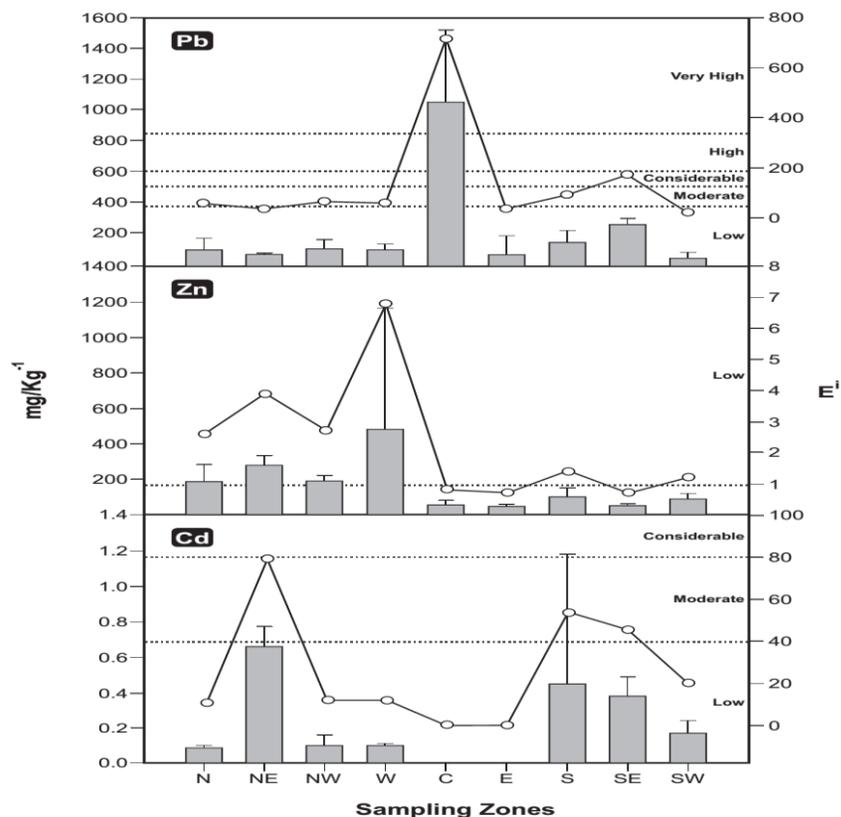


FIG. 2: CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE Pb + 2, Zn + 2 Y Cd + 2 EN POLVO DE CALLE POR ZONA DE MUESTREO Y SU RIESGO ECOLÓGICO POTENCIAL (Er<sup>i</sup>). LOS NIVELES I A V INDICAN LA CLASIFICACIÓN DE HAKANSON (1980) I: POTENCIAL BAJO, II: POTENCIAL MODERADO, III: POTENCIAL CONSIDERABLE IV: POTENCIAL ALTO, V: POTENCIAL MUY ALTO.

La concentración de Pb en la zona centro (C), resulta visiblemente mayor que el resto de los sitios de muestreo (Fig.2) presentando un promedio de  $1053.7 \pm 468.6$  (n=9) mg Pb kg<sup>-1</sup> con variaciones desde  $604.8 \pm 16.42$  to  $1590 \pm 29.75$  mg Pb kg<sup>-1</sup>, mientras que en el resto de las 8 zonas se encontraron concentraciones menores a las permitidas por la norma regulatoria mexicana de 400 mg kg<sup>-1</sup> (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, 2007). La zona C se caracteriza por ser principalmente un área comercial con intenso tráfico vehicular y peatonal, además la presencia de escuelas y el gran número de peatones y

sitios de comida rápida sobre las principales avenidas contribuyen a incrementar el riesgo de exposición de estos metales pesados en la población.

El Pb en el polvo de calle ha sido ampliamente estudiado (Cao et al., 2014; Elom et al., 2014) ATSDR (2007), estima que un adulto puede absorber hasta un 10% del Pb en el ambiente por ingestión, mientras que en los niños este porcentaje se incrementa hasta en un 50% en la misma vía de exposición (Laidlaw & Taylor, 2011). De acuerdo con el  $Er^i$ , solo las zonas NE, E y SE se mantienen en el rango bajo de riesgo (Fig.2) mientras que el resto de las áreas muestran valores de  $Er^i$  que van desde el rango moderado al muy alto, especialmente las zonas SE y S. La dirección de los vientos juega un importante rol en estos resultados, al igual que lo reportado por Li et al., (2013) y Meza-Figueroa et al. (2007) donde los vientos predominantes provocaron resultados fuera de las expectativas al no encontrarse fuentes de contaminación cerca de la zona de muestreo, podemos observar que los vientos predominantes del norte y oeste que se dirigieron hacia el sur y sureste de la ZMM pudieron influir en los resultados anormales de Cd en la zona. Aunque en la zona C y E se encontraron altas concentraciones de Pb, no se detectó presencia de Cd (Fig.2), esto puede explicarse por la ausencia de fuentes industriales en la zona y la menor movilidad de Cd en el ambiente (Keshavarzi et al., 2015), donde los factores como la humedad y la actividad comercial de la zona de muestreo pueden afectar la prevalencia y detección de este metal. Se observa en contraparte que en la zona NE alcanza niveles altos a pesar de la dirección de los vientos predominantes pero que se encuentra cerca de una fuente de contaminación que es una empresa de pigmentos e industrias del giro metalmeccánico. Este mismo efecto fue observado por Acosta et al. (2015) donde aparentemente el Cd ve afectada su movilidad de manera importante cuando ocurren cambios de pH por lo que eventos atmosféricos como lluvias o sequías son un factor importante en la variabilidad de las concentraciones a lo largo de los monitoreos estacionales en la detección de este metal.

La zona S presentó una variabilidad de datos significativa que va desde  $0.09 \pm 0.001$  mg kg<sup>-1</sup> a  $1.44 \pm 0.32$  mg kg<sup>-1</sup> (Fig.2), esta zona se caracteriza por ser totalmente residencial con poco tráfico vehicular, por lo que la posible fuente de Cd presente en la muestra puede

deberse a la presencia de talleres mecánicos y una estación de servicio que se encontraban cerca del punto de muestreo.

Aunque las concentraciones de Cd encontradas en las zonas de muestreo no exceden el estándar mexicano de  $34 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 2007), el  $Er^i$  resultó dentro de los valores de riesgo moderados a considerables, ya que el cálculo de  $Er^i$  y los valores propuestos por Hakanson (1980) son más rigurosos ya que se enfocan en la toxicidad potencial para los seres vivos expuestos.

Por otro lado, las concentraciones de Zn en el polvo de la calle (Fig.2) permanecieron dentro del valor de  $Er^i$  de bajo riesgo en todas las zonas, con la zona O presentando una gran variación:  $115.87 \pm 13.04 \text{ mg kg}^{-1}$  a  $1501.73 \pm 293 \text{ mg kg}^{-1}$ , lo que podría ser causado por la presencia de vías férreas cerca del último punto de muestreo (tabla 1) Aunque no existen leyes regulatorias con respecto al Zn en suelos / polvo, se ha reportado que el Zn tiene poca movilidad cuando se une al polvo (Keshavarzi et al., 2015), además, el Zn no es tan dañino para los humanos en comparación con otros metales, sin embargo, dependiendo de la concentración, pueden ocurrir importantes efectos inmunológicos relacionados con el sistema respiratorio cuando hay exposición a largo plazo por inhalación o ingestión a altas concentraciones (Plum et al., 2010). En cualquier caso, todos los valores de  $Er^i$  para Zn dieron como resultado valores de bajo riesgo (Fig.2) Para las zonas C, E y S, las concentraciones de metales siguieron el orden  $Pb > Zn > Cd$ , mientras que para el resto de las zonas fue  $Zn > Pb > Cd$  (Tabla 1). En estudios previos realizados en la ZMM, Valdez Cerda et al. (2011) encontraron valores máximos de Pb ( $612 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Cd ( $13.1 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y Zn ( $1024 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en el polvo de la calle mientras que, en un estudio llevado a cabo en 2015, Orta-García et al. (2016) encontraron una concentración máxima de  $6,4 \text{ mg kg}^{-1}$  Cd y hasta  $1230 \text{ mg kg}^{-1}$  Pb en el suelo superficial dentro de la zona central de la ZMM cerca de un área industrial. Aunque las condiciones de precipitación no se especificaron en esos estudios, las diferencias en las concentraciones de Cd encontradas en nuestro estudio pueden deberse a fuertes lluvias que se presentaron antes del muestreo, lo que podría haber causado una mayor movilidad del Cd (Keshavarzi et al., 2015; Yu et al., 2014). Valores similares a los encontrados en el presente estudio sobre polvo de calle se encontraron en Villavicencio, Colombia, con valores promedio de

1289.4mg kg<sup>-1</sup> Pb, y 387.6mg kg<sup>-1</sup> Zn, en un área comercial importante (Trujillo-González et al., 2016) donde se demuestra la influencia de la dirección de los vientos así como la importancia de la movilidad y diferenciación de la misma dependiendo de las fuentes de contaminación y las características propias del contaminante ya que zonas residenciales y comerciales aparentemente lejanas de las fuentes de contaminación pueden verse afectadas de manera importante.

Otros valores máximos comparables para Pb encontrados en el presente estudio se encuentran en polvo de calle de las principales ciudades del Reino Unido: Durham (2119 mg/kg), Edimburgo (1237 mg kg<sup>-1</sup>), Liverpool (915 mg kg<sup>-1</sup>), New Castle (1636 mg kg<sup>-1</sup>) y Sunderland (2228 mg kg<sup>-1</sup>) (Elom et al., 2014) así como en ciudades importantes de China, donde el polvo de calle de Beijing mostró 2,03 mg kg<sup>-1</sup> Cd y Zn 532.58 mg kg<sup>-1</sup> (Okorie et al., 2012).

Se llevó a cabo un análisis de correlación dirigido a identificar las posibles fuentes de Pb, Zn y Cd utilizando tanto el conjunto completo de datos y las zonas de muestreo que mostraron las mayores concentraciones de metales, los cuales se presentan en la Tabla 3

**TABLA 3: COMPARACIÓN DE LAS CORRELACIONES DE PEARSON: CORRELACIÓN DE DATOS TOTALES Y ZONAS CON CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS**

	Correlación Total			Correlación Norte			Correlación Oeste		
	Pb	Cd	Zn	Pb	Cd	Zn	Pb	Cd	Zn
Pb	1.000	-0.260	-0.202	1.000	**0.996	-0.885	1.000	-0.731	*0.997
		0.100	0.206		0.004	0.115		0.269	0.023
Cd	-0.260	1.000	0.023	**0.996	1.000	-0.877	-0.731	1.000	-0.602
	0.100		0.885	0.004		0.123	0.269		0.398
Zn	-0.202	0.230	1.000	-0.885	-0.877	1.000	*0.977	-0.602	1.000
	0.206	0.885		0.115	0.123		0.023	0.398	
	N=41			N=4			N=4		

\*\* Correlación significativa P<0.01 (bilateral) \*Correlación significativa P<0.05 (Bilateral)

En el análisis completo del conjunto de datos, no se observaron correlaciones significativas entre metales, solo una ligera correlación entre Pb y Zn (0.885,  $P < 0.05$ ) que podría indicar que la principal fuente de contaminación del metal son las emisiones de los vehículos (De Miguel et al., 1997; Pant & Harrison, 2013), pero no se descarta que la presencia de Zn puede ser debido a otros factores como la corrosión o el desgaste de piezas de automóviles de vehículos de transporte urbano (Amato et al., 2011; De Miguel et al., 1997; Suryawanshi et al., 2016). Por el contrario, en la zona N, la correlación entre Pb-Cd fue significativa (0,996  $P < 0,01$ ), probablemente causada por la actividad industrial en la zona relacionada con el revestimiento de automóviles, pintura, manipulación de autopartes y producción de plástico. Finalmente, se encontró una fuerte correlación Pb-Zn (0.977  $P < 0.05$ ) en la zona de muestreo O, probablemente debida al intenso tráfico vehicular de esta área y la corrosión y desgaste de las partes metálicas (Li et al., 2013), lo que puede explicarse por la presencia cercana de ferrocarriles en tres de los puntos de muestreo, además de la actividad industrial metalmeccánica cercana (3 km). No se encontró una correlación significativa entre los metales analizados en el resto de las zonas de muestreo.

#### **Índice de riesgo ecológico (RI), I-Geo y contaminación.**

Para poder calcular los valores de fondo o base de la concentración de metales en el polvo de calle se obtuvieron muestras de un área con poco impacto de actividades urbanas en la zona suroeste de la ZMM (Fig. 1) El polvo de calle en esta área mostró concentraciones de 7.36 mg kg<sup>-1</sup> (Pb), 0.25 mg kg<sup>-1</sup> (Cd) y 70.5 mg kg<sup>-1</sup> (Zn), que son significativamente más bajos que los encontrados en muestras usadas como valor de fondo sobre estudios de RI e I-Geo en Brasil (Fadigas et al., 2006).

El índice I-Geo indicó que todas las zonas, pero en especial la zona suroeste estaba dentro del rango moderado a extremadamente contaminado (Tabla 4)

La obtención de esta clasificación se debió exclusivamente a las concentraciones de Pb que en todos los casos excedieron el valor de fondo, como el contaminante predominante. El valor más alto de I-Geo encontrado fue 6.4 en la zona central, superando el valor de 4.9 en Colombia (Trujillo-González et al., 2016), 2.32 en Shanghai (Zhang et al., 2013), 0.83 en Jordania (Al-Khashman, 2013) y 2.3 en Ghana (Atiemo et al., 2011), todos en áreas urbanas.

**TABLA 4: CONCENTRACIONES DE METALES EN EL POLVO DE LA CALLE POR ZONA DE MUESTREO, ÍNDICE DE GEO-ACUMULACIÓN (I-Geo) Y RIESGO ECOLÓGICO POTENCIAL (ERI).**

Zona		Pb			Cd			Zn		
		Conc. (mg kg <sup>-1</sup> )	I-Geo	Er <sup>i</sup>	Conc. (mg kg <sup>-1</sup> )	I-Geo	Er <sup>i</sup>	Conc. (mg kg <sup>-1</sup> )	I-Geo	Er <sup>i</sup>
<b>Centro (C)</b>	Media	1053.70	6.4	715.8	ND	0.0	0.0	55.30	-	0.8
									0.93	
									5	
	Min	604.80	5.8	410.8	ND	0.0	0.0	31.20	-	0.4
									2.34	
								6		
	Max	1590.00	7.2	1080.0	ND	0.0	0.0	94.40	-	1.3
									0.74	
									8	
	SD	468.60			NA			22.00		
<b>Norte (N)</b>	Media	86.65	3.0	58.9	0.09	-2.1	10.8	186.81	0.8	2.6
	Min	44.21	1.4	30.0	0.00	0.0	0	61.46	-0.8	0.9
	Max	198.78	4.2	135.0	0.35	-0.1	41.8	292.06	1.5	4.1
	SD	75.06			NA			95.32		
<b>Noreste (NE)</b>	Media	52.66	2.3	35.8	0.66	0.8	79.3	278.16	1.4	3.9
	Min	43.80	2.0	29.8	0.54	0.5	65.0	216.13	1.0	3.1
	Max	65.25	2.6	44.3	0.80	1.1	96.0	342.67	1.7	4.9
	SD	9.02			0.11			54.49		
<b>Noroeste (NO)</b>	Media	96.82	3.1	65.8	0.10	0.8	12.0	190.50	0.8	2.7
	Min	51.03	2.2	34.7	0	0.5	0.0	154.87	0.6	2.2

	Max	151.41	3.8	102.9	0.19	1.1	0.8	229.10	1.1	3.2
	SD	52.56			0.06			30.61		
<b>Este (E)</b>	Media	55.73	2.3	37.9	ND	0	0	47.44	-1.2	0.7
	Min	45.92	2.1	31.2	ND	0	0	39.66	-1.4	0.6
	Max	63.36	2.5	43.0	ND	0	0	57.67	-0.9	0.8
	SD	7.25			NA			8.79		
<b>Oeste (O)</b>	Media	87.79	3.0	59.6	0.10	-1.9	12.	480.74	2.2	6.8
	Min	61.26	2.5	41.6	0.00	0.0	0.0	115.87	0.1	1.6
	Max	137.90	3.6	93.7	0.21	-0.9	24.	1501.73	3.8	21.
	SD	34.36			0.01			681.05		3
<b>Sur (S)</b>	Media	136.19	3.6	92.5	0.45	0.3	54.	100.40	-0.1	1.4
	Min	87.68	3.0	59.6	0.09	-2.1	10.	48.72	-1.1	0.7
	Max	249.78	4.5	169.7	1.44	1.9	17	160.78	0.6	2.3
	SD	76.17			0.73		3.1	48.99		
<b>Sureste (SE)</b>	Media	253.48	4.5	172.2	0.38	0.0	45.	50.21	-1.1	0.7
	Min	222.80	4.3	151.4	0.24	-0.6	29.	39.04	-1.4	0.6
	Max	301.97	4.8	205.1	0.52	0.5	62.	63.40	-0.7	0.9
	SD	34.58			0.11		7	11.36		
<b>Suroeste (SO)</b>	Media	30.92	1.5	21.0	0.17	-1.2	20.	87.45	-0.3	1.2
	Min	6.98	-0.7	4.7	0.11	-1.8	13.	54.98	-0.9	0.8
	Max	85.40	3.0	58.0	0.25	-0.6	30.	115.96	0.1	1.6
	SD	37.17			0.07		0	29.39		

La figura 3 muestra las concentraciones de Pb, Cd y Zn por zona y su RI. La zona C superó los límites superiores de RI: 716.6 en promedio, que corresponden a una clasificación de "Muy Alto Riesgo", superior a los valores reportados por Trujillo-González et al., (2016) de RI 470 en Colombia.

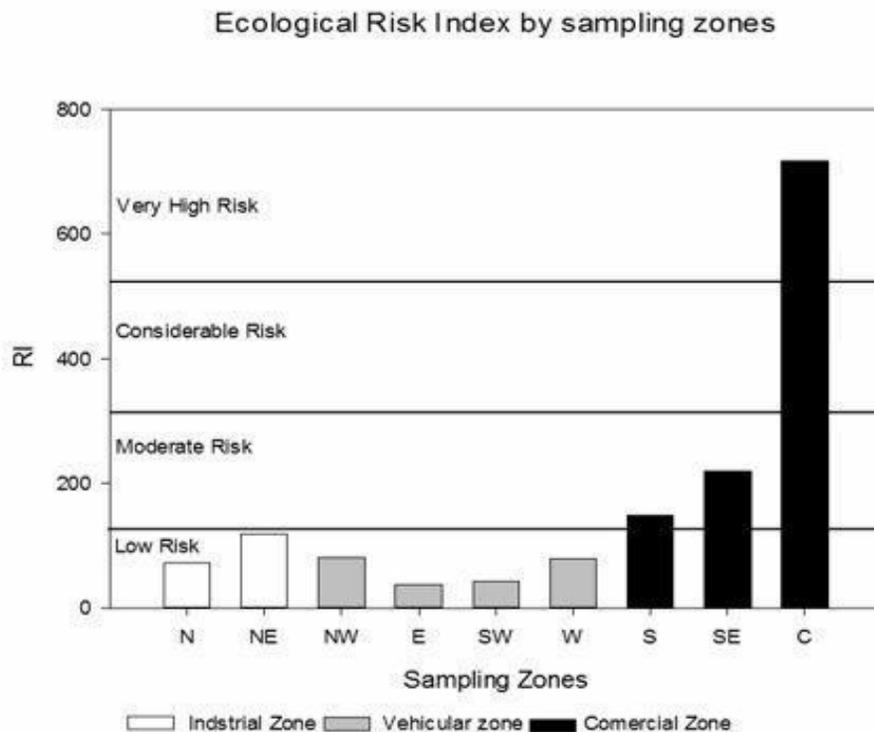


FIG. 3: ÍNDICE DE RIESGO ECOLÓGICO POR ZONAS DE MUESTREO: ZONA INDUSTRIAL (INDUSTRIAL ZONE), ZONA VEHICULAR (VEHICULAR ZONE) Y ZONA COMERCIAL (COMERCIAL ZONE). LOS NIVELES DE RI ESTÁN INDICADOS PARA LOS NÚMEROS I: BAJO RIESGO (LOW RISK), II: RIESGO MODERADO (MODERATE RISK) III: RIESGO CONSIDERABLE (CONSIDERABLE RISK), IV: RIESGO MUY ALTO (VERY HIGH RISK).

El cadmio encontrado en todas las áreas no excedió el límite máximo permitido por la autoridad mexicana de 34 mg kg<sup>-1</sup> (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 2007), pero dado que el análisis IR desarrollado por Hakanson (1980) nos permite medir el riesgo real de cada contaminante, áreas que aparentemente tienen una baja concentración de cadmio como S y SE, contribuyen a aumentar el IR total del área analizada. En estudios similares en otras partes del mundo como Teherán e Irán, la alta concentración de Cd en el polvo

callejero dio como resultado que toda el área se considerara de muy alto riesgo, aunque la concentración de Pb y Zn era baja (Saeedi et al., 2012). Se puede observar que las áreas de muestreo con actividades comerciales (figura 3) son aquellas con mayor IR coincidiendo con lo reportado por varios autores en polvo de calle (Martínez & Poletto, 2014; Trujillo-González et al., 2016). Dicho comportamiento no obedece enteramente a la actividad de la zona sino como se ha mencionado anteriormente es una mezcla de factores climáticos, orográficos y de diseño urbano los que influyen en el resultado final de la evaluación de las zonas en su contenido de metales pesados, sin embargo sigue siendo muy importante mantener ubicadas las zonas de riesgo para alertar a la población y buscar estrategias que permitan solucionar los problemas del sitio, justo como ha sido enfocado en los diversos trabajos de los autores presentados.

Finalmente, y coincidiendo con los objetivos de este trabajo, los metales pesados en el polvo de la calle son transferidos por la escorrentía de aguas pluviales y entregados a los cuerpos de agua locales (Davis & Birch, 2010; Hwang et al., 2016), por lo que con los resultados obtenidos se procedió a buscar efluentes contaminados en las zonas de escorrentía de la ZMM donde se detectó mayor índice de contaminación para buscar su remediación a través de especies macrófitas como se describe en el siguiente capítulo.

## CAPITULO 2:

### **Evaluación del efecto fisiológico, histológico, factor de traslocación y bioconcentración de metales pesados en *P. Stratiotes* y *Salvinia auriculata*.**

#### **Resumen**

*P. stratiotes* y *S. auriculata* fueron sometidas a concentraciones subletales de los metales Cd, Pb y Sb donde se buscó la supervivencia de la planta y a la vez una respuesta clara a la presencia de los contaminantes mediante 3 grupos de ensayo (n=3) con concentraciones de Pb 300 mg/L, Cd 3 mg/L y Sb 10 mg/L en contenedores plásticos de 30 litros con medio Hoagland al 10% y manteniendo condiciones controladas en una cámara de crecimiento: fotoperíodo de 12h (día/noche), temperatura 28°C ±1°C, humedad relativa 75% y 200µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> de radiación fotosintéticamente activa. El experimento tuvo una duración de 16 días

La acumulación de cada uno de los metales en *S. auriculata* fue significativamente mayor en raíces que en hojas en todos los casos analizados, llegando a concentraciones de hasta 250367 mg/kg en el caso de Pb, seguido de Cd con 7837 mg/kg y finalmente 6573 mg/kg para Sb. Las altas concentraciones de estos metales en la raíz de diferentes especies del género *Salvinia* han sido reportadas por numerosos autores, presentando resultados similares de FBC en los 3 metales analizados corroborando la clasificando de esta especie como hiperacumuladora y aportando datos de acumulación para esta especie los cuales bajo las condiciones del experimento no han sido reportados anteriormente hasta el alcance de esta investigación.

*P. stratiotes* ha sido ampliamente estudiada bajo diferentes condiciones de crecimiento y nutrición, pero existen pocos estudios relacionados con la remoción o bioacumulación de Sb en esta especie. Ante una concentración considerada como moderada a alta (10mg/l) se obtuvieron concentraciones de 6860mg/kg y 558mg/kg en raíz y hojas respectivamente.

. Los resultados obtenidos para *P. stratiotes* en este estudio son similares en condiciones de mantenimiento y concentración a los reportados por diversos autores, obteniéndose valores para Cd (1315 mg/kg), Pb (42862 mg/Kg) y Sb (6860mg/kg), aportando

información en especial para antimonio donde la especie ha sido poco estudiada en las condiciones de este estudio.

Los resultados histológicos llevados a cabo en las raíces de *P. stratiotes* muestran los mecanismos de defensa ante los contaminantes activando el alcance de la suberina lamelar y observándose bandas de caspary a mayor distancia de la base de la raíz, además mostrando producción de derivados lignocelulósicos los cuales varían dependiendo del metal estudiado.

## Introducción

Dentro de las muchas especies vegetales estudiadas para evaluar su potencial de fitorremediación, dos de las especies que siguen proporcionando información relevante respecto a los mecanismos de acumulación y supervivencia frente a los daños provocados por los contaminantes en su hábitat son las macrófitas flotantes *Pistia stratiotes* y *Salvinia auriculata* siendo dos de las plantas más empleadas en fitorremediación, por su alto potencial de remoción de contaminantes que pueden abarcar desde toxinas, colorantes, compuestos químicos orgánicos, producto de la degradación de pesticidas como la clomazona (Ribeiro et al., 2020), compuestos de hidrocarburos y por supuesto metales pesados (Hasaballah et al., 2023).

La rizofiltración es uno de los principales mecanismos por los cuales las especies de macrófitas flotantes remueven del medio aquellas sustancias que se encuentran en su proximidad y que potencialmente le amenazan por su concentración o naturaleza, en algunos casos acumulándolos dentro de sus estructuras generando una cascada bioquímica y cambios morfológicos que le permiten hacer frente a la toxicidad y a la concentración de los contaminantes a los que están expuestos mientras continúan en desarrollo, sin embargo estos mecanismos aún no están completamente elucidados y comprenderlos es una herramienta clave para optimizar los procesos de detoxificación de efluentes contaminados como los humedales artificiales.

En específico para los contaminantes inorgánicos, *P. stratiotes* y *S. auriculata* son clasificadas como hiperacumuladoras para una variedad amplia de metales pesados, principalmente Pb, Cd, Zn, Ni, Co (Ansari et al., 2020), sin embargo, como cualquier especie que se enfrenta a la presencia de contaminantes en su medio, alcanzan un punto límite en el que su metabolismo ya no es capaz de acumular más y en los que empieza a darse la degradación, daño e incluso liberación nuevamente al medio de los contaminantes previamente acumulados por lo que entender los mecanismos por los cuales estas especies logran estas capacidades de hiperacumulación son importantes para favorecer y beneficiar las condiciones y los procesos metabólicos que les permitan tener un mucho mejor potencial de biorremediación.

## Material y métodos

### Cultivo y mantenimiento de *P. stratiotes* y *S. auriculata*

Esta parte de la investigación se llevó a cabo en la Universidad Comenius en Bratislava Eslovaquia entre los meses de julio y octubre 2017, obteniéndose los ejemplares de un vivero especializado cercano a la ciudad, (Hornbach, Galvani 9, 821 04 Bratislava – Ružinov, Eslovaquia).

Los ejemplares fueron desempacados y debidamente lavados y separados para evaluar el estado de cada espécimen. Sólo las plantas con menor daño y longitud de raíz adecuada fueron utilizadas para propagación.

Se colocaron dos contenedores de plástico de 50 litros con 30 litros de solución Hoagland al 10%, la cual se preparó a partir de soluciones stock de los siguientes nutrientes: Nitrato de potasio (1.0M), nitrato de calcio (1.0M), fosfato ácido de amonio (1.0M), cloruro de potasio (25mM), ácido bórico (12.5mM), Sulfato de manganeso (1.0 mM), sulfato de zinc (1.0mM), sulfato de cobre (0.25mM) y ácido molíbdico (0.25mM) y gluconato de Fe (54.0 mM), ajustando el pH a 6.5 con HCL 1.0M de acuerdo a las recomendaciones de Hoagland D. (1950), hasta alcanzar la concentración y volumen requerido para los contenedores.

Se colocaron plantas de ambas especies de diferentes tamaños y peso en los contenedores cubriendo un 30% de capacidad de estos, reponiendo el volumen perdido por evaporación diariamente y dando aspersión a las hojas una vez al día para mantener la humedad adecuada para estas especies. La solución nutritiva fue reemplazada cada semana durante 3 semanas, a la intemperie con ciclos de 8:16 h de luz/obscuridad y a una temperatura ambiente de 33°C ±3°C, eliminando la materia orgánica acumulada y especímenes que no soportaron el acondicionamiento hasta que se logró un volumen de plantas bien desarrolladas (en promedio 50g de peso), para el caso de *P. stratiotes* se buscó obtener ejemplares con un peso fresco de 50g ± 5 g y longitud de raíz mayor a 45cm, mientras que para *S. auriculata* se buscó obtener hijuelos y plantas nuevas mediante la medición del peso fresco, colocándose 150g de peso fresco y obteniéndose al final de las 3 semanas de acondicionamiento 350g de peso fresco, con ejemplares de similar tamaño y condición.

Para llevar a cabo la experimentación, se eligieron los ejemplares nuevos de similar tamaño, peso y longitud radicular, sin signos de enfermedad o deterioro. (fig. 4)



FIG. 4: A) MANTENIMIENTO Y PROPAGACIÓN DE *P. STRATIOTES* Y *S. AURICULATA* EN CONTENEDORES AL AIRE LIBRE CON MEDIO HOAGLAND AL 10%, B) Y C) COSECHA DE *S. AURICULATA* Y *P. STRATIOTES* RESPECTIVAMENTE.

### **Evaluación del efecto fisiológico e histológico de Pb, Cd y Sb en *P. stratiotes* y *S. auriculata*.**

Se formaron grupos de experimentación para evaluar el efecto y capacidad de bioconcentración de cada uno de los metales en *P. stratiotes* y *S. auriculata* bajo condiciones controladas en una cámara de crecimiento: fotoperíodo de 12h (día/noche), temperatura  $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , humedad relativa 75% y  $200\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  de radiación fotosintéticamente activa. El experimento tuvo una duración de 16 días con los siguientes tratamientos:

1. Control *Pistia* (CP): Grupo control de *P. stratiotes* (n=4) en medio Hoagland al 10% sin ningún metal.
2. Pb *Pistia* (PbP): Grupo de *P. stratiotes* (n=4) en solución Hoagland al 10% con 300mg/l de Pb.
3. Cd *Pistia* (CdP): Grupo de *P. stratiotes* (n=4) en solución Hoagland al 10% con 3mg/l de Cd.
4. Sb *Pistia* (SbP) Grupo de *P. stratiotes* (n=4) en solución Hoagland al 10% con 10mg/l de Sb.
5. Control *Salvinia* (CS): Grupo control de *S. auriculata* ( $10 \pm 0.5\text{g}$  peso fresco) en medio Hoagland al 10% sin ningún metal.

6. Pb *Salvinia* (PbS): Grupo de *S. auriculata* (10 ±0.5g peso fresco) en medio Hoagland al 10% con 300mg/l de Pb.
7. Cd *Salvinia* (CdS): Grupo de *S. auriculata* (10 ±0.5g peso fresco) en medio Hoagland al 10% con 3mg/l de Cd.
8. Sb *Salvinia* (SbS): Grupo de *S. auriculata* (10 ±0.5g peso fresco) en medio Hoagland al 10% con 10mg/l de Sb.

El pH fue ajustado dependiendo de la naturaleza del metal a evaluar, así, los grupos control y el grupo con Sb fueron ajustados a pH 6.5, mientras que los grupos con Pb y Cd fueron ajustados a pH 5.0 con HCL. Durante el experimento no se volvió a ajustar el pH. El volumen perdido de solución se repuso con agua destilada cada tercer día (Fig. 5)



**FIG. 5: GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN CON Pb (300MG/L), Cd (3MG/L) Y Sb (10MG/L), A LA IZQUIERDA GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN CON *P. STRATIOTES*, A LA DERECHA GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN CON *S. AURICULATA*.**

Los grupos de experimentación se formaron en botes plásticos (PET de alta densidad) previamente lavados con solución diluida de HNO<sub>3</sub> y posteriormente enjuagados minuciosamente con agua destilada. Cada bote contuvo 5L de solución de Hoagland con o sin metal según se requiriera a partir de soluciones stock preparados de sus sales metálicas: para los grupos de plomo Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, para los grupos de cadmio CdCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O y para los grupos con antimonio se utilizó C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>KO<sub>7</sub>Sb·O,5H<sub>2</sub>O, todos reactivos grado analítico.

Al finalizar el experimento, todos los botes con los grupos de experimentación se llevaron al cuarto oscuro durante 2 horas y media para posteriormente tomar las muestras

requeridas para la evaluación de los parámetros fisiológicos y de estrés, sólo las muestras de fotosíntesis se dejaron en obscuridad hasta finalizar todas las mediciones.

**Determinación del factor de bioconcentración y translocación de Pb, Cd y Sb en *P. stratiotes* y *S. auriculata***

Los ejemplares de cada grupo experimental fueron lavados con agua destilada cuidadosamente con el fin de no sobreestimar la concentración de metal absorbida dentro de los tejidos por la medición errónea de metal adsorbido en la superficie. Los análisis de absorción atómica se llevaron a cabo en el laboratorio de química analítica del departamento de geo materiales, Facultad de Biología en la Universidad Comenius de Bratislava, donde se determinó la concentración de cada uno de los metales en raíz y hojas (n=4). Se determinó el factor de bioconcentración (FBC) y el factor de translocación (FT) mediante las siguientes ecuaciones (V. Kumar et al., 2018).

$$\text{FBC} = \frac{\text{Concentración promedio del metal en el tejido vegetal}}{\text{Concentración promedio del metal en el efluente}}$$

$$\text{FT} = \left[ \frac{\text{Concentración del metal en partes aéreas}}{\text{Concentración del metal en raíces}} \right] * 100$$

**TABLA 5: CLASIFICACIÓN DEL FACTOR DE TRANSLOCACIÓN (FT) Y FACTOR DE BIOACUMULACIÓN (FBC) (DOWDY & MCKONE 1997)**

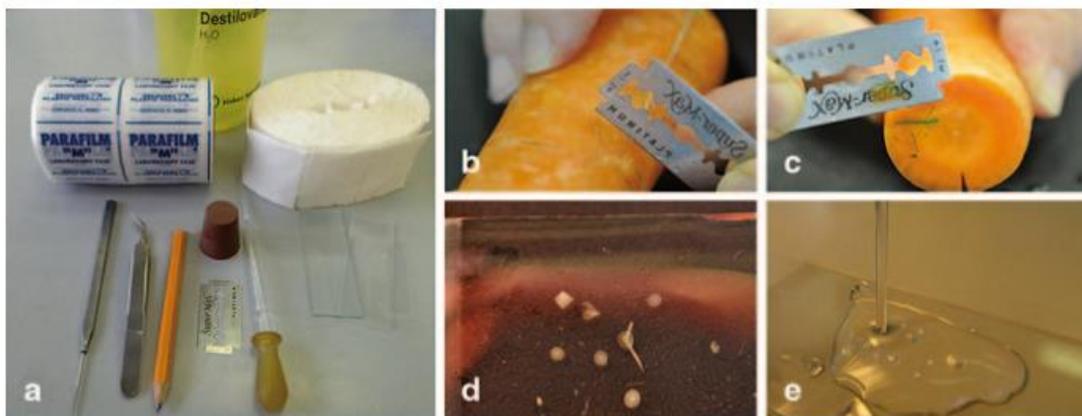
FBC	Interpretación
≤1	No hiperacumuladora/No Fitorremediadora
>1	Hiperacumuladora/Fitorremediadora
FT	<b>Interpretación</b>
<1	Baja movilidad
≥ 1	Alta movilidad

**Análisis anatómicos e histoquímicos de tejidos radiculares**

Para investigar el comportamiento histoquímico y los cambios anatómicos ante la presencia de los metales estudiados se llevaron a cabo varias técnicas con diferentes colorantes, las cuales se describen en las secciones siguientes. Todos los cortes transversales de raíces y hojas fueron observados usando un Axioscopio 2 plus (Zeiss, Jena, Germany) equipado con lámpara UV (FY088 Zeiss set 25), las fotografías fueron

tomadas con una cámara digital Olympus DP-72. Se utilizó el software de análisis de imagen Lucia G 4.80 (LIM, República Checa).

Para la obtención de los cortes transversales de las raíces se utilizó una zanahoria previamente refrigerada como soporte para hacer los cortes de la raíz de manera efectiva. El material para analizar debe haber sido fijado previamente con metanol, por lo que al obtener los cortes es necesario dar un enjuague con ayuda de una pipeta para retirar el remanente de este y no interfiera con los colorantes a utilizar. Se utilizaron espaciadores entre el cubreobjetos y la muestra para el lavado e intercambio de reactivos y colorantes para evitar al máximo el daño mecánico de las muestras (fig.6). (Lux et al. 2015)



**FIG. 6: A. MATERIAL REQUERIDO PARA LA PREPARACIÓN DE LA MUESTRA, CORTE Y ACLARADO. B EL USO DE LA ZANAHORIA COMO SOPORTE DE LA PREPARACIÓN DE LAS SECCIONES MANUALES DE LAS RAÍCES. C USO DE SOPORTE DE ZANAHORIA PARA REALIZAR CORTES DE HOJAS. D) CORTES TRANSVERSALES HECHOS MANUALMENTE TRANSFERIDOS A PORTA OBJETOS E) LAVADO DE LA SOLUCIÓN ACLARADORA (METANOL) IMAGEN OBTENIDA DE LUX ET. AL (2015).**

### **Aclaramiento y tinción de muestras radiculares**

Para visualizar la suberina lamelar se utilizó la tinción con Fluorol Yellow 088 [0.01% (p/v) (SigmaAldrich); FY088], se disolvió el colorante en ácido láctico al 80%, y las raíces fueron subsecuentemente aclaradas y teñidas en un solo paso de acuerdo con (Lux et al., 2015). Todas las raíces teñidas fueron lavadas con agua destilada y se montó con una solución de  $\text{FeCl}_3$  al 0.1% en glicerol al 50%, dejando las muestras 1 hora en obscuridad previo al lavado del colorante completamente.

Para la visualización de ligninas se utilizó la tinción con Fluoroglucinol (2% en HCl 25%) dejando inmersas las muestras durante 2 min a temperatura ambiente (Lux et al. 2015).

### **Análisis anatómico de muestras radiculares y foliares**

Secciones anatómicas de las plantas expuestas y control, fueron colectadas y fijadas en una solución de Formalina, ácido acético y alcohol etílico al 50%, deshidratadas en alcohol al 70% y embebidas en parafina. Se obtuvieron secciones transversas y longitudinales con un micrótopo manual Tesla BS 490 obteniendo secciones de aproximadamente 2 $\mu$ m se tiñeron con azul de toluidina al 0.5% y Fucsina básica al 0.1% (Lux et al. 2015).

### **Determinación de clorofila y carotenoides**

Se pesó aproximadamente 50mg de peso fresco del material vegetal expuesto y no expuesto y se sumergió cada pieza durante 5 seg. en nitrógeno líquido, para ser macerada posteriormente con acetona al 80%. La suspensión se centrifugó por 5 min a 5000g. La concentración de clorofila, a, b y los carotenoides se midió en el sobrenadante en un espectrofotómetro Jenway 6400, Londres, UK, con una absorción máxima de 664, 646 y 470nm para clorofila a, b y carotenoides respectivamente. La concentración de clorofilas y carotenoides fue calculada de acuerdo con Lichtenthaler & Buschmann, (2001)

### **Resultados y Discusión**

Determinación del factor de bioconcentración y translocación de Pb, Cd y Sb en *P. stratiotes* y *S. auriculata*

La fitoacumulación de Pb, Cd y Sb, FBC y FT en cada una de las plantas fue determinada mediante absorción atómica midiendo la concentración en mg/Kg en raíces y hojas por separado. Las concentraciones de metales elegidas fueron determinadas por revisión de literatura donde se buscaba una dosis subletal que permitiera a las plantas sobrevivir y tener una respuesta clara en los ensayos histológicos que permitiera visualizar los diferentes mecanismos de defensa de cada una de ellas.

**TABLA 6: CONCENTRACIONES DE Pb, Cd Y Sb ENCONTRADAS EN HOJAS Y RAÍCES DE *S. auriculata*, CON SU RESPECTIVO ERROR ESTÁNDAR (N=3), CÁLCULO DE FACTOR DE BIOCONCENTRACIÓN (FCB) Y FACTOR DE TRANSLOCACIÓN (FT).**

<i>Salvinia auriculata</i>								
	Control sin metal		Sb 10mg/L		Cd 3mg/L		Pb 300mg/L	
Sitio	Hoja	Raíz	Hoja	Raíz	Hoja	Raíz	Hoja	Raíz
Conc. mg/Kg	ND	ND	2187 ±627	6573 ±152 1	2400 ±359	7837 ±202	139433± 6037	250367 ±14689
FBC	NA	NA	218.67	657.3 3	800.0 0	2612. 22	464.78	834.56
FT	NA	NA	0.33		0.31		0.56	

La acumulación de cada uno de los metales en *S. auriculata* fue significativamente mayor en raíces que en hojas en todos los casos analizados, llegando a concentraciones de hasta 250367 mg/kg en el caso de Pb seguido de Cd con 7837 mg/kg y finalmente 6573 mg/kg para Sb (Tabla 6) Las altas concentraciones de estos metales en la raíz de diferentes especies del género *Salvinia* han sido reportadas por numerosos autores (Kumari et al., 2016; Olguín et al., 2002, 2005) presentando resultados similares de FBC en los 3 metales analizados clasificando de nuevo a esta especie como hiperacumuladora. Una aportación de este trabajo es que no se tiene reportado el FBC, FT ni fitoacumulación de *S. auriculata* para Sb, aunque existen datos para otras especies de helechos como *Pteris cretica*, *Microlepia hancei*, *Cyrtomium fortunei* y *Cyclosorus dentatus* con acumulaciones de 358 mg/kg, 224 mg/kg, 124 mg/kg y 123 mg/kg de Sb respectivamente (Wei et al., 2008), considerándose a *S. auriculata* para este estudio bajo las condiciones descritas como hiperacumuladora para Sb con un bajo índice de translocación (<1) (Tabla 5) (Dowdy & McKone, 1997). Durante el tiempo de experimentación (16 días) no se observaron efectos de clorosis o cambios estructurales importantes en las raíces que indicaran atrofia visible, sin embargo si se observó una menor cantidad de replicación de individuos comparados con el control, esto puede deberse al efecto directo del Sb en la generación de ROS, y a una posible resistencia de *S. auriculata* mediante mediadores como el malondialdehído, compuesto que se ha observado se presenta en este tipo de especies para responder a estrés provocado por contaminantes como Sb, Cd y Pb entre otros (Wei et al., 2008), lo que le permite evitar mediante mecanismos aún no claros el

acumular este metal de manera significativa en sus tejidos, comparado con los otros dos metales estudiados.

En el caso de Cd la acumulación fue mayor que para Sb (Tabla 6) pero el efecto de clorosis y daño en hojas y raíces pudo ser observado desde el día 5 del experimento manifestando un franco marchitamiento y donde el crecimiento de nuevos individuos y generación de nuevas hojas y raíces se vio inhibido tal como lo detallan otros autores sobre esta y otras especies del género en presencia de Cd y al mismo tiempo reportada como una especie eficiente en la remoción y concentración en sus raíces de este metal, siendo dependiente de la concentración del tóxico en el medio (Kumari et al., 2016; Olgún et al., 2002; Phetsombat et al., 2006; Rodrigues et al., 2016; Rolli & Al, 2017). Los datos obtenidos de acumulación en hojas y raíces para Cd sugieren una adecuada tolerancia a este metal que le permite retenerlo dentro de sus compartimentos internos, transportando el metal desde las raíces a las hojas mediante procesos biológicos como el transporte a través del plasmalema celular (Kumari et al., 2016), obteniéndose similares resultados de FCB, FT y concentración en hojas y raíces (Tabla 6) con los publicados recientemente por varios autores en condiciones controladas de luz y temperatura (Kumari et al., 2016; Olgún et al., 2002, 2005; Rodrigues et al., 2016).

En el experimento llevado a cabo con Pb sin embargo, se observaron variaciones importantes con lo reportado en bibliografía por varios autores, quienes reportan hasta una concentración máxima en raíces de 17000mg/Kg a 29,000mg/Kg (Kumari et al., 2016) y FBC promedio de 2500 (Olgún et al., 2005), se observa una mucho mayor concentración de Pb y un menor FBC que lo reportado en bibliografía, esto puede deberse por una parte a los mecanismos envueltos en la absorción/adsorción de Pb en esta especie, donde esencialmente entran en juego factores mecánicos y químicos relacionados con su amplia área superficial (264m<sup>2</sup>/g peso seco para *S. mínima*) y la presencia de ligandos carboxilados (0.95mmol H<sup>+</sup>/g biomasa para *S. mínima*) que permiten la adsorción rápida del plomo (Olgún et al., 2005), lo que podría estar sobreestimando la cantidad absorbida y que se encuentra realmente dentro de los compartimentos celulares, ya que se empleó solo agua destilada para el lavado de hojas y raíces previo a su secado y análisis, sin usar algún elemento quelante como EDTA que permitiera asegurar la separación del material

adsorbido en superficie. Por otra parte, el bajo FBC comparado con el reportado puede deberse a que las plantas sometidas a esta concentración mostraron un deterioro rápido desde el 3er día de tratamiento por lo que el mecanismo biológico de la planta se vio muy afectado.

**TABLA 7: CONCENTRACIONES DE Pb, Cd Y Sb ENCONTRADAS EN HOJAS Y RAÍCES DE P. STRATIOTES, CON SU RESPECTIVO ERROR ESTÁNDAR (N=3), CÁLCULO DE FACTOR DE BIOCONCENTRACIÓN (FBC) Y FACTOR DE TRANSLOCACIÓN (FT).**

<i>Pistia stratiotes</i>								
	Control sin metal		Sb 10mg/L		Cd 3mg/L		Pb 300mg/L	
Sitio	Hoja	Raíz	Hoja	Raíz	Hoja	Raíz	Hoja	Raíz
Conc. (mg/Kg)	ND	ND	558±141	6860±430	979±35	3273±75	93700±6465	199200±10458
FBC	NA	NA	55.80	686.00	326.44	1091.11	312.33	664.00
FT	NA	NA	0.08		0.30		0.47	

*P. stratiotes* ha sido ampliamente estudiada bajo diferentes condiciones de crecimiento y nutrición, sin embargo existen poco estudios relacionados con la remoción o bioacumulación de Sb en esta especie, donde los estudios llevados a cabo evalúan concentraciones traza de este elemento generalmente contenidos en efluentes industriales o mineros (V. Kumar et al., 2018; Ugya et al., 2015; Wickramasinghe & Jayawardana, 2018), sin embargo los mecanismos por los cuales el Sb puede ingresar a esta especie han sido poco estudiados. Ante una concentración considerada como moderada a alta (10mg/l) se obtuvieron concentraciones de 6860mg/kg y 558mg/kg en raíz y hojas respectivamente (tabla 7) Concentraciones importantes de Sb se han encontrado en plantas cercanas a efluentes mineros donde las concentraciones en hojas se reportan hasta 550mg/Kg (Levresse et al., 2012), e incluso en plantas medicinales como *Fragari vesca* con concentraciones en raíces de 704mg/kg (Vaculík et al., 2013), resultado muy similar al encontrado en este estudio para la concentración en hojas, no así para las raíces que presenta una concentración promedio de 6860mg/kg (tabla 7), lo cual puede ser debido a varios factores, entre ellos el uso de tartrato de antimonio cuyo estado a pH 6.5 el cual se mantuvo en este experimento permite que esté presente la forma reducida de antimonio como Sb (III), considerada la forma más tóxica de este elemento pero a la vez la forma más biodisponible y estable en solución, lo que puede favorecer en este caso su absorción a través de raíz por *P. stratiotes* (Vaculík et al., 2015; Wei et al., 2008). Es de notar que

el factor de translocación es el más bajo de los 3 metales analizados en este estudio, similares resultados se encontraron en estudios en arroz, donde ambas especies de Sb (III) y (V) estuvieron presentes, pero solo la Sb III pudo ser absorbida, sin embargo ninguna de las dos especies fue efectivamente translocada ( $FT < 1$ ), sugiriendo un mecanismo similar al presentado por Sun et al. (2014), donde la pared celular juega un importante rol al impedir el paso de las especies de Sb a las partes aéreas de la planta.

Por último, los efectos y la fitoacumulación de Pb y Cd en *P. stratiotes* ha sido mucho más estudiada y actualmente se puede inferir sobre los diversos mecanismos involucrados en su resistencia y acumulación. Los resultados obtenidos en este estudio son similares en condiciones de mantenimiento y concentración de Cd y Pb a los reportados por Veselý et al. (2011), Donde se encuentran valores de 1315 mg/kg de Cd y 42862 mg/l de Pb en raíces de *P. stratiotes*, por otro lado se observa una mayor concentración de estos metales en nuestro experimento, a los reportados por este autor, probablemente por el uso de EDTA diluido en los lavados finales de las plantas previo a su análisis de absorción atómica, lo que puede estar sobreestimando la concentración de los mismos en nuestro experimento por mecanismos de adsorción en las estructuras físicas y químicas expuestas en el exterior de la raíz y los fondos de las hojas, observándose también un FBC menor que lo reportado por diversos autores para el caso de Pb (Ugya et al., 2015; Veselý et al., 2011; Wang et al., 2018), esto puede ser debido a que *P. stratiotes* fue fuertemente dañada desde el segundo día de tratamiento por las altas concentraciones de Pb por lo que el mecanismo de la planta para absorber este metal pudo verse seriamente dañado impidiendo que siguiera bioacumulando.

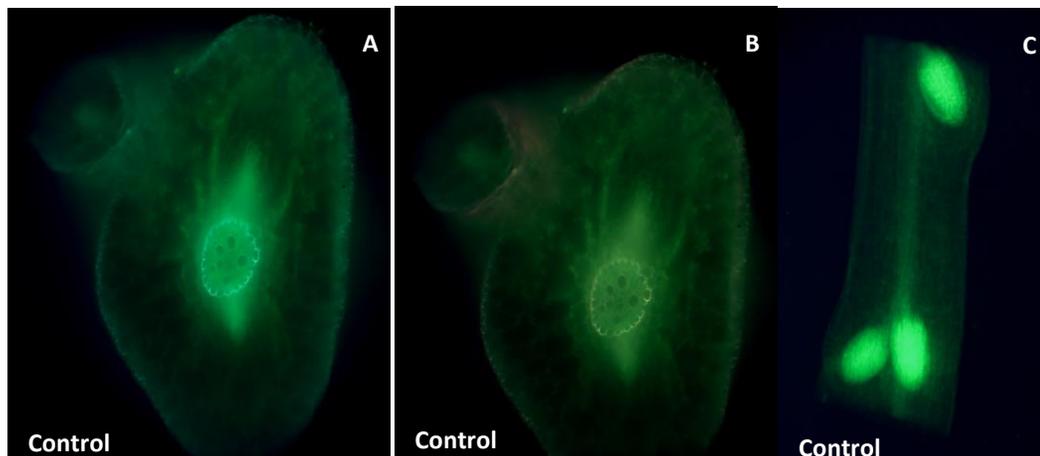
### **Análisis anatómicos e histoquímicos de tejidos radiculares**

Los análisis de las raíces de *P. stratiotes* fueron llevados a cabo a nivel histológico para observar el comportamiento de las bandas de casper y el aumento de la suberina lamelar a lo largo de la misma como un indicador de la respuesta ante los contaminantes en la planta. El experimento no pudo ser conducido en *Salvinia auriculata* ya que el material radicular por su tamaño no fue manejable para las diferentes técnicas histológicas.

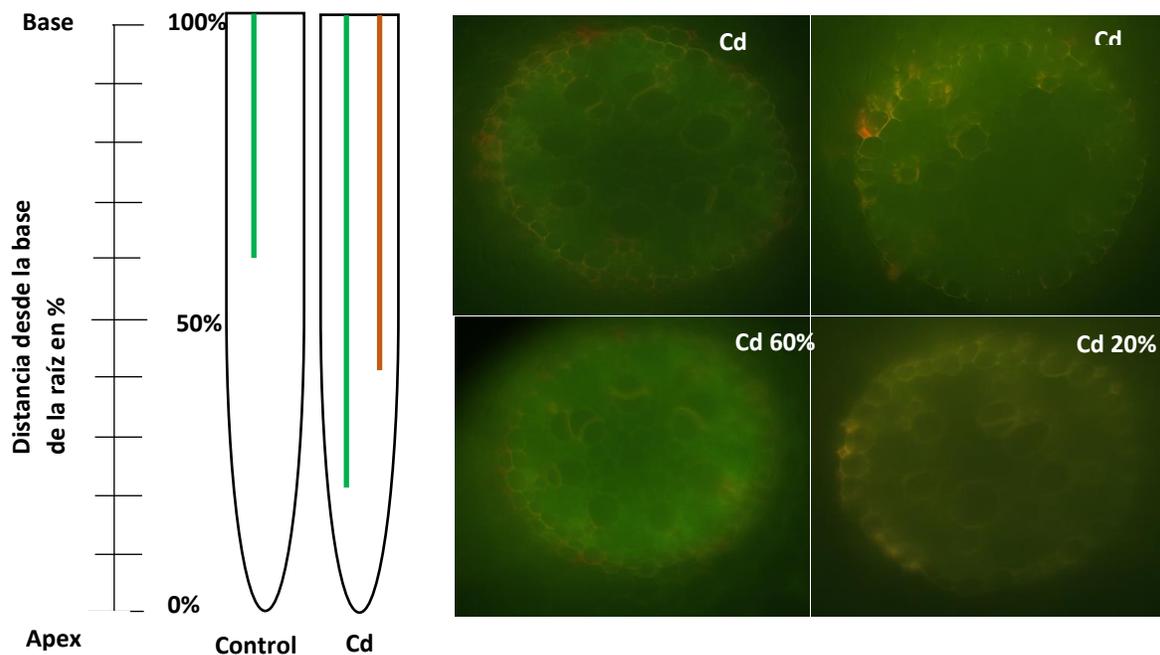
En este estudio se compararon los niveles de agregados de suberina a lo largo de la epidermis de la raíz midiendo la presencia y ausencia de esta a lo largo de la base de la

raíz (100%) hasta la punta de la misma (0%) donde los cortes permitieron detectar el nivel de reacción y recubrimiento de la epidermis como mecanismo de defensa ante la presencia de los diferentes metales, además de la detección de otros compuestos.

En los controles (Fig. 7) el nivel detectado del recubrimiento desde el ápex de la raíz a la punta de la misma fue al 40% y esto fue tomado como referencia de comparación con el resto de grupos de experimentación, el observar las diferencias entre estos depósitos subero-lignificados en la epidermis da información clara y evidente de la respuesta de la planta ante contaminantes, estudiado esencialmente en Cd y en otras especies (Kováč et al., 2018; Lux et al., 2011)

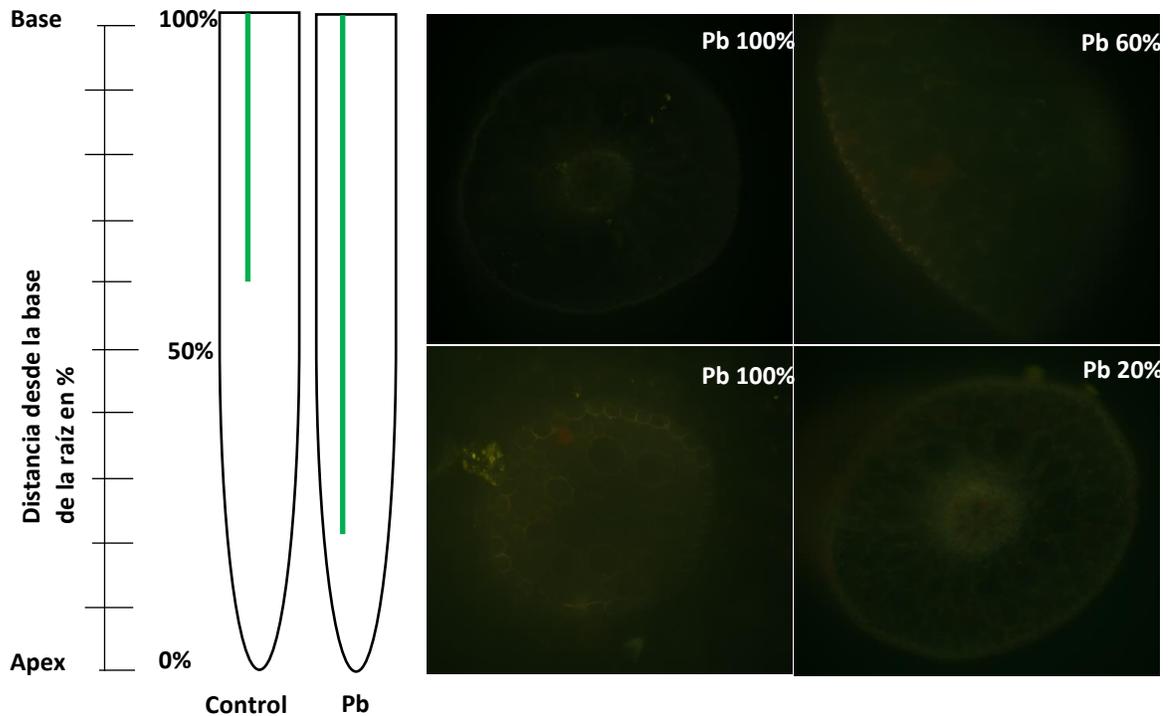


**FIG. 7: ASPECTO DE LAS RAÍCES EN CONTROL SIN METAL, SE OBSERVA LA PRESENCIA DE LA BANDA DE CASPARY Y LÁMINAS DE SUBERINA**  
**ASPECTO DE LAS RAÍCES EN CONTROL SIN METAL, SE OBSERVA LA PRESENCIA DE LA BANDA DE CASPARY Y LÁMINAS DE SUBERINA**



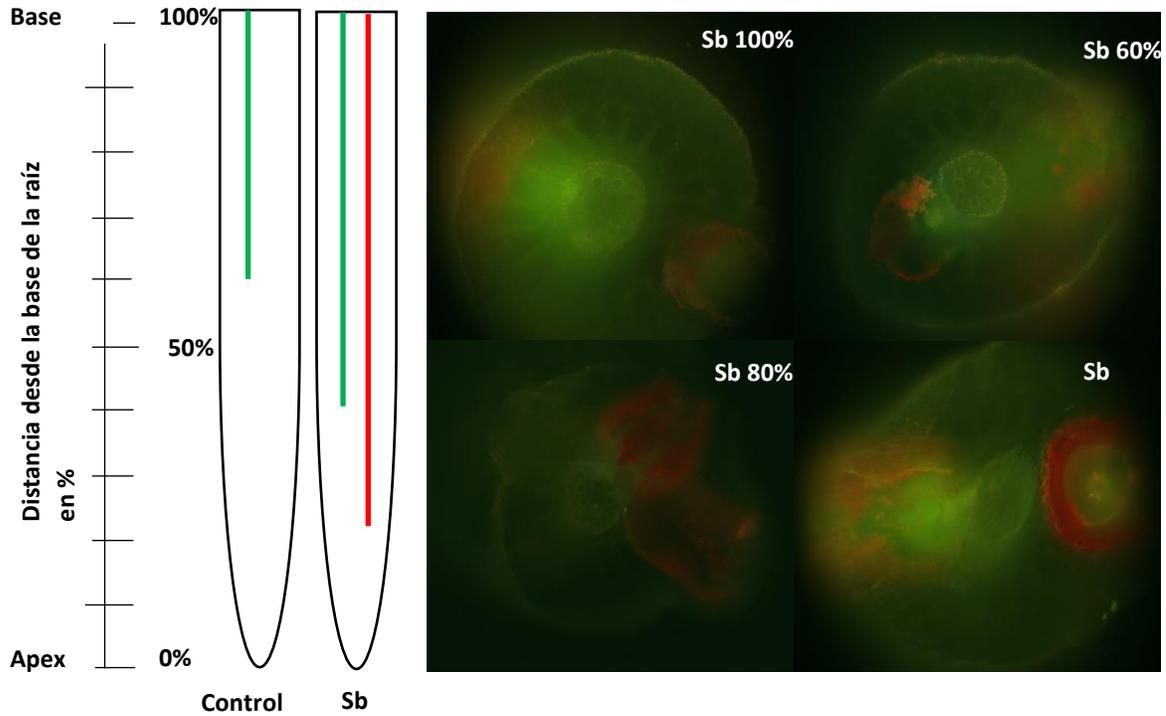
**FIG. 8: RAÍZ DE *P. STRATIOTES*: BANDA DE CASPARY Y DEPÓSITOS DE SUBERINA EN PRESENCIA DE Cd (3MG/L), LA LÍNEA VERDE MUESTRA EL NIVEL AL QUE ALCANZA A DETECTARSE LA SUBERINA Y LA LÍNEA ROJA, EL NIVEL DE OTROS AGREGADOS DE LIGNINA.**

En el grupo de estudio para Cd, se observan depósitos de suberina hasta los cortes llevados a cabo hasta un nivel del 20% (Fig. 8) de la punta de la raíz, además se observan agregados presumiblemente lignocelulósicos hasta un nivel de 40%, principalmente visibles en el nacimiento de las raíces laterales. Comportamientos de incremento de actividad en las raíces laterales fueron descritos por Kovác et al., (2018), contrario a la generalidad donde la presencia de los metales inhibe la división celular y por ende la generación de estas raíces laterales, en *P. stratiotes* parece haber un paso previo donde se generan estos agregados de lignina y quizás previos a una pérdida posterior o inhibición del crecimiento de las raíces laterales.



**FIG. 9: RAÍZ DE *P. STRATIOTES* BANDA DE CASPARY Y DEPÓSITOS DE SUBERINA EN EPIDERMIS EN PRESENCIA DE Pb (300MG/L), LA LÍNEA VERDE MUESTRA EL NIVEL AL QUE ALCANZA A DETECTARSE LA SUBERINA.**

En el grupo de experimentación de Pb (Fig. 9) no alcanzan a detectarse posibles agregados de lignina, sin embargo el nivel al que se presenta la láminas de suberina son similares a las observadas en Cd, en general la estructura de la raíz se ve más afectada y la arquitectura interna de los compartimentos desdibujados, la concentración de 300mg/ L de Pb que aunque en bibliografía está dentro de lo tolerado por la especie, puede estar siendo bajo las condiciones de trabajo de este experimento, demasiado para soportar por la planta.



**FIG. 10: RAÍZ DE *P. STRATIOTES* BANDA DE CASPARY Y DEPÓSITOS DE SUBERINA EN EPIDERMIS V ANTE SB LA LÍNEA VERDE MUESTRA EL NIVEL AL QUE ALCANZA A DETECTARSE LA SUBERINA Y LA LÍNEA ROJA, EL NIVEL DE OTROS AGREGADOS DE LIGNINA.**

Para el grupo de experimentación de Sb (Fig. 10), se observa un menor recubrimiento de suberina (40%) y mayor presencia de depósitos de lignina, (30%), con especial énfasis en las raíces laterales donde los depósitos de este material se observan de manera prominente y focalizados en las células de meristemo de las raíces laterales. Esto también fue observado por Kovác et al., (2018) en raíces de rábano expuestas a Cu, donde un derivado subero-lignificado fue detectado en el nacimiento de raíces laterales como un posible mecanismo en respuesta al estrés que se manifiesta en específico en las células del meristemo. (Fig.11)

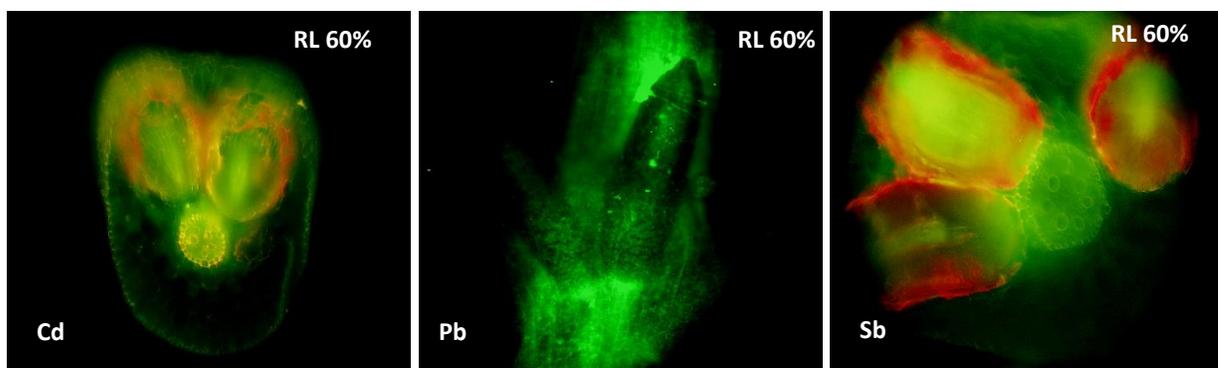


FIG. 11: DEPÓSITOS SUBERO-LIGNIFICADOS EN RAÍCES LATERALES DE *P. STRTIOTES*, ANTE CD, PB, Y SB.

Puede observarse áreas oscuras (Fig. 11) en las raíces laterales del grupo de experimentación de Pb, donde puede estar asociado a la inhibición de la actividad y daño de las estructuras esenciales de la planta (V. Yadav et al., 2021).

La presencia de diferentes tipos de lignina dependiendo del tratamiento de los grupos fue observado en este experimento, donde en el grupo de Cd (fig. 12) los tipos de lignina observada son muy diferentes en apariencia y proporciona las observadas en Pb y Sb (fig. 13y fig. 14), en el grupo de Pb incluso se observan depósitos de un compuesto de color negro probablemente derivado de algún precipitado formado entre el Pb y otros compuestos celulares y observándose predominancia de una lignina más clara sobre la rojiza. En el grupo de Sb, donde predominantemente está presente la lignina de tipo rojizo y prácticamente ausente la amarilla. Es necesario llevar a cabo más estudios para determinar qué tipo de compuestos se están generando sobre todo en el grupo de Pb, al ser buena acumuladora, *P. strtiotes* puede verse beneficiada del acompañamiento de sustratos o nutrientes altos en Fe que le permitan favorecer los mecanismos de quelación y formación de placas que le permitan tolerar de mejor manera el estrés ante este contaminante (Singha et al., 2019)

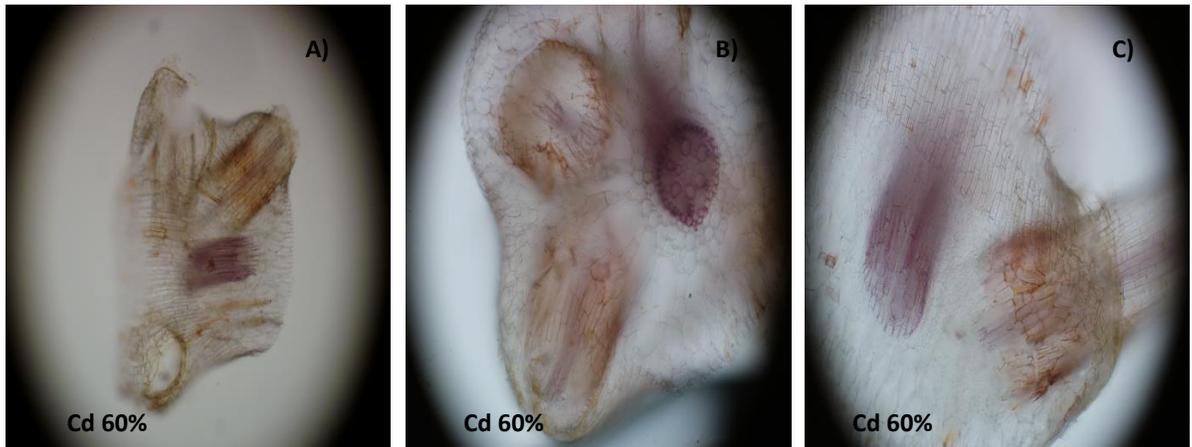


FIG. 12: ESTRUCTURAS Y DEPÓSITOS DE LIGNINA EN RAÍCES DE *P. STRATIOTES* ANTE Cd

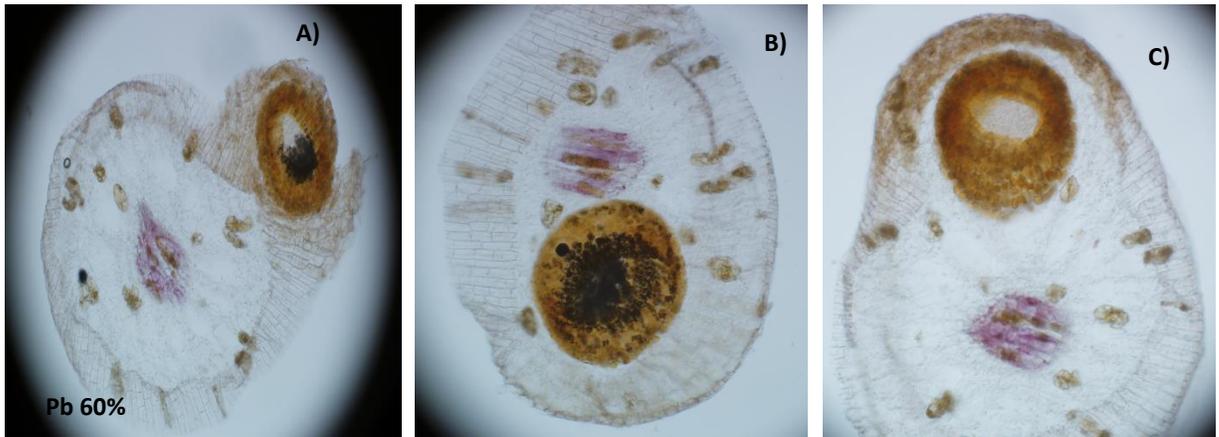


FIG. 13: ESTRUCTURA Y DEPÓSITOS DE LIGNINA EN RAÍCES DE *P. STRATIOTES* ANTE Pb

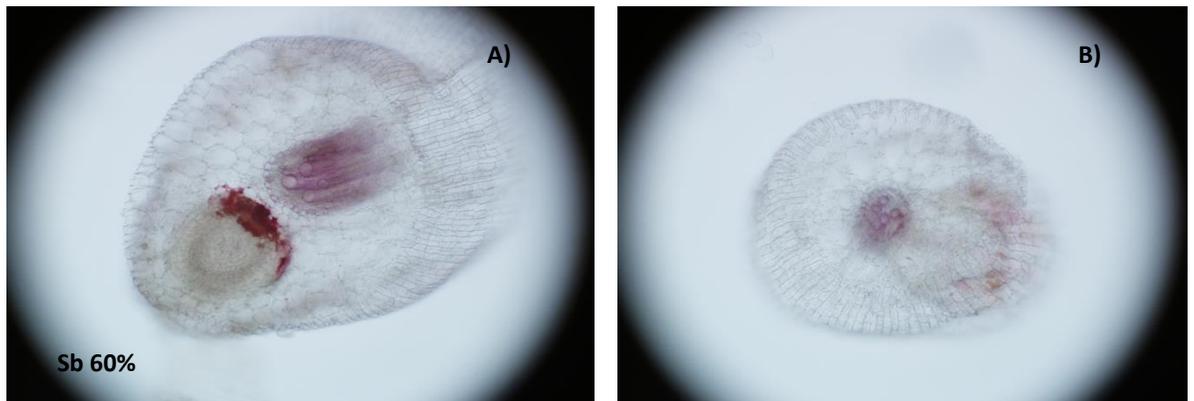


FIG. 14: ESTRUCTURA Y DEPÓSITOS DE LIGNINA EN RAÍCES DE *P. STRATIOTES* ANTE Sb

## CAPITULO 3:

### **Remoción de metales pesados de efluentes reales contaminados en humedal artificial adaptado con *P. stratiotes* y *Salvinia spp.***

#### **Resumen**

La construcción del humedal de flujo superficial involucró la elección de un medio de mantenimiento donde se evaluaron el medio L-C (López -Chuken) y solución nutritiva de turba (SNT) sin dilución, al 50% y 10% evaluándose ambas especies durante 7 días en condiciones controladas: Fotoperíodo 24/24, 29°C ± 2°C, 5500 luxes, HR 65%, n=5, al final del experimento se analizan los parámetros de concentración de clorofila y peso fresco, adicionándose la medición de la raíz para el caso de *P. stratiotes* y siendo en todos los casos el grupo de SNT al 10% el que mejores condiciones de crecimiento mantuvo para ambas especies por lo que se decide utilizar para la adaptación del humedal. Se determinó la remoción debido a la SNT y a la SNT con pretratamiento ácido (TBT) y sin pretratamiento ácido (TB) evaluando 0.3g de turba en turba y 30ml de solución de Cd<sup>+2</sup> en concentraciones de 5mg/L y 100mg/L y pH 5, manteniéndose en agitación (200 rpm a 28°C) durante 5 horas, tomando 3 ml de muestra en diferentes intervalos de tiempo (0.5 horas, 1 hora, 2 horas, 3 horas y 5 horas) no obteniéndose diferencias significativas en la remoción de TBT y TB por lo que para la construcción del humedal, se utiliza TB (sin pretratamiento), la remoción de la TB para Pb es tomado de resultados del grupo de investigación llevados a cabo anteriormente. La remoción de Pb y Cd a través del tiempo fue llevado a cabo en experimentos individuales: *P. stratiotes* en botes de 1L con 10% de medio SNT ajustados a pH5 en condiciones de invernadero (temperatura ambiental 30°C +/- 3°C, luz de lámpara con un ciclo de 12h/12h y 5500 luxes) La principal remoción se llevó a cabo en las primeras 48 horas, con una remoción final del 86% para 75mg/L de Pb, 75.82% para 150mg/L de Pb y 75.71% para 300mg/L de Pb, no observándose diferencia significativa entre el porcentaje de remoción final de los grupos 150mg/L y 300mg/L, sin embargo el grupo 150mg/L mostró un descenso en la concentración mayor al de 300mg/L.

*Salvinia spp.* fue evaluada frente a Cd durante el tratamiento de 5 días alcanzando una remoción final del 57% 3.0 mg/l durante 5 días, 2 g de planta (peso fresco en 400ml y SNT 10% como medio nutritivo, ciclo de 12h/12h y 5500 luxes.

EL humedal superficial artificial fue construido para un volumen total de tratamiento de 150L distribuidos a lo largo del sistema, con un sistema de intensidad lumínica de 5000 luxes con fotoperíodo de 24h/24 h y SNT 10% como medio nutritivo, 20 plantas de *P. stratiotes* y 2 g de peso fresco de *Salvinia spp.* manteniendo un flujo de 100ml/min, siendo acondicionado durante 24 horas antes para saturar el sistema y posteriormente adicionar 36 litros de efluente contaminado para dar un volumen de efluente a tratar de 136 L durante 72 horas, donde las concentraciones de los metales y las características principales de contaminación del agua descendieron hasta los niveles permisibles de la NOM-001-SEMARNAT-2021, y dejando material residual de 365g de material vegetal (Peso fresco), 232g de sedimento total retirado del humedal (peso fresco) y un volumen de 126L de efluente tratado.

## Introducción

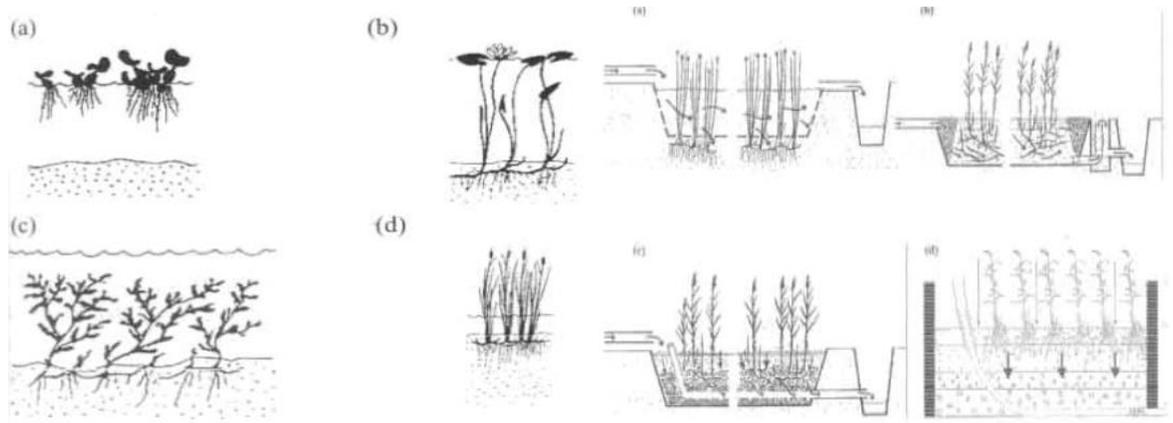
“Fitorremediación” es un término que se presume fue acuñado en 1991 por el ruso Ilya Raskin y se divide en dos palabras “Phyto” que en griego significa “planta o vegetal” y “remediare” derivado del latín cuyo significado es “recuperar el equilibrio y se basa en la habilidad desarrollada por ciertas especies cuyos mecanismo fisiológicos, funcionan como filtros biológicos para contener, neutralizar, degradar, absorber, acumular, estabilizar, reducir o eliminar in situ o ex situ de suelos, agua, aire y sedimentos la concentración o peligrosidad de contaminantes como: metales pesados, sustancias radioactivos, compuestos orgánicos, plaguicidas, solventes, explosivos, compuestos derivados del petróleo, entre otros (Salt et al., 1995; Delgadillo et al., 2011; Torres et al., 2007).

Sin embargo, la fitorremediación a pesar de sus numerosas ventajas presenta también limitaciones que han sido descritas por numerosos autores pero que poco a poco alimentan la información para diseñar los “trajes a medida” necesarios para cada situación que requiera remediarse. Dentro de sus mayores ventajas es la aceptación pública al ser catalogada como una tecnología “limpia”, estéticamente agradable, versatilidad y eficiencia ante una gama diversa de contaminantes, mientras que las principales desventajas están ligadas esencialmente a las condiciones de crecimiento y necesidades de las plantas utilizadas, en algunos diseños, a la estacionalidad y condiciones meteorológicas y al espacio disponible para su implementación.

Dentro de la diversidad de opciones para la implementación de humedales, se tienen plantas que por sus características de crecimiento se clasifican como emergentes (*Cyperus rotundus*, *Thypha dominguensis*), flotantes, las cuales pueden ser de libre flotación como *Pistia stratiotes*, *Lemna spp.* Y *Salvinia spp.* O de hoja fija como los nenúfares (*Nymphaea elegans* y *Nymphoides fallax*), y finalmente las plantas sumergidas como la *Hydrilla verticillata*, presentando dentro de estas mismas un grupo importante de especies hiperacumuladora,

Entre las ventajas de los humedales se destaca que son una tecnología económicamente viables, moderado costo mantenimiento, de simple operación, gran capacidad y diversidad de remoción de contaminantes, consumo energético mínimo, buena integración para

implementar en comunidades pequeñas o ambiente rural, baja producción de residuos después del tratamiento de las aguas residuales que después de ser tratadas, puedan utilizarse para riego y por último son estéticamente agradables a la vista (Reyes et al., 2011).



**FIG. 15: TIPOS DE HUMEDALES SEGUN LAS PLANTAS PREDOMINANTES**

- a) macrófitas flotantes, b) macrófitas de hojas flotantes, c) macrófitas sumergidas, d) macrófitas emergentes. Imagen de la der. Tipos de humedales según el flujo a) humedales de flujo superficial, b) humedales de flujo subsuperficial, c) humedal de flujo mixto y d) humedal de flujo vertical. Tomado de Arias and Brix, 2003.



Se acondicionaron los ejemplares recolectados en un estanque (tipo alberca) de 5000 L, con un volumen aproximado de 2000L en el invernadero de acuicultura de la FCB en unidad B. El estanque se llenó con agua corriente reposada para liberar el contenido de cloro (24h de reposo) y enriquecida con una solución con nutrientes de turba (Sphagnum peat moss tourbe, Premier Horticulture, Inc. Canadá) hasta alcanzar una concentración del 1% en el estanque (10L por cada 1000L de agua) Un día a la semana el estanque se enriquecía con la solución saturada y se rellenaba el agua evaporada, cuando fuera necesario.

Las condiciones del estanque se mantuvieron a la intemperie con incidencia de luz solar aproximadamente de 6-7 hrs diarias, con un promedio de  $50,000 \pm 100$  luxes de intensidad lumínica, manteniendo un pH  $7.5 \pm 0.2$ , temperatura de  $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  del agua, conductividad de  $550 - 650 \mu\text{S}$ , sólidos disueltos totales de  $280 - 295 \text{ mg/L}$  y una salinidad de  $0.3 - 0.4\%$ .

#### **Obtención, aclimatación, mantenimiento y propagación de *S. mínima***

Los ejemplares de *Salvinia spp.* se obtuvieron de los acuarios del laboratorio de acuicultura de la Facultad de Ciencias biológicas, UANL, siendo seleccionadas aquellas plantas con similares características, tamaño, longitud de estolón y sin signos aparentes de enfermedad, plaga o daño. Se mantuvieron en las mismas condiciones de laboratorio donde normalmente se desarrollan, monitoreando los parámetros fisicoquímicos del agua y características ambientales.

La pileta utilizada para su propagación tenía una medida de 3.5m de largo por 1.6m de ancho con 0.80m de profundidad, con un volumen total de  $4\text{m}^3$ , manteniendo una temperatura constante en el agua de  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , la pileta se llenó con agua corriente reposada para liberar el contenido de cloro (24h de reposo) y enriquecida con una solución de nutrientes de turba (Sphagnum peat moss tourbe, Premier Horticulture, Inc. Canadá) hasta alcanzar una concentración del 1% en la pileta (10L por cada 1000L de agua) Un día a la semana el estanque se enriquecía con la solución saturada y se rellenaba el agua evaporada, cuando fuera necesario.

## Evaluación de parámetros biológicos (sistema fotosintético y crecimiento)

### Determinación de clorofila

Se determinó el contenido de clorofila total ( $Cl_{a+b}$ ), clorofila b ( $Cl_b$ ) y clorofila a ( $Cl_a$ ) mediante la medición del extracto acetónico (Lichtenthaler & Buschmann 2001). Se tomaron muestras de 0.2g y se congelaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 24h, posteriormente se pasa a un mortero y se macera con 5ml de acetona al 80% como disolvente extractor de los pigmentos por 2min en oscuridad, una vez homogenizado se vierte en tubos forrados de aluminio, se ajusta el volumen final a 10ml y se agita, posteriormente los tubos se dejan reposar en refrigeración por 24hrs. Después de las 24hrs se toma 1ml de las concentraciones de los pigmentos y se cuantifican mediante espectrofotometría visible (Smartpec® 3000 Bio-Rad). La longitud de onda ( $\lambda$ ) para determinar la  $Cl_a$  es de 663nm, para la  $Cl_b$  de 646nm y a 750nm como corrección de la turbidez. Se consideran las siguientes ecuaciones para el cálculo del contenido de las diferentes clorofilas:

$$Cl_a \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right) = 12.25 * A_{663} - 2.79 * A_{646} \quad Cl_b \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right) = 21.50 * A_{646} - 5.10 * A_{663}$$

$$Cl_{a+b} \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right) = 7.15 * A_{663} + 18.71 * A_{646}$$

Durante el experimento (7 días) se tomaron medidas radiculares y se realizó conteo de hojas para complementar la observación del efecto del pH en los diferentes grupos de trabajo.

### Determinación de peso fresco

Para el caso de *Salvinia spp.* se tomó en cuenta el valor de clorofila y el peso fresco, sin considerar la extensión radicular con los métodos antes descritos, se evaluaron los mismos valores de pH (Control 7, 3, 4 y 5) pero se evaluó en botes de plástico PEAD con capacidad de 500ml, con 400ml de agua reposada (24h) donde se acopló una malla en su superficie de un diámetro de 22cm, poro de 1mm y  $4 \pm 0.1\text{g}$  de peso sostenidas por ligas de goma elástica alrededor del bote, lo que permitía la flotación de las plantas dentro del recipiente y la mejor manipulación al momento de determinar peso fresco. En este caso cada bote contenía 2g de material vegetal, eligiendo la misma longitud y cantidad foliar de los individuos, obteniéndose 5 repeticiones de cada grupo.

Para la determinación de peso fresco en *P. stratiotes* no fue necesario adaptar algún aditamento a los botes de mantenimiento ya que el tamaño de la planta facilita su medición y evaluación.

### **Efecto de SNT en el crecimiento de *P. stratiotes* y *Salvinia spp.***

Se compararon 2 medios nutritivos, el obtenido de la filtración de la turba reposada y el medio L-C utilizado como referencia por su contenido de micro y macronutrientes ya reportado en bibliografía como un medio con excelente biodisponibilidad de elementos (López-Chuken & Young, 2010).

La obtención de los nutrientes de la turba consistió en dejar reposar una solución saturada (10%) de turba (Sphagnum peat moss tourbe, Premier Horticulture, Inc. Canadá) en un recipiente de 70L tapado y a temperatura ambiente (30-34°C) durante 7 días donde posteriormente se filtra la solución con tela para eliminar al máximo la cantidad de partículas en la solución. La solución obtenida se probó a diferentes concentraciones y se determinaron en la *P. stratiotes* el crecimiento radicular, foliar, peso fresco y clorofila, mientras que en *Salvinia spp.* no se consideró el crecimiento radicular.

Para ambas plantas se probaron las mismas concentraciones de nutrientes: 10%, 50% y 100% tanto de solución de nutrientes de turba (SNT) como del medio de referencia L-C, el experimento se llevó a cabo por quintuplicado.

Para el ensayo con *P. stratiotes* se utilizaron botes PET de 1 litro con diferentes concentraciones de nutrientes obtenidos de turba reposada y L-C, mientras que para *Salvinia spp.* se utilizaron los recipientes y el método de manipulación descritos en el apartado anterior.

### **Determinación de parámetros fisicoquímicos**

#### **Potencial de Hidrógeno (pH)**

Se utilizó un potenciómetro HACH CO150 para analizar las muestras de agua y medios nutritivos. El pH del efluente se midió de acuerdo con el método 4500-B del Standard Methods para la evaluación de agua y agua residual (Association, American Public Health, American Water Works Association, 2005).

### **Conductividad**

Se utilizó un conductímetro (HANNA HI98129 pH/CE/TDS/T), realizándose las mediciones de manera directa en la parte central del recipiente o pileta y enjuagando abundantemente entre mediciones. La conductividad se expresa en micromho por centímetro ( $\mu\text{mho/cm}$ ), equivalentes a microsiemens por centímetro ( $\mu\text{S/cm}$ ) o milisiemens por centímetro ( $\text{mS/cm}$ ) en el Sistema Internacional de Unidades. (Association, American Public Health, American Water Works Association, 2005).

### **Determinación de Amonio $\text{NH}^{+4}$**

Esta determinación se llevó a cabo a través del método de salicilato utilizando un kit HACH DR/2010, donde se valoraron los reactivos y se elaboraron curvas de calibración para mejorar el nivel de exactitud del equipo y el método. La solución estándar se preparó a partir de una solución stock de cloruro de amonio grado analítico, 200mg/ml, haciendo una serie de diluciones hasta obtener estándares entre 0 a 2mg/L. El principio de esta determinación se basa en la reacción colorimétrica del amonio presente en el agua con el salicilato de sodio al 1% y el hipoclorito de sodio, los cuales forman una coloración verde característica. Tanto la curva como las muestras fueron leídas en un espectrofotómetro UV-Vis Smartpec® 3000 Bio-Rad a 600nm. Se llevó a cabo el experimento por triplicado y se utilizó agua destilada como blanco + reactivos de la prueba.

### **Determinación de Nitrato $\text{NO}^{+3}$**

Esta determinación se llevó a cabo utilizando el método de reducción de cadmio a través de un equipo HACH DR/2010 (0 a 30.0 mg/l  $\text{NO}_3$ ) programa 8039 para agua, aguas residuales y agua de mar, se realizó la lectura de las muestras a 500 nm. (Company HACH, 2000). El método consiste en reducir nitratos a nitritos por la acción del cadmio, midiendo la suma de nitrato y nitritos, si la concentración de nitrito es relevante, la estima del nitrato se hace por diferencia. La determinación se llevó a cabo por triplicado con agua destilada como blanco.

### **Determinación de Nitrato $\text{PO}_4^{-3}$**

Para esta determinación se llevó a cabo el método el ácido ascórbico descrito en la USEPA y en el Método estándar 4500E para aguas residuales a través del sistema HACH (HACH DR/2010). Se utilizaron 10ml de muestra con reactivo Phos Ver3®, resultando la reacción entre fosfato y molibdato en un medio ácido, produciendo el complejo fosfato-molibdato

y este posteriormente reducido por el ácido ascórbico, desarrollándose el color azul del molibdeno. Las lecturas se registran a 880nm y se toma la medida de la concentración directa del equipo de acuerdo con el manual de usuario. (Company HACH, 2000) La determinación se llevó a cabo por triplicado con agua destilada como blanco-

#### **Determinación de Cloruros Cl<sup>-</sup>**

Esta determinación se llevó a cabo según la NMX-AA-073-SCFI-2001, a través de la valoración de la muestra con nitrato de plata, utilizando cromato de potasio como indicador. Para el experimento se utilizaron 20ml de muestra y se aforaron con 80ml de agua desionizada utilizando 1ml de cromato de potasio titulándose hasta el vire de blanco a salmón. La determinación se llevó a cabo por triplicado con agua destilada como blanco.

#### **6.2.4.6 Determinación de Cd<sup>+2</sup> y Pb<sup>+2</sup> por Espectrofotometría de Absorción atómica**

La determinación de metales pesados se llevó a cabo mediante un espectrofotómetro de absorción atómica (GBC, modelo 932 AA) (APHA-AWWA-WEF, 2005)

Para la determinación se cuidaron los siguientes parámetros: aire, purificado y secado a través de un filtro apropiado que elimina aceite, agua y otras sustancias extrañas, acetileno calidad comercial estándar, agua libre de metales y HNO<sub>3</sub> grado HPLC para la acidificación de las muestras.

Se comprobó mediante controles constantes que el agua desionizada y los reactivos utilizados nos aportaran trazas de metales y evitar variaciones debidas a la contaminación. (APHA-AWWA-WEF, 2005)

Se utilizaron estándares de alta pureza de Cd<sup>+2</sup> y Pb<sup>+2</sup> para todas las determinaciones en las concentraciones y rango adecuados para las curvas de calibración. Las muestras fueron acidificadas o digeridas según el protocolo y naturaleza de esta.

Todas las muestras obtenidas fueron analizadas mediante espectrofotometría de absorción atómica (EAA) utilizando una lámpara de cátodo hueco marca Photron-Lamps, tal como lo indica la NMX-AA-051-SCFI-2001, esto se realizó en el laboratorio de instrumentación analítica de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL, en el equipo marca GCB modelo 932AA.

### **Remoción de metales ( $\text{Cd}^{+2}$ ) debida a solución nutritiva de turba (SNT)**

Para determinar la adsorción de cadmio por la turba, se prepararon soluciones al 1% de la misma con pretratamiento ácido (TBT) y sin pretratamiento ácido (TB), pesando 0.3g de turba en matraces Erlenmeyer y 30ml de solución de  $\text{Cd}^{+2}$  a dos concentraciones de trabajo: 5mg/L y 100mg/L y se ajustó pH a 5, partiendo de una solución stock de 1000mg/L de  $\text{CdCl}_2$  anhidro grado analítico.

Los estándares de Cd utilizados para la elaboración de las curvas de calibración para EAA fueron elaborados a partir de un estándar de 1,000 ppm de  $\text{Cd}^{+2}$  (MERCK). Se utilizaron estándares de 0.2, 0.4, 0.8, 1, 1.2 y 1.4 mg/L de  $\text{Cd}^{+2}$  para la lectura de las muestras con soluciones de Cd de 5 mg/L, estándares de concentración de 5, 10, 30, 50, 70 y 100 mg/L de  $\text{Cd}^{+2}$  fueron utilizados para la lectura de las muestras con solución de  $\text{Cd}^{+2}$  de 100 mg/L.

El pretratamiento ácido de las muestras se realizó utilizando HCl 1% y 10%. Se pesó 1 gramo de muestra en un tubo de centrífuga de 50mL y se le adicionaron 10 ml de HCl respectivamente, se dejó actuar durante 15 minutos y se detuvo la reacción con NaOH 5% hasta alcanzar un pH de 7. Las muestras pretratadas con ácido se filtraron y lavaron con una pequeña cantidad de agua destilada, dejándose secar 24 horas a 105°C (Tejada Tovar et al., 2012).

Durante la cinética se tomaron 3 ml de muestra inicial de cada una, se sellaron con papel parafilm y se llevaron al shaker para mantener en agitación (200 rpm a 28°C) durante 5 horas, tomando 3 ml de muestra en diferentes intervalos de tiempo (0.5 horas, 1 hora, 2 horas, 3 horas y 5 horas), después de tomar los 3ml de cada muestra en los tubos se adicionó 0.5 ml de  $\text{HNO}_3$  y se almacenaron en refrigeración hasta su lectura en EAA. Al final de la cinética se filtró la solución sobrante, ambas partes del filtrado se guardaron en refrigeración. (Abdolali et al., 2016).

### **Remoción de $\text{Cd}^{+2}$ y $\text{Pb}^{+2}$ por *P. stratiotes* y *Salvinia spp.***

#### **Diseño de remoción para *P. stratiotes***

Se seleccionaron plantas de *Pistia stratiotes* de apariencia similar y sanas (color verde, sin hijuelos), cada planta se registró su peso fresco (Balanza Metler Toledo PB602-S)

siguiendo el método anteriormente mencionado en el experimento de pH, además se registraron sus medidas de longitud de raíz y hojas. También se tomó una muestra inicial de 0.2g de hoja para pruebas de clorofila en una balanza analítica (Metler Toledo AG-204).

Para el montaje experimental se preparó en botes de 1L para cada planta, la solución nutritiva (solución saturada previamente filtrada) con lo que se proveyó la nutrición de la planta durante el experimento, se ajustó el pH a 5 y se prepararon los siguientes grupos de trabajo:

	Control (+)	Control (+)	Control (+)	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Control (-)
<b>Metal (conc).</b>	Pb <sup>+2</sup> 75ppm	Pb <sup>+2</sup> 150ppm	Pb <sup>+2</sup> 300ppm	Pb <sup>+2</sup> 75ppm	Pb <sup>+2</sup> 150ppm	Pb <sup>+2</sup> 300ppm	-
<b><i>P. Stratiotes</i></b>	-	-	-	5	5	5	5
Las condiciones del experimento dentro del invernadero de acuicultura de la FCB en unidad B: temperatura ambiental 30°C +/- 3°C, luz de lámpara con un ciclo de 12h/12h y 5500 luxes.							

Una vez formados los sistemas, para realizar análisis de laboratorio correspondientes se tomaron muestras a las 2, 24, 48, 96, 168 y 264hrs colectando 10mL de efluente de cada sistema y adicionando 1mL de HNO<sub>3</sub> (Grado HPLC) y conservándose en refrigeración para su posterior análisis de absorción atómica. También se colectaron 0.2g de hoja a las 0, 96 y 264hrs para la determinación de clorofila. El pH fue medido durante cada toma de muestra y si era necesario ajustado entre 5-6, y se registró diariamente las observaciones de las afecciones de la planta, señalando cambios de color, marchitamiento y porcentaje de mortalidad (desprendimiento total de raíz) durante los 11 días del experimento.

#### **Diseño de remoción para *Salvinia spp.***

Se seleccionaron plantas de *Salvinia spp.* de apariencia similar y sana (color verde, sin hijuelos y sin evidencia de plaga o enfermedad), cada planta se registró su peso fresco (Balanza Metler Toledo PB602-S), además se registraron sus medidas de longitud de raíz y hojas. También se tomó una muestra inicial de 0.2g de hoja para pruebas de clorofila en una balanza analítica (Metler Toledo AG-204).

Para el montaje experimental se preparó en botes de 400ml utilizándose 2g de peso fresco de *Salvinia spp.* y la solución nutritiva de turba (SNT) con lo que se proveyó la nutrición de la planta durante el experimento, se ajustó el pH a 5 y se prepararon los siguientes grupos de trabajo:

	Control (+)	Control (+)	Control (+)	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Control (-)
<b>Metal (conc).</b>	Cd <sup>+2</sup> 0.6ppm	Cd <sup>+2</sup> 1.5ppm	Cd <sup>+2</sup> 3ppm	Cd <sup>+2</sup> 0.6 ppm	Cd <sup>+2</sup> 1.5ppm	Cd <sup>+2</sup> 3ppm	-
<b>S. mínima</b>	-	-	-	2g	2g	2g	2g
Las condiciones del experimento dentro del invernadero de acuicultura de la FCB en unidad B: temperatura ambiental 30°C +/- 3°C, luz de lámpara con un ciclo de 12h/12h y 5500 luxes.							

### Tratamiento de las muestras y material vegetal

Después del tiempo de tratamiento se retiraron las plantas de cada recipiente por separado se lavaron con agua destilada y se colocaron en papel secante, se presionó suavemente para retirar el exceso de humedad y registrar su peso fresco, de igual manera se midió su longitud de raíz y hoja lo cual mide el grado de daño causado por los metales a la planta. A continuación, las plantas por separado se guardan en bolsas de papel estraza y se conservan en estufa a 105°C hasta obtener peso constante y determinar su peso seco, una vez registrado este peso se separa la raíz y tallo de las hojas y se registra el peso, se guardan y etiquetan por separado para conservarse desecador hasta su análisis de EAA.

Las pesaron 0.2g de muestra para clorofila y se guardaron y etiquetaron en tubos forrados de aluminio en condiciones de congelación hasta su análisis. Durante la recolecta de las muestras del efluente con metales y sus controles se le adiciona a cada uno 1ml de HNO<sub>3</sub> concentrado y se conserva a 4°C hasta su análisis en EAA.

### Determinación del contenido metálico en el material vegetal

Para la cuantificación de metal que se encuentra acumulado por la raíz y por las hojas, se realizó la digestión ácida de las muestras previamente secas, se pesó de cada muestra tanto raíz como hoja 0.2g por separado utilizando una balanza analítica (Metler Toledo AG-204). Posteriormente dentro de una campana de extracción cada muestra por separado se

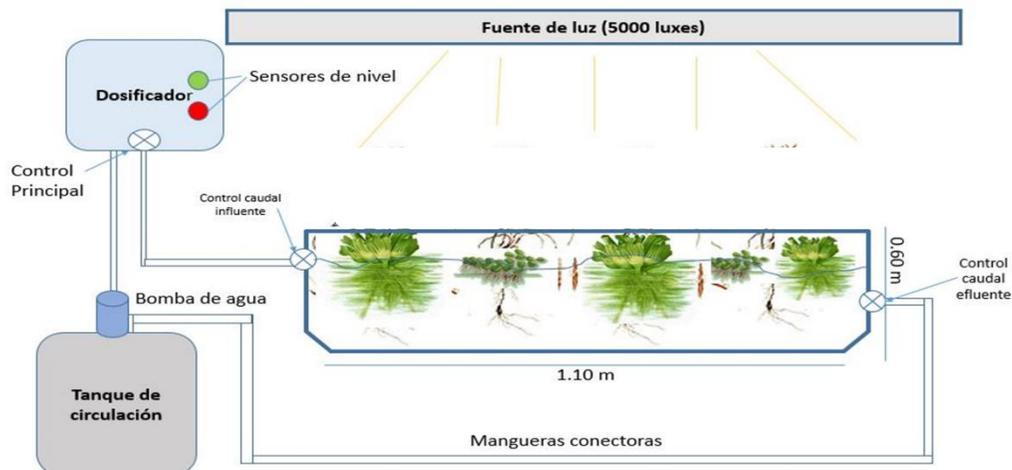
pasó a un matraz libre de metales donde tuvo una predigestión con 10ml HNO<sub>3</sub> sobre una plancha pre-calentada a 200°C y en agitación, durante 40min. Cuando la muestra estuvo digerida en su totalidad y evaporada hasta aproximadamente 3ml se enjuagó con 1ml de agua destilada, se filtró, aforó a un volumen adecuado y se conservó a 4°C hasta su análisis en el EAA. (APHA-AWWA-WEF, 2005)

### **Remoción de Pb<sup>+2</sup> y Cd<sup>+2</sup> de un efluente natural contaminado mediante un humedal superficial acondicionado con *P. stratiotes*. y *Salvinia spp.***

#### **Construcción del humedal superficial artificial**

El humedal fue construido en un recipiente de polietileno de alta densidad, previamente lavado con agua destilada acidificada con HCl 10%, teniendo un volumen total de tratamiento de 70L distribuido en 3 partes: Tanque de circulación que se constituye de un recipiente de 30L donde se adiciona inicialmente el efluente a tratar y que está equipado con una bomba de aire de capacidad de circulación de hasta 300L/min. Humedal: donde se lleva a cabo la fitorremediación del efluente y consta de una superficie de 110 cm de longitud, 13 cm de profundidad y 60 cm de ancho, donde a través de un sistema de mangueras distribuye un flujo constante del efluente contaminado a través del sistema, esta fase se diseñó para albergar en su superficie en un mismo tiempo 40L de agua a tratar. Finalmente, el dosificador que permite el control de efluente que consta de un recipiente de 10L adaptado con sensores eléctricos que permiten dosificar y controlar el uso de la bomba y el mantenimiento del flujo. El sistema en su totalidad da un volumen total de circulación de 100L.

Se adaptó un sistema de iluminación con una intensidad lumínica de 5000 Luxes a lo largo y de manera uniforme sobre el humedal. La medición se llevó a cabo con un luxómetro y se midió a partir de la superficie del espejo de agua del humedal. El sistema fue diseñado para proporcionar un flujo de 100ml por minuto midiéndose el flujo y ajustándose hasta que este permaneciera constante tanto en el influente como en el afluente.



**FIG. 17: HUMEDAL ARTIFICIAL SUPERFICIAL, CONSTRUIDO A PARTIR DE UN TANQUE DE CIRCULACIÓN, LA SUPERFICIE DEL HUMEDAL Y UN TANQUE DOSIFICADOR CON SENSORES ELÉCTRICOS. EL VOLUMEN TOTAL DE TRABAJO DEL SISTEMA ES DE**

### **Colecta del efluente contaminado**

A partir de los hallazgos de la fase de monitoreo de metales pesados en la ZMM, se determinaron los sitios de muestreo para evaluar el potencial de trabajo del efluente a remediar. Las muestras fueron colectadas en botellones de 20L previamente lavados con agua destilada acidificada con HCl y secos a temperatura ambiente. Se colectaron muestras previas de 1L de cada sitio para determinar su contenido de metales pesados en este caso Pb y Cd, y en caso de estar dentro del rango de trabajo de las especies seleccionadas se colectó un total de 36L del efluente contaminado el cual fue llevado a laboratorio y analizado en su contenido de Pb y Cd.

### **Operación del humedal y evaluación de la remoción de metales pesados.**

El humedal una vez analizado el efluente colectado, fue alimentado con el mismo y recirculado en proporciones adecuadas durante 48 horas con SNT 1:10 dando un volumen total de 136 litros, de donde 100 L pertenecen al medio SNT y 36L al efluente

contaminado, teniendo así casi una cuarta parte del efluente contaminado circulando en el sistema del humedal artificial. Durante este tiempo se vigiló que el flujo permaneciera constante y permitiendo al sistema saturarse con el contenido del efluente a tratar. Una vez recirculado el efluente por el sistema, se colocaron 20 plantas sanas de *P. stratiotes*, de similar tamaño, peso y longitud de raíz junto a 50g de peso fresco de *Salvinia spp.* sanas y similares en longitud del estolón y número de hojas. Se mantuvo en operación por un lapso de 48 horas más posteriores al tiempo de estabilización y circulación, donde se midió la concentración inicial y final de  $Pb^{+2}$ ,  $Cd^{+2}$ , y adicionalmente  $As^{+3}$  y  $Cr^{+6}$  como posibles interferentes que pueden afectar gravemente la viabilidad de las plantas por su contenido en el efluente. Además del contenido de metales pesados, se midió DQO, DBO, salinidad, Sólidos suspendidos totales, conductividad y pH, contrastándose los resultados contra la norma NOM-001-SEMARNAT-2021, en las mismas condiciones de intensidad lumínica (5000 luxes) y el mismo fotoperiodo de 24:24 h.

## Resultados y Discusión

### Evaluación del contenido nutricional de los medios de mantenimiento

Para evaluar los nutrientes esenciales de ambos medios de cultivo a diferentes diluciones se partió de la fórmula original del medio L-C analizándose sin dilución, y a concentraciones del 50% y 10% mientras que para la solución nutritiva de turba (SNT) se trabajó desde la concentración sin diluir directamente del tanque de reposo la cual consistió en la adición de 10 kg de turba en 1000L de agua reposada (1%), analizándose sin diluir, y a concentraciones del 50% y 10% partiendo de la mezcla concentrada (1%, 0.5% y 0.25%) respectivamente. Para fines prácticos de comparación se decide nombrar los grupos de trabajo de acuerdo con su dilución a partir de la solución madre: Concentrada, 1:1 y 1:10

**TABLA 8: CONTENIDO DE NUTRIENTES ESENCIALES EN LAS DIFERENTES DILUCIONES DE LOS MEDIOS DE TRABAJO. LAS DETERMINACIONES FUERON LLEVADAS A CABO POR EL LABORATORIO DE SERVICIOS PROFESIONALES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS UANL**

Descripción	L-C (1:10)	L-C (1:1)	L-C (Conc.)	Turba (1:10)	Turba (1:1)	Turba (Conc.)	Técnica
Nitratos mg/l	9.4	18.8	37.6	< 0.014	0.04	0.07	NMX-AA-079-SCFI-2001
Nitrógeno total mg/l	21	42	84	25.76	55	123	NMX-AA-026-SCFI-2010
Sulfatos mg/l	19.2	38.4	77	120.98	220	316	NMX-AA-073-SCFI-2001
P mg/l	3.1	6.2	12.4	0.0684	0.32	0.7	Colorimetría
K mg/l	23.5	47	94	6.46	10.9	22	ASTM E 1024
Fe mg/l	0.5	1	2	3.25	6.5	13	ASTM E 1024
Mg mg/l	4.8	9.6	19.2	18.4	37	75	ASTM E 1024

### Evaluación del mantenimiento de *P. stratiotes* con SNT como medio nutritivo

Para comparar el efecto de las diferentes soluciones nutritivas se tomaron en cuenta parámetros de crecimiento y función del sistema fotosintético. En el caso de *P. stratiotes* que permitieron comparar y decidir la concentración de trabajo del medio nutritivo fue la concentración de clorofila total, peso fresco y longitud de la raíz, mientras que para *S. mínima* solo se consideran la Clorofila total y el peso fresco.

**TABLA 9: PARÁMETROS DE MANTENIMIENTO CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE MEDIO NUTRITIVO. LOS ASTERISCOS SEÑALAN LOS VALORES SIGNIFICATIVOS A UN  $P > 0.05$**

		Clorofila total	Peso Fresco	Long. Raíz
Control	Inicial	0.34±0.03	55.17±5.94	47.00±6.76
Agua reposada	Día 7	0.35±0.07	55.56±8.32	46.00±7.37
SNT (0.25%)	Inicial	0.33±0.02	59.93±7.60	49.20±4.28
	<b>Día 7</b>	<b>0.39*±0.01</b>	<b>65.42*±8.8</b>	<b>57.30*±3.27</b>
SNT (0.50%)	Inicial	0.28±0.02	47.98±7.81	45.60±1.37
	Día 7	0.30±0.03	50.42±8.60	48.40±2.12
SNT (1.00%)	Inicial	0.22±0.04	67.73±5.34	44.40±4.07
	Día 7	0.23±0.06	73.44±4.08	47.90±6.62
L-C (10%)	Inicial	0.32±0.02	59.93±4.60	45.90±4.2
	Día 7	0.34±0.01	60.42±7.8	44.20* ± 3.6
L-C (50%)	Inicial	0.29±0.02	56.70±3.81	46.10±4.2
	Día 7	0.29±0.03	50.40*±5.60	39.30*± 3.1
L-C (100%)	Inicial	0.22±0.04	59.30±3.34	46.60±2.9
	Día 7	0.17*±0.06	21.30*±6.11	15.80*±3.4

Se evaluaron las diferentes especies durante 7 días en condiciones controladas: Fotoperíodo 24/24, 29°C ± 2°C, 5500 luxes, HR 65%, n=5.

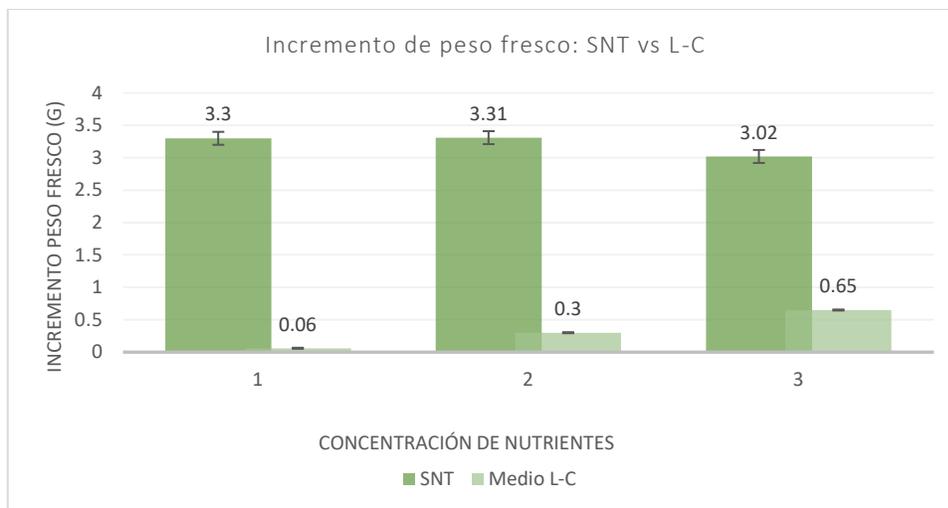
Para el caso del control con agua reposada puede observarse muy poca o nula variación en los diferentes parámetros. *P. stratiotes* puede mantenerse y desarrollarse tanto en ambientes eutróficos y mantenerse por períodos relativamente largos sin un aporte nutritivo importante, aunque su tasa de crecimiento, desarrollo y reproducción se ven ralentizadas por la falta de nutrientes, es capaz de mantenerse viable y reproducirse tan pronto como recibe un aporte nutritivo de cualquier fuente, incluso se ve incrementado su consumo hacia el crecimiento y reproducción de hojas y estolones, esto se ha observado por numerosos autores y es una respuesta al estrés causado por estos períodos de escasez (Xie et al., 2004). En el caso de *P. stratiotes* se han reportado períodos de hasta 3 semanas de supervivencia en ambientes libres de nutrientes, donde la planta lentamente consume sus reservas, esta característica de resistencia aunado a su acelerado metabolismo una vez que se ve enriquecido nuevamente su entorno es una de las ventajas competitivas que tiene y que la vuelven una de las especies invasoras más importantes de los cuerpos de agua eutrofizados (Tarlyan et al., 1998). En este estudio se observa algo similar, en 7 días la planta no presenta aun signos visibles de estrés en el control sin nutrientes, incluso muestra

ganancia en peso y aumento en la concentración de la clorofila total e incluso crecimiento radicular, sin embargo, este crecimiento está claramente por debajo de los grupos con nutrientes. Dentro de los grupos con SNT (tabla 9), los mejores parámetros de crecimiento y contenido de clorofila total se observaron en el grupo de SNT 1:10, en segundo lugar SNT 1:1 y en tercer lugar SNT concentrado, contrario a lo que pudiera pensarse, de igual manera se observa mejor desempeño en el grupo de L-C 1:10 a pesar que el medio L-C es un medio con microelementos y posee formas biodisponibles de nutrición, al aumentar a concentración de 1:1 y en el grupo de medio concentrado, incluso se observa un decremento en el peso fresco (tabla 9), que es debido a la pérdida de tejido radicular por desprendimiento del mismo. Esto se ha observado en algunos trabajos donde se ha utilizado medio Knop (Veselý et al., 2011) y Medio Hoagland (Suñe et al., 2007) donde el mejor crecimiento se da en las soluciones al 10% de concentración. Sin embargo, dado que la mayoría de los trabajos de investigación van dirigidos a erradicar el problema que como plaga representa esta planta, hace necesario conocer más sobre los requerimientos específicos de la misma, que como se observa en los resultados de este experimento, no soportan una gran concentración de nutrientes que no sean los esenciales como N, P o K (Agami & Reddy, 1990). Al final del experimento, los ejemplares con mejor aspecto y resistencia a plagas fueron los del grupo de SNT 1:10. Durante el tiempo de experimentación (7 días) no se observó generación de semillas o estolones, pero en los cultivos generales de mantenimiento posteriores con SNT 1:10 se observó generación de estolones del día 10-12 y generación de semillas las cuales fueron encontradas en el sedimento del estanque, las cuales germinaron y dieron lugar a nuevas plántulas después de 1 semana, cumpliendo con los ciclos normales observados por Agami & Reddy (1990), por lo que podemos inferir que el medio SNT 1:10 permite un adecuado ciclo de reproducción en los tiempos naturales de la planta sin aparentes signos de estrés por falta de nutrientes.

### **Evaluación del mantenimiento de *Salvinia spp.* con SNT como medio nutritivo**

Para la evaluación del mantenimiento de *Salvinia spp* con SNT vs medio L-C, se dio un período de 9 días, para alcanzar a observar su tiempo de reproducción que se da entre los 3-4 días en condiciones de experimentación (Kumari et al., 2016), donde en 9 días en condiciones óptimas podría triplicar su peso fresco de 2g a 6 g al final del tiempo de

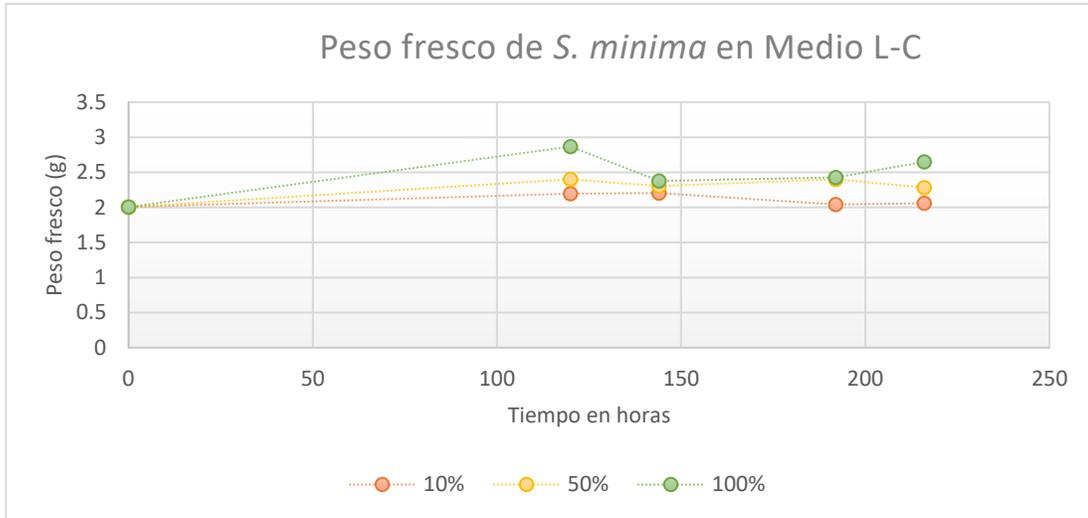
experimentación. En el ensayo llevado a cabo se probaron 3 concentraciones diferentes de los medios a evaluar, presentando diferencias significativas entre el peso fresco de los grupos con SNT en comparación con el grupo con medio L-C.



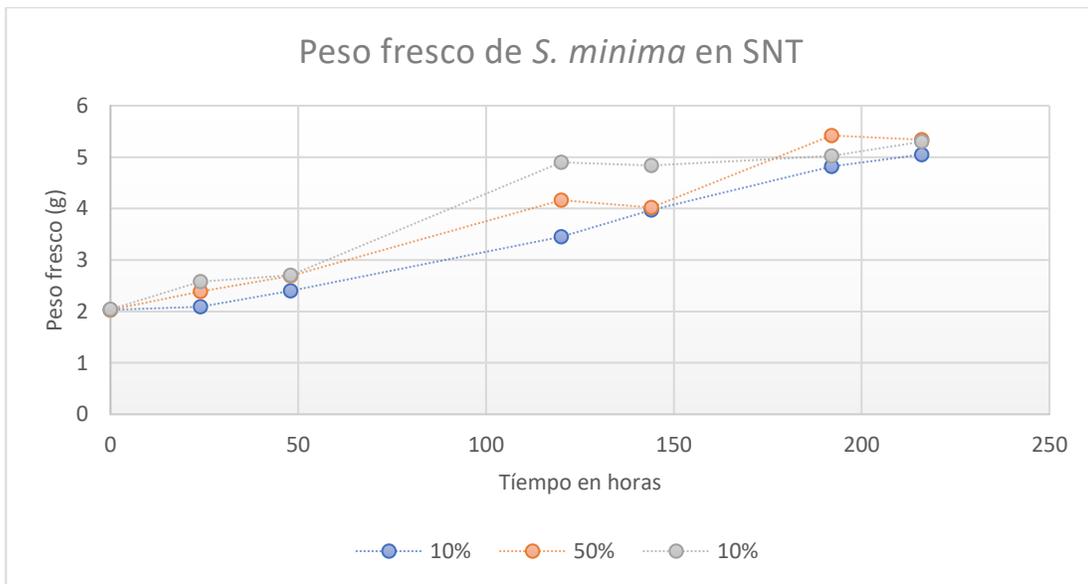
**FIG. 18: INCREMENTO DE PESO FRESCO EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS: SNT 1:10, SNT 1:1 Y SNT CONCENTRADO COMPARADOS CON EL INCREMENTO EN PESO DE L-C 1:10, L-C 1:1 Y L-C CONC., (1, 2 Y 3 RESPECTIVAMENTE). PESO FRESCO INICIAL 2G, 5500 LUXES, FOTOPERÍODO 24/24**

Sin embargo, no hubo diferencia significativa entre las diferentes concentraciones de SNT ni entre las diferentes concentraciones de L-C, (Fig. 18). Numerosos factores pueden causar este efecto, como en el caso de *P. stratiotes*, la tasa de reproducción se mantuvo de acuerdo con lo reportado en bibliografía (Kumari et al., 2016), en la figura 18 se muestra el peso fresco como incremento, es decir, el peso fresco sin considerar el peso inicial (2g), por lo que se puede observar que en los grupos de SNT casi se alcanzan los 6 g que es la tasa de replicación normal de la especie. Caso contrario con medio L-C que mantiene su peso constante y solo muestra aumento de peso fresco en el grupo de L-C concentrado donde aumenta en casi 1g el peso fresco del grupo de experimentación. Este efecto puede explicarse por una parte a la presencia de numerosas sustancias orgánicas presentes en la turba que pueden estimular la reproducción, como fitohormonas, ácidos húmicos entre otros, además de proporcionar un aporte de N, P, K adecuado y es probable que contenga elementos traza que le permitan mantener su tasa de crecimiento normal.

El aumento máximo de peso fresco se observa a las 120h donde empieza a disminuir el incremento en peso fresco manteniéndose con poca variación a comparación de la fase inicial donde el incremento fue evidente (fig.19).



**FIG. 19: INCREMENTO DE PESO FRESCO DE *SALVINIA SPP.* EN MEDIO L-C A TRAVÉS DEL TIEMPO, LOS GRUPOS CORRESPONDEN A: 10% (DIL. 1:10), 50% (DIL. 1:1) Y 100% (CONCENTRADO)**

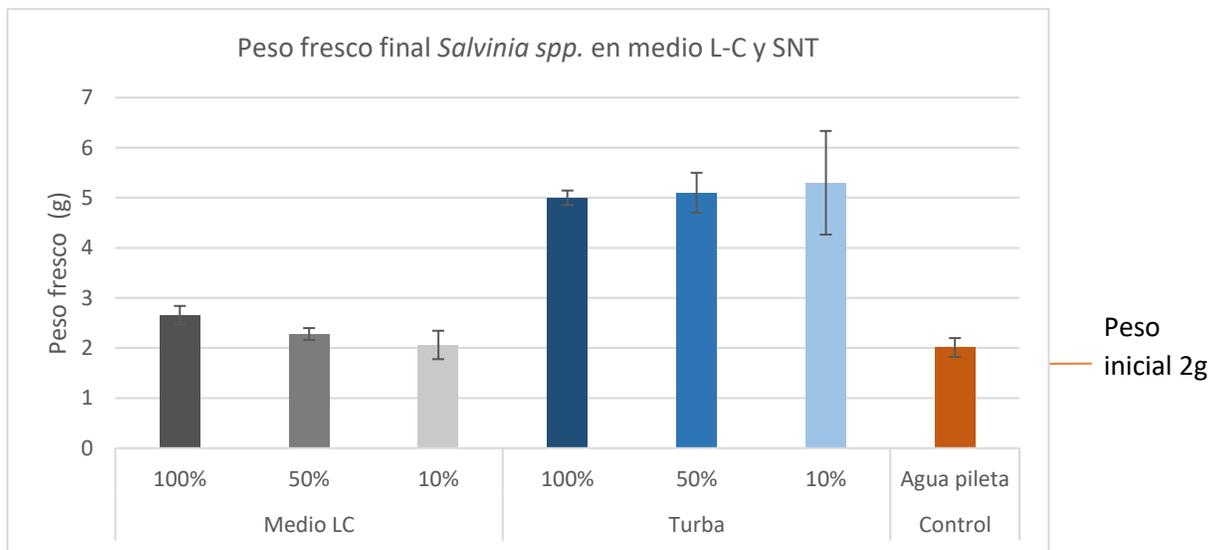


**FIG. 20: INCREMENTO DE PESO FRESCO DE *SALVINIA SPP.* EN SNT A TRAVÉS DEL TIEMPO, LOS GRUPOS CORRESPONDEN A: 10% (DIL. 1:10), 50% (DIL. 1:1) Y 100% (CONCENTRADO)**

Este aumento de peso fresco sigue el mismo comportamiento en ambos medios de cultivo difiriendo solo en la intensidad de la respuesta, por lo que puede deberse a que en ambos medios sigue un ciclo normal de desarrollo pero en los grupos con SNT está recibiendo

un estímulo a su crecimiento, o incluso una respuesta a estrés, ya que la SNT posee una alta cantidad de sólidos disueltos esto puede causar afectación en la producción de clorofila y provocar un aumento en la tasa de reproducción en respuesta a este estrés y no necesariamente a la presencia de alguna sustancia benéfica en SNT (Olguín et al., 2002), sin embargo la pobre respuesta de un medio hidropónico normal como es el L-C nos deja muchas más incógnitas por resolver en los aún desconocidos mecanismos de las macrófitas acuáticas. Al final del experimento pudo observarse una diferencia significativa entre el peso fresco de los grupos con SNT y el control con agua de pileta, donde definitivamente las características del SNT así como su ligero pH ácido final benefician el crecimiento y reproducción de *Salvinia spp.* como se muestra en la fig. 21 (Jampeetong et al., 2012; Olguín et al., 2002).

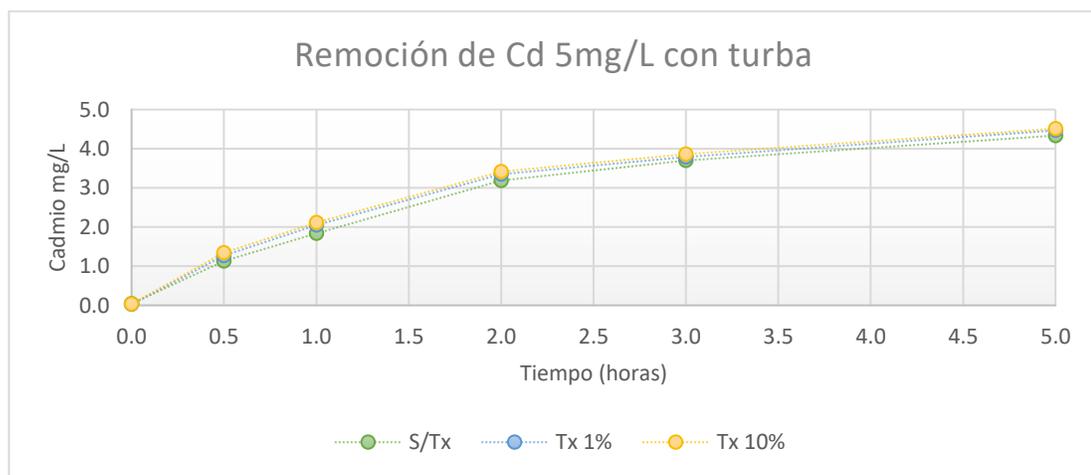
Dentro del grupo de SNT no existe diferencia significativa entre los grupos de las diferentes concentraciones por lo que se decide seguir trabajando con la dilución 1:10 para los posteriores ensayos al representar una oportunidad viable y económica de llevar a cabo los experimentos de remoción (Fig. 21).



**FIG. 21: PESO FRESCO AL FINAL DEL EXPERIMENTO (8 DÍAS) DE *SALVINIA SPP.*\*, LOS (\*) SON LOS VALORES SIGNIFICATIVOS COMPARADOS CON EL CONTROL ( $P > 0.05$ ), LA CONCENTRACIÓN 100% CORRESPONDE AL MEDIO CONCENTRADO, 50% A LA DILUCIÓN 1:1 Y 10% A LA DILUCIÓN 1:10**

## Remoción de Cd<sup>+2</sup> y Pb<sup>+2</sup> debida a SNT

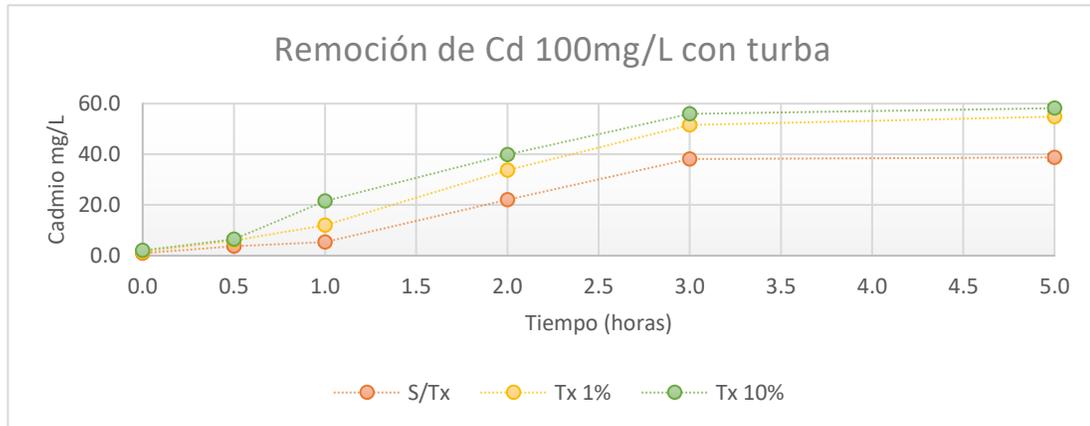
Previo a la evaluación de las especies antes presentadas en la remoción de metales pesados, se evaluó la adsorción de la SNT por sí misma en cinéticas de adsorción en condiciones controladas para estimar la interacción de la turba en solución con los metales pesados y no sobreestimar la fitorremediación de los efluentes. En un anterior trabajo de tesis de nuestro grupo de trabajo (Márquez-Reyes et al., 2013), se observó la remoción bajo las mismas condiciones de Pb<sup>+2</sup> por lo que en este estudio se evalúa en las mismas condiciones las cinéticas de remoción de turba en solución para remoción de Cd<sup>+2</sup>. La adsorción de cadmio a 5 mg/L mediante la utilización de turba no presentó diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) con el tratamiento ácido en la aplicación de ambas concentraciones de HCl (1% y 10%), tal como se muestra en la (fig. 22). Al final de la cinética los tratamientos al 1% y 10% de HCl no mostraron una diferencia significativa en su remoción (4.5 mg/L en ambos casos después de 5 horas), mostrando valores muy cercanos en las diferentes tomas con respecto al tiempo, sin embargo, mostró una leve diferencia con respecto a la turba sin tratamiento, la cual presentó una remoción final de 4.3 mg/L de Cd. En el análisis estadístico sin embargo muestra que esta no es una diferencia significativa.



**FIG. 22: CINÉTICA DE ADSORCIÓN CD+2 5MG/L CON TURBA SIN TRATAMIENTO Y CON PRETRATAMIENTO ÁCIDO (1% Y 10% HCL)**

El efecto que se presentó al utilizar turba para la remoción de Cd, el tratamiento ácido no mostró una ventaja en la remoción, esto debido probablemente también a la baja concentración del metal en los experimentos realizados a 5 mg/L de Cd, en los cuales al

final de la cinética solamente se observa un aumento de 0.2 mg/L lo cual no es significativo. En el caso de los experimentos realizados a 100 mg/L de Cd el aumento de la remoción de Cd si se vio reflejado al aplicar tratamiento con HCl a la turba, sin embargo, entre la aplicación del HCl al 1% y al 10% la diferencia de remoción fue muy baja lo cual no es significativo, esto nos dice que se puede utilizar un tratamiento de HCL al 1% y no se tiene una eficiencia mucho mayor que al utilizar HCl al 10%. (Fig. 23).



**FIG. 23: CINÉTICA DE ADSORCIÓN Cd+2 100MG/L CON TURBA SIN TRATAMIENTO Y CON PRETRATAMIENTO ÁCIDO (1% Y 10% HCL)**

En los estudios realizados por Kalmykova et al., (2008), se reportó un porcentaje de eficiencia de remoción por turba del 95.2% al trabajar con una concentración de 100 mg/L de Cd, sin embargo, es importante mencionar que en dicho trabajo se utilizaron hasta 2g del material, comparados con los 0.3g de turba tratada con HCl al 10% utilizados en este estudio, se

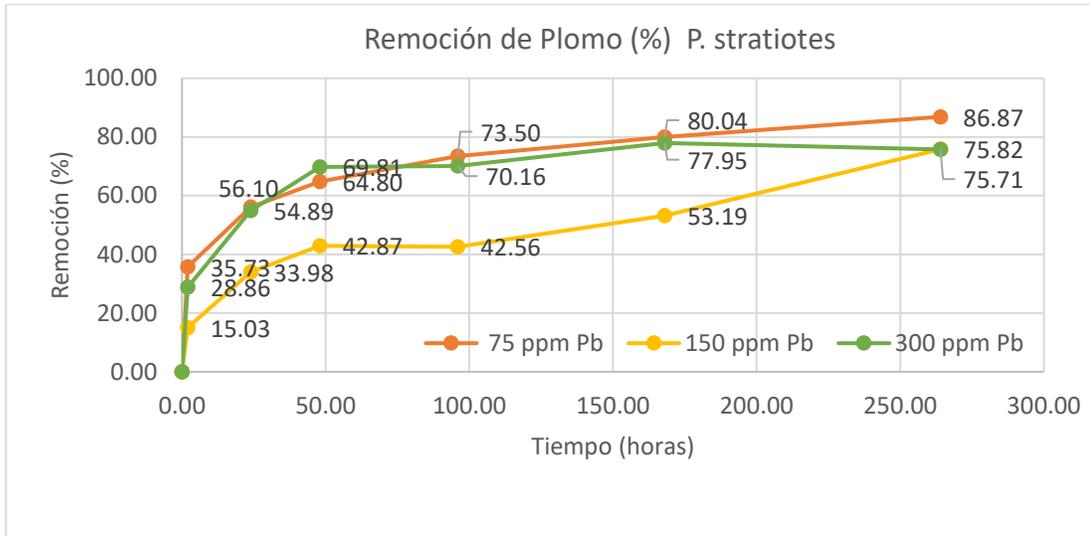
puede obtener un 62.7% de eficiencia de remoción con una concentración de 100 mg/L de Cd.

Otro punto importante que vale la pena mencionar es que existen estudios que mencionan que la turba puede mostrar una mejor capacidad de adsorción al incrementar la concentración del metal en la solución, lo cual en este estudio no se vio reflejado, obteniendo mayores porcentajes de eficiencia en la remoción de Cd al tener una concentración baja del metal (5 mg/L de Cd), lo cual pudiera deberse a la posible saturación del material debido a la cantidad utilizada (0.3g) comparada con otros estudios. Otros autores apuestan por el pretratamiento alcalino para aumentar la eficiencia de

remoción de Cd de la turba (Sen Gupta et al., 2009), por lo cual queda como un área pendiente de explorar en el futuro.

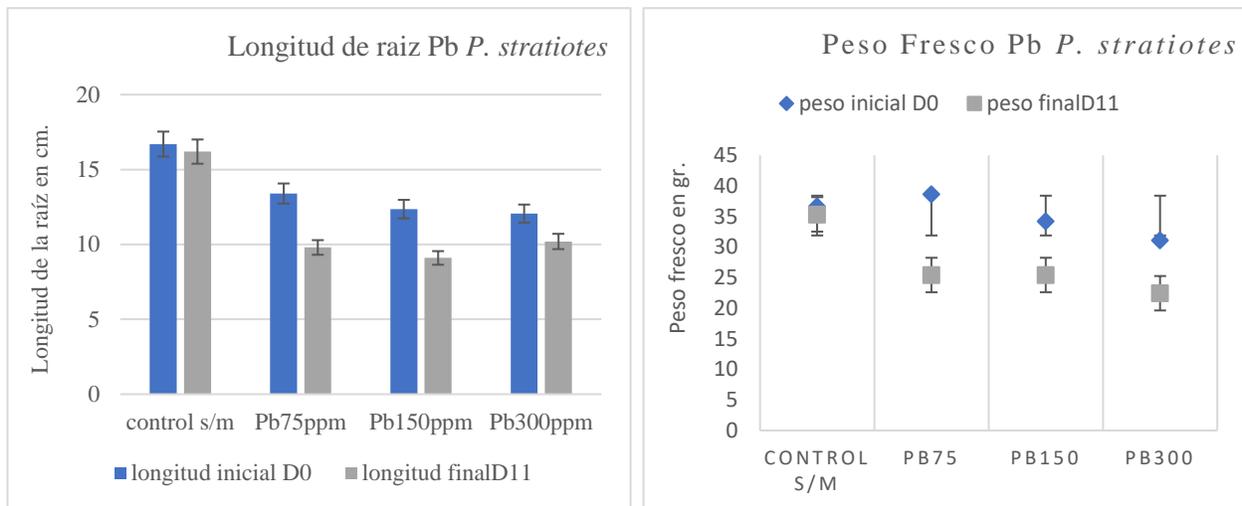
### **Remoción de Cd<sup>+2</sup> y Pb<sup>+2</sup> por *P. stratiotes* y *Salvinia spp.* en sistemas batch con SNT como medio de cultivo**

Previo a al montaje del Humedal de flujo superficial, *Pistia stratiotes* se expuso en sistemas batch con plantas individuales a diferentes concentraciones de Pb<sup>+2</sup> (75, 150 y 300 ppm), y *Salvinia spp.* se evaluó contra Cadmio 0.75, 1.5 y 3.0 mg/L durante un periodo de 12 días, esto ya que de acuerdo con Ugya et al., (2015) con la finalidad de garantizar que la planta tenga una eficiencia en la fitorremediación el tiempo de exposición ideal para *P. stratiotes* y *Salvinia spp.* no debería superar los 12 días. De forma inicial y al final del ensayo se midió la longitud y se registró el peso fresco, para la clorofila se intercalo el día 0, 4 y el 11, para registrar los cambios de la planta durante el ensayo tomando estos valores como un indicador de estrés. De acuerdo con lo obtenido el daño a la planta por Pb<sup>+2</sup> se observó en los primeros 3 días para 300mg/L, al 6to día para 150mg/L y hasta el 8avo día en el grupo de 75mg/L lo cual es el síntoma más común de intoxicación con este metal, así como la reducción del tamaño de las hojas las cuales se tornaron amarillentas y grisáceas además de mostrar sequedad evidente, los cuales son los síntomas que manifiestan una toxicidad como respuesta a la exposición a metales(Vesely et al., 2011). Las plantas utilizadas como control no mostraron cambios en su morfología y permanecieron sanas. La principal remoción se llevó a cabo en las primeras 48 horas, con una remoción final del 86% para 75mg/L de Pb, 75.82% para 150mg/L de Pb y 75.71% para 300mg/L de Pb, no observándose diferencia significativa entre el porcentaje de remoción final de los grupos 150mg/L y 300mg/L, sin embargo el grupo 150mg/L mostró un descenso en la concentración mayor al de 300mg/L a través del tiempo solo subiendo al final muy probablemente debido a mecanismos de desorción del metal por muerte de la planta. Estos resultados coinciden con lo reportado por diversos autores(Suñe et al., 2007; Ugya et al., 2015; Victor et al., 2016; Olkhovych et al., 2022), utilizando medio Knop y Hoagland al 10% donde se obtuvieron porcentajes de remoción finales de hasta un 92% en sistemas batch con más de una planta por sistema.



**FIG. 24: CINÉTICA DE REMOCIÓN DE Pb+2 POR P. STRATIOTES 5500 LUXES, FOTOPERÍODO 24/24 LUZ, 3 GRUPOS DE TRABAJO: 75PPM, 150PPM, 300 PPM, N=5**

Ahora sobre el efecto del plomo sobre el peso fresco de la planta a las diferentes concentraciones y la longitud de la raíz se expresan en las fig. 24 donde se puede verificar que para el control no se registró un cambio para la longitud de la raíz, contrario a lo que se observa para las 3 diferentes concentración de plomo donde a pesar de la disminución radicular (hasta 4 cm de la longitud inicial), la planta siguió removiendo el metal, esto ya que *Pistia stratiotes*, muestra como pocas plantas su capacidad de acumular metales pesados como el plomo, hasta ciertos límites, sin alterar su metabolismo de manera letal para su supervivencia (Espinoza-Quiñones et al., 2009a; Y. Li et al., 2013; Singha et al., 2019; Veselý et al., 2012).



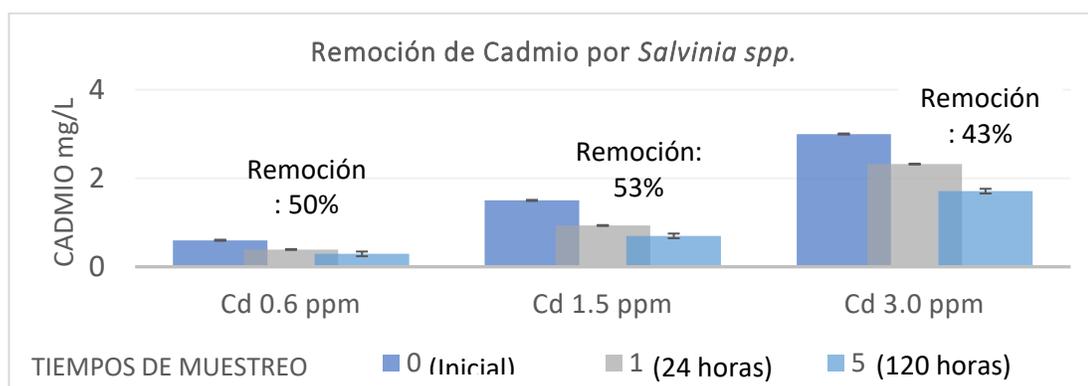
**FIG. 25: LONGITUD DE RAÍZ Y PESO FRESCO DE *P. STRATIOTES* ANTE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE Pb+2 FOTOPERÍODO 24/24 LUZ, 3 GRUPOS DE TRABAJO: 75PPM, 150PPM, 300 PPM, N=5**

El mantenimiento de la longitud de la raíz principal, puede deberse a que los estomas empiezan a cerrarse como respuesta al daño por Pb, provocando el descenso en la concentración de clorofila en las hojas externas de la planta, ya que las raíces menores que se encuentran en las partes externas, dejan de absorber nutrientes exhibiendo el comportamiento que se mencionó anteriormente. Los resultados obtenidos después de 12 días de *P. stratiotes* en contacto con Pb demostró que en las primeras 24h se observó la mayor diferencia de remoción de este metal del medio con una concentración en el efluente de 25.38ppm para 75ppm, 64.33ppm para 150ppm y a la concentración más alta 300ppm de redujo hasta 85.67 ppm esto concuerda con lo descrito por Espinoza-Quiñones et al., (2009b); Joko et al., (2009).; Prod et al., (2012) donde mencionan que *P. stratioides* logra altas concentraciones de remoción de metales en las primeras 24h.

*Salvinia auriculata* ha sido ampliamente estudiada por su capacidad de bioacumulación, sin embargo, la variedad de resultados y condiciones de trabajo deja aún mucho campo de investigación para seguir evaluando su verdadero potencial. Suñe et al., (2007) menciona en su trabajo con *P. stratiotes* y *Salvinia herzogii* para remoción de Cd y Cr dos etapas en las cuales son removidos los metales, una rápida, por adsorción física, quelación e intercambio iónico, y la lenta la cual se debe a la precipitación mediada por las raíces, toma intracelular y procesos biológicos. En el caso de *Salvinia herzogii* la etapa rápida de toma de cadmio se vio limitada debido a la superficie total por lo que la etapa lenta es más

esencial a concentraciones mayores, donde reportan un 56% de remoción para la concentración de cadmio en 6 mg/l en un tratamiento de 31 días, siendo en nuestro caso un tratamiento de 5 días alcanzando 57% de remoción para la concentración de 3.0 mg/l durante 5 días. La concentración del metal es un factor crucial en el comportamiento de la planta y los mecanismos de acción empleados por la misma para empezar el proceso de detoxificación, ya sea como acumuladora o excluyente, así mismo menciona el que la toma de metal en tejidos dependerá de la especie seleccionada y del tipo de metal a tratar.

En este estudio pudo observarse el comportamiento de *Salvinia spp.* frente a  $Cd^{+2}$  cuya eficiencia en la remoción con 2g de planta (peso fresco) en 400ml de solución metálica y SNT como medio nutritivo Fig. 26.

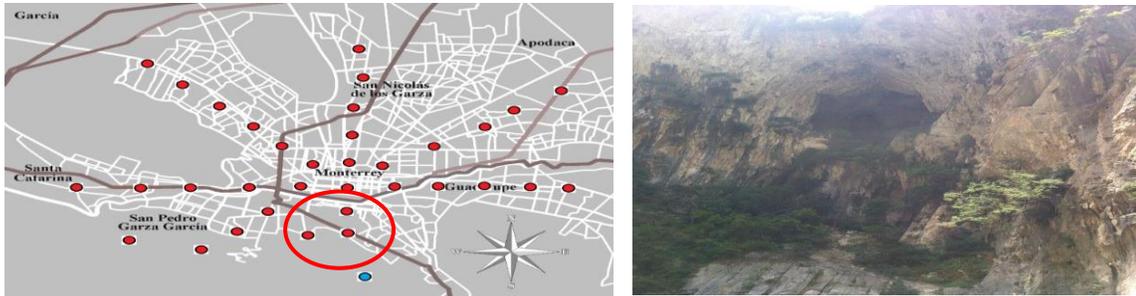


**FIG. 26: REMOCIÓN DE CADMIO POR *SALVINIA spp.*, 2G (PESO FRESCO) EN UN VOLUMEN TOTAL DE 400ML DURANTE 5 DÍAS CON SNT COMO MEDIO NUTRITIVO DE MANTENIMIENTO, 5000 LUXES DE ILUMINACIÓN, FOTOPERIODO 24H**

**Remoción de  $Cd^{+2}$  y  $Pb^{+2}$  de un efluente contaminado por *P. stratiotes* y *Salvinia spp.* en un humedal superficial con SNT como medio nutritivo.**

Como resultado de la revisión de sitios contaminados y el análisis de los metales pesados presentes en el polvo de calle, se hicieron dos colectas de efluentes contaminados, el primero en la zona sur coincidiendo con los hallazgos de los metales pesados encontrados en el polvo de calle donde la zona sur mostró un incremento de  $Cd^{+2}$  en particular por lo que se decidió explorar esta zona, y la segunda colecta donde se tomó agua contaminada de un accidente ambiental ocurrido durante octubre 2017 y que fue el efluente elegido finalmente para llevar a cabo la remoción de metales mediante el humedal artificial.

Cerca del área donde se encontró mayor concentración de Cd se encuentra el río Elizondo, el cual fluye muy cerca de un tiro de mina abandonada desde hace 30 años. Al acercarnos al área se observa coloración rojiza probablemente derivada de la actividad minera de antaño en los sedimentos de los diversos riachuelos que se desprenden del río, así como pequeños insectos muertos donde predomina la especie *Illacmes plenipes*, así como la ausencia de vida en las cercanías de esta cerca del tiro de la mina (fig. 27)



**FIG. 27: IZQUIERDA: MAPA DE MUESTREO CON LA ZONA A EXPLORAR POR EL HALLAZGO DE CONCENTRACIONES ALTAS DE CADMIO A PESAR DE NO SER ZONA DE ACTIVIDAD INDUSTRIAL. DERECHA: TIRO DE LA MINA CERCANA AL RÍO ELIZONDO**

Se tomaron muestras de agua y sedimentos, e incluso de los organismos encontrados en los sitios pero no se encontraron cantidades significativas de Pb ni Cd disuelto y biodisponible, sin embargo fue en sedimentos donde sí se encontró una gran cantidad de Pb y Cd (tabla 10), lo que puede deberse a la composición particular del sitio donde las dinámicas de sedimentación y precipitación debido a la composición del lecho pueden volverlo un reservorio natural de los contaminantes que existen en la zona, provocando eventualmente con los cambios de pH y temperatura derivados del cambio de estación y fenómenos meteorológicos, que estos vuelvan a estar biodisponibles y causen estragos en las poblaciones de seres vivos del sitio (fig. 28).



**FIG. 28: IZQUIERDA: HALLAZGOS DE CARAMUELAS (*ILLACMES PLENIPES*) MUERTAS EN LAS MÁRGENES DEL RIACHUELO DERECHA: RIACHUELO SIN PRESENCIA APARENTE DE ORGANISMOS VIVOS, CON SEDIMENTOS ROJIZOS PROBABLEMENTE PRODUCTO DE LA ACTIVIDAD MINERA DE ANTAÑO**

**TABLA 10: HALLAZGOS EN SITIO IMPACTADO DE ZONA SUR DE LA ZMM**

**Concentración de Pb<sup>+2</sup> y Cd<sup>+2</sup> (mg kg<sup>-1</sup>) en muestras de suelo y sedimento colectadas**

Clave	Pb	Cd	Profundidad	Detalle de la muestra
Mina 1	26.86 ± 4.3	8.06 ± 0.5	5-8 cm	Parte inferior excavación
Mina 2	34.67 ± 6.4	1.67 ± 0.4	5 cm	Parte media de excavación
Mina 3	184.15 ± 14.2	16.53 ± 2.9	5-8 cm	Parte interior y superior de la excavación
Sed 1	411.05 ± 34.9	20.60 ± 0.9	Superficial	Sedimento arroyo
Sed 3	650.53 ± 20.9	19.5 ± 2.7	Superficial	Sedimento arroyo
Sed 4	42.89 ± 7.55	2.07 ± 0.4	Superficial	Sedimento arroyo
Sed 5	434.99 ± 35.5	10.73 ± 1.6	Superficial	Sedimento arroyo
Sed 7	136.15 ± 6.25	12.99 ± 0.23	Superficial	Sedimento arroyo

Muestra	Cadmio (ppm)	Plomo (ppm)
Efluente 1	ND	(LD)1.48
Efluente 2	ND	(LD)1.48
Efluente 3	ND	(LD)1.34
Efluente 4	ND	(LD)1.48
Efluente 5	ND	(LD)1.48
Efluente 6	ND	(LD)1.48
Efluente 7	ND	(LD)1.48
r <sup>2</sup>	0.9987	0.9989

Los sedimentos fueron colectados y almacenados para su posterior estudio como potenciales reservorios de consorcios microbianos capaces de tolerar y precipitar metales pesados para futuras investigaciones.

Durante el transcurso de la investigación sucedió un accidente ambiental provocado por una empresa particular de almacenamiento de aceites en el municipio de Guadalupe Nuevo León durante la noche del 21 de octubre del 2017, producto de un incendio en una empresa aceitera. Producto del incendio una gran cantidad de aceite quemado contaminó el río la silla llegando hasta el río santa Catarina, extendiéndose el daño por más de 5 km, por lo que se decidió coleccionar la mayor cantidad de efluente posible lo más cercano al sitio del siniestro (fig. 29).



**FIG. 29: DERRAME DE DESHECHOS DE COMBUSTION Y ACEITES AL RIO LA SILLA**

Se tomaron 36 L de este efluente contaminado para analizar su contenido principalmente de Cd y Pb además de otros contaminantes generales del agua y se alimentó con ella el humedal superficial, sin embargo al ser un efluente altamente contaminado con una carga orgánica y presencia de aceites y combustibles, se vio en la necesidad de recircular el efluente con 100L de SNT 1:10 y mantener en circulación el volumen total (136L) durante 48 horas para posteriormente incorporar las especies vegetales en el humedal superficial. Se analizó el contenido de diferentes contaminantes (tabla 11), al inicio y al final del tratamiento (4 días) y se compararon contra los valores permitidos por la NOM-001-SEMARNAT-2021 Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.

**TABLA 11: ANÁLISIS DEL EFLUENTE A TRATAR, SEDIMENTO DE SITIO Y LOS VALORES FINALES DESPUÉS DEL TRATAMIENTO COMPARADO CON LA NOM-001-SEMARNAT-2021 (VALOR INSTANTÁNEO EN RÍOS, ARROYOS, CANALES Y DRENES).**

<b>Descripción</b>	<b>Efluente</b>	<b>Sedimento</b>	<b>Valores Finales</b>	<b>NOM-001-SEMARNAT-2021</b>
Pb ppm	4.2	205.0	0.1	0.4
Cd ppm	0.3	4.0	ND	0.4
DQO	347 mgO <sub>2</sub> /L	NA	58mgO <sub>2</sub> /L	210 mgO <sub>2</sub> /L
DBO	185mg/L	NA	89mg/L	NA
Conductividad	603μS	NA	390μS	NA
pH	6.2	NA	5.9	6.0 – 9.0
Salinidad (%)	0.3	NA	0.3	NA
Solidos suspendidos totales	287mg/L	NA	65 mg/L	84 mg/L

El sedimento que se encontraba junto con el efluente en el sitio de la colecta también fue analizado para determinar la concentración de Pb y Cd presente, ya que el efluente colectado tenía revuelto gran parte de lodos y nata producto del derrame del aceite gastado que se almacenaba en la empresa siniestrada, el cual no se retiró ni se filtró del efluente, se alimentó directamente dentro del humedal.

Todos los parámetros finales del efluente tratado en el humedal estuvieron dentro de los límites establecidos de la NOM-001-SEMARNAT-2021. Al final del estudio el efluente redujo su volumen a 365g de material vegetal (Peso fresco), 232g de sedimento total retirado del humedal (peso fresco) y un volumen de 126L de efluente tratado con las características anteriormente descritas en la tabla 11.

El comportamiento del humedal artificial adaptado en este estudio siguió un comportamiento similar al mostrado por autores (Abou-Elela et al., 2013; Dunbabin & Bowmer, 1992; Kataki et al., 2021; Stottmeister et al., 2006).

## CONCLUSIONES

El índice de riesgo ecológico calculado para la Zona Metropolitana de Monterrey debido a la presencia de metales pesados (Pb, Cd, Zn) indica un potencial riesgo a la salud para los ciudadanos del área, en específico por la alta cantidad de Pb presente en zonas de alto tráfico de peatones. Durante el estudio de este índice las alertas sobre calidad del aire estaban en promedio en 5 alertas anuales, mientras que actualmente (2023) estas se han duplicado por lo que el índice de riesgo ecológico es muy probable marque condiciones de contaminación superiores a las descritas en este trabajo.

*P. stratiotes* y *Salvinia spp.* pueden ser adaptadas en humedales superficiales con medios de bajo costo como la turba diluida, por sus características y mecanismos de defensa ante la presencia de metales pesados.

*Pistia stratiotes* muestra cambios morfológicos y estructurales que son diferenciados y específicos para cada contaminante, la producción de suberina y derivados de lignina son especialmente evidentes y rápidos en su formación lo que puede ser la clave para la supervivencia de la planta a altas dosis de contaminantes.

La remoción de metales pesados en un tiempo relativamente corto de tratamiento (4 días) es posible incluso en presencia de derivados fenólicos y de petróleo, el efluente tratado producto de un incendio de una bodega de aceites fue bien tolerado y mejoradas sus características para situarse dentro de la norma.

## PERSPECTIVAS

La continuidad de los monitoreos a la calidad del aire y los estudios de elementos contaminantes son importantes a través del tiempo para la toma de decisiones en el crecimiento y bienestar de la población, un nuevo estudio en las condiciones actuales del estado (sequía severa y alertas ambientales por PM 2.5 por encima del promedio anual) es importante para explicar y determinar acciones concretas y urgentes ante las enfermedades que empezarán a multiplicarse en la población debido a estos contaminantes.

El estudio de los diferentes tipos de compuestos generados ante diferentes contaminantes en *P. stratiotes* fue motivo para la apertura de una nueva línea de investigación en el departamento de fisiología vegetal de la Universidad Comenius en Bratislava, donde se llevan a cabo estudios con diferentes metales y medición de la respuesta ante estos, por lo que la perspectiva es probar una serie de contaminantes de interés y poder elucidar los mecanismos de acción específicos para cada uno de ellos.

El tratamiento de efluentes a través de humedales superficiales aún tiene muchos puntos de optimización que requieren ser evaluados para ser una herramienta de elección frente a los tratamientos convencionales de efluentes contaminados, sobre todo los derivados de accidentes o siniestros como en el caso de este estudio, en específico para el uso de las macrófitas, al ser especies invasoras debe verificarse también un método de control biológico para no generar un daño en el ecosistema a intervenir o en su defecto enfocarlo solo a tratamientos ex situ.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abdolali, A., Ngo, H. H., Guo, W., Lu, S., Chen, S. S., Nguyen, N. C., Zhang, X., Wang, J., & Wu, Y. (2016). A breakthrough biosorbent in removing heavy metals: Equilibrium, kinetic, thermodynamic and mechanism analyses in a lab-scale study. *Science of the Total Environment*, 542(ii), 603–611. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.095>
- Abou-Elela, S. I., Golinielli, G., Abou-Taleb, E. M., & Hellal, M. S. (2013). Municipal wastewater treatment in horizontal and vertical flows constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 61, 460–468. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.10.010>
- Acosta, J. A., Gabarrón, M., Faz, A., Martínez-Martínez, S., Zornoza, R., & Arocena, J. M. (2015). Influence of population density on the concentration and speciation of metals in the soil and street dust from urban areas. *Chemosphere*, 134, 328–337. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.04.038>
- Agami, M., & Reddy, K. R. (1990). Competition for space between *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms and *Pistia stratiotes* L. cultured in nutrient-enriched water. *Aquatic Botany*, 38(2–3), 195–208. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(90\)90005-6](https://doi.org/10.1016/0304-3770(90)90005-6)
- Alcázar-Medina, F. A., Núñez-Núñez, C. M., Villanueva-Fierro, I., Antileo, C., & Proal-Nájera, J. B. (2020). Removal of heavy metals present in groundwater from a northern Mexico mining community using *Agave tequilana* Weber extracts. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 19(3), 1187–1199. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio1047>
- Al-Khashman, O. A. (2013). Assessment of heavy metals contamination in deposited street dusts in different urbanized areas in the city of Ma'an, Jordan. *Environmental Earth Sciences*, 70(6), 2603–2612. <https://doi.org/10.1007/s12665-013-2310-6>
- Amato, F., Alastuey, A., De La Rosa, J., Sánchez De La Campa, A. M., Pandolfi, M., Lozano, A., Contreras González, J., & Querol, X. (2014). Trends of road dust emissions contributions on ambient air particulate levels at rural, urban and industrial sites in southern Spain. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 14(7), 3533–3544. <https://doi.org/10.5194/acp-14-3533-2014>
- Amato, F., Pandolfi, M., Moreno, T., Furger, M., Pey, J., Alastuey, A., Bukowiecki, N., Prevot, A. S. H., Baltensperger, U., & Querol, X. (2011). Sources and variability of inhalable road dust particles in three European cities. *Atmospheric Environment*, 45(37), 6777–6787. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2011.06.003>
- Ansari, A. A., Naeem, M., Gill, S. S., & AlZuaibr, F. M. (2020). Phytoremediation of contaminated waters: An eco-friendly technology based on aquatic macrophytes application. In *Egyptian Journal of Aquatic Research* (Vol. 46, Issue 4, pp. 371–376). National Institute of Oceanography and Fisheries. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.03.002>
- Association, American Public Health, American Water Works Association, W. E. Federation. (2005). *APHA- AWWA- WEF Standard Methods for the Examination of water and Wastewater*.

- Atiemo, M. S., Ofosu, G. F., Tutu, a O., Palm, N. D. M. L., & Blankson, S. A. (2011). Contamination Assessment of Heavy Metals in Road Dust from Selected Roads in Accra, Ghana. *Research Journal of Environmental and Earth Sciences*, 3(5), 473–480.
- ATSDR. (2007). Toxic Guide for Lead. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, 1–2.
- Barajas-herrera, J. M. A. D. I. (2008). *Caracterización Quimiométrica del Material Particulado Suspendido en Zonas Impactadas en el Área Metropolitana de Monterrey*. 4(2), 60–67.
- Batty, L. C., Baker, A. J. M., & Wheeler, B. D. (2006). *THE EFFECT OF VEGETATION ON POREWATER COMPOSITION IN A NATURAL WETLAND RECEIVING ACID MINE DRAINAGE THE EFFECT OF VEGETATION ON POREWATER COMPOSITION IN A*. 26(1), 40–48.
- Blanco-Jiménez S., Altúzar F., Jiménez B., Aguilar G., P. M. y B. M. A. I. N. de E. y C., & Pp., (INECC). México. 34. (2015). *Evaluación de Partículas PM, Suspendidas Climático, 2.5 en el Área Metropolitana de Monterrey*. (Vol. 52, Issue 5000).
- Cao, S., Duan, X., Zhao, X., Ma, J., Dong, T., Huang, N., Sun, C., He, B., & Wei, F. (2014). Health risks from the exposure of children to As, Se, Pb and other heavy metals near the largest coking plant in China. *Science of the Total Environment*, 472, 1001–1009. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.124>
- Comisión Nacional del Agua. (2015). 2015 lluvias CONAGUA.pdf. In *Precipitación a nivel nacional y por entidad federativa*.
- Davis, B., & Birch, G. (2010). Comparison of heavy metal loads in stormwater runoff from major and minor urban roads using pollutant yield rating curves. *Environmental Pollution*, 158(8), 2541–2545. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.05.021>
- De Miguel, E., Llamas, J. F., Chacón, E., Berg, T., Larssen, S., Røyset, O., & Vadset, M. (1997). Origin and patterns of distribution of trace elements in street dust: Unleaded petrol and urban lead. *Atmospheric Environment*, 31(17), 2733–2740. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(97\)00101-5](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(97)00101-5)
- Dowdy, D. L., & McKone, T. E. (1997). Predicting plant uptake of organic chemicals from soil or air using octanol/soil and octanol/air partition ratios and molecular connectivity index. *Environ.Toxicol.Chem.*, 16(12)(12), 2448. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(1997\)016<2448:ppuoc>2.3.co;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(1997)016<2448:ppuoc>2.3.co;2)
- Dunbabin, J. S., & Bowmer, K. H. (1992). Potential use of constructed wetlands for treatment of industrial wastewaters containing metals. *Science of the Total Environment*, The, 111(2–3), 151–168. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(92\)90353-T](https://doi.org/10.1016/0048-9697(92)90353-T)
- Elom, N. I., Entwistle, J., & Dean, J. R. (2014). Human health risk from Pb in urban street dust in northern UK cities. *Environmental Chemistry Letters*, 12(1), 209–218. <https://doi.org/10.1007/s10311-013-0436-0>
- ENSANUT 2018. (n.d.). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 Presentación de resultados*.

- Espinoza-Quiñones, F. R., Módenes, A. N., Costa, I. L., Palácio, S. M., Szymanski, N., Trigueros, D. E. G., Kroumov, A. D., & Silva, E. A. (2009a). Kinetics of Lead Bioaccumulation from a Hydroponic Medium by Aquatic Macrophytes *Pistia stratiotes*. *Water, Air, and Soil Pollution*, 203(1–4), 29–37. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-9989-8>
- Espinoza-Quiñones, F. R., Módenes, A. N., Costa, I. L., Palácio, S. M., Szymanski, N., Trigueros, D. E. G., Kroumov, A. D., & Silva, E. A. (2009b). Kinetics of Lead Bioaccumulation from a Hydroponic Medium by Aquatic Macrophytes *Pistia stratiotes*. *Water, Air, and Soil Pollution*, 203(1–4), 29–37. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-9989-8>
- Fadigas, F. D. S., Sobrinho, N. M. B. D. A., Mazur, N., Anjos, L. H. C. Dos, & Freixo, A. a. (2006). Proposição de valores de referência para a concentração natural de metais pesados em solos brasileiros. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 10(3), 699–705. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662006000300024>
- Ghanavati, N., Nazarpour, A., & De Vivo, B. (2019). Ecological and human health risk assessment of toxic metals in street dusts and surface soils in Ahvaz, Iran. *Environmental Geochemistry and Health*, 41(2), 875–891. <https://doi.org/10.1007/s10653-018-0184-y>
- Gill, L. W., Ring, P., Higgins, N. M. P., & Johnston, P. M. (2014). Accumulation of heavy metals in a constructed wetland treating road runoff. *Ecological Engineering*, 70, 133–139. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.03.056>
- Gobierno Municipal de Monterrey. (2013). *Plan de Desarrollo Urbano del Municipio de Monterrey 2013-2025*.
- Gomes, M. V. T., de Souza, R. R., Teles, V. S., & Araújo Mendes, É. (2014). Phytoremediation of water contaminated with mercury using *Typha domingensis* in constructed wetland. *Chemosphere*, 103, 228–233. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.071>
- Gulia, S., Goyal, P., Goyal, S. K., & Kumar, R. (2019). Re-suspension of road dust: contribution, assessment and control through dust suppressants—a review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(3), 1717–1728. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2001-7>
- Gunawardana, C., Goonetilleke, A., Egodawatta, P., Dawes, L., & Kokot, S. (2012). Source characterisation of road dust based on chemical and mineralogical composition. *Chemosphere*, 87(2), 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.012>
- Hakanson, L. (1980). An ecological risk index for aquatic pollution control. A sedimentological approach. *Water Research*, 14(8), 975–1001. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(80\)90143-8](https://doi.org/10.1016/0043-1354(80)90143-8)
- Hasaballah, A. F., Hegazy, T. A., & Elemam, D. A. (2023). Performance evaluation of *Pistia stratiotes* and *Lemna minor* for wastewater phytoremediation: optimum conditions for pilot-scale. *International Journal of Environmental Science and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s13762-023-05001-9>

- Hauser, M.-T., Lux, A., Vaculík, M., Martinka, M., White, P. J., & Kohanová, J. (2017). Root hair abundance impacts cadmium accumulation in *Arabidopsis thaliana* shoots. *Annals of Botany, February*, 1–12. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx220>
- Hoagland D., A. D. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station*, 347 1-32. <https://doi.org/citeulike-article-id:9455435>
- Hwang, H.-M., Fiala, M. J., Park, D., & Wade, T. L. (2016). Review of pollutants in urban road dust and stormwater runoff: part 1. Heavy metals released from vehicles. *International Journal of Urban Sciences*, 5934(August), 1–27. <https://doi.org/10.1080/12265934.2016.1193041>
- INEGI. (2020). *Anuario Estadístico y Geográfico de Nuevo León 2020*.
- Jampeetong, A., Brix, H., & Kantawanichkul, S. (2012). Effects of inorganic nitrogen forms on growth, morphology, nitrogen uptake capacity and nutrient allocation of four tropical aquatic macrophytes (*Salvinia cucullata*, *Ipomoea aquatica*, *Cyperus involucreatus* and *Vetiveria zizanioides*). *Aquatic Botany*, 97(1), 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2011.10.004>
- Joko, T., Dangiran, H. L., Astorina, N., & Dewanti, Y. (n.d.). The Effectiveness of Plant *Pistia Stratiotes* Weight to Reduction of Heavy Metal Content Chromium (Cr) Waste at Batik Home Industry in Regency of Pekalongan. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, 4531, 45–54. <http://gsrr.org/index.php?journal=JournalOfBasicAndApplied>
- Kalmykova, Y., Strömvall, A. M., & Steenari, B. M. (2008). Adsorption of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn on Sphagnum peat from solutions with low metal concentrations. *Journal of Hazardous Materials*, 152(2), 885–891. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.062>
- Karanasiou, A., Amato, F., Moreno, T., Lumbreras, J., Borge, R., Linares, C., Boldo, E., Alastuey, A., & Querol, X. (2014). Road dust emission sources and assessment of street washing effect. *Aerosol and Air Quality Research*, 14(3), 734–743. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2013.03.0074>
- Kataki, S., Chatterjee, S., Vairale, M. G., Dwivedi, S. K., & Gupta, D. K. (2021). Constructed wetland, an eco-technology for wastewater treatment: A review on types of wastewater treated and components of the technology (macrophyte, biofilm and substrate). *Journal of Environmental Management*, 283. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.111986>
- Keshavarzi, B., Tazarvi, Z., Rajabzadeh, M. A., & Najmeddin, A. (2015). Chemical speciation, human health risk assessment and pollution level of selected heavy metals in urban street dust of Shiraz, Iran. In *Atmospheric Environment* (Vol. 119). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.08.001>
- Kováč, J., Lux, A., & Vaculík, M. (2018). Formation of a subero-lignified apical deposit in root tip of radish (*Raphanus sativus*) as a response to copper stress. *Annals of Botany*, 122(5), 823–831. <https://doi.org/10.1093/aob/mcy013>

- Kumar, M., Furumai, H., Kurisu, F., & Kasuga, I. (2013). Tracing source and distribution of heavy metals in road dust, soil and soakaway sediment through speciation and isotopic fingerprinting. *Geoderma*, 211–212, 8–17. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.07.004>
- Kumar, V., Singh, J., & Chopra, A. K. (2018). Assessment of plant growth attributes, bioaccumulation, enrichment, and translocation of heavy metals in water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) grown in sugar mill effluent. *International Journal of Phytoremediation*, 20(5), 507–521. <https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1393391>
- Kumari, S., Kumar, B., & Sheel, R. (2016). Bioremediation of Heavy Metals by Serious Aquatic Weed, *Salvinia*. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences Journal Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 5(59), 355–368. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.509.039>
- Kurt-Karakus, P. B. (2012). Determination of heavy metals in indoor dust from Istanbul, Turkey: Estimation of the health risk. *Environment International*, 50, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.09.011>
- Laidlaw, M. A. S., & Taylor, M. P. (2011). Potential for childhood lead poisoning in the inner cities of Australia due to exposure to lead in soil dust. *Environmental Pollution*, 159(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.08.020>
- Lamas, G. A., Ujueta, F., & Navas-Acien, A. (2021). Lead and cadmium as cardiovascular risk factors: The burden of proof has been met. *Journal of the American Heart Association*, 10(10). <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.018692>
- Ledesma-Carrión, D. E. (n.d.). *REALIDAD, DATOS Y ESPACIO REVISTA INTERNACIONAL DE ESTADÍSTICA Y GEOGRAFÍA*.
- Levresse, G., Lopez, G., Tritlla, J., López, E. C., Chavez, A. C., Salvador, E. M., Soler, A., Corbella, M., Sandoval, L. G. H., & Corona-Esquivel, R. (2012). Phytoavailability of antimony and heavy metals in arid regions: the case of the Wadley Sb district (San Luis, Potosí, Mexico). *The Science of the Total Environment*, 427–428, 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.020>
- Li, F., Huang, J., Zeng, G., Huang, X., Liu, W., Wu, H., Yuan, Y., He, X., & Lai, M. (2015). Spatial distribution and health risk assessment of toxic metals associated with receptor population density in street dust: A case study of Xiandao District, Changsha, Middle China. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(9), 6732–6742. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3753-3>
- Li, H., Qian, X., Hu, W., Wang, Y., & Gao, H. (2013). Chemical speciation and human health risk of trace metals in urban street dusts from a metropolitan city, Nanjing, SE China. *Science of the Total Environment*, 456–457. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.03.094>
- Li, Y., Zhang, S., Jiang, W., & Liu, D. (2013). Cadmium accumulation, activities of antioxidant enzymes, and malondialdehyde (MDA) content in *Pistia stratiotes* L. *Environmental*

- Science and Pollution Research*, 20(2), 1117–1123. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1054-2>
- Li, Z., Feng, X., Li, G., Bi, X., Zhu, J., Qin, H., Dai, Z., Liu, J., Li, Q., & Sun, G. (2013). Distributions, sources and pollution status of 17 trace metal/metalloids in the street dust of a heavily industrialized city of central China. *Environmental Pollution*, 182, 408–416. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.07.041>
- Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and Carotenoids : Measurement and Characterization by UV-VIS. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, F4.3.1-F4.(Supplement 1), 1–8. <https://doi.org/10.1002/0471142913>
- Liu, E., Yan, T., Birch, G., & Zhu, Y. (2014). Pollution and health risk of potentially toxic metals in urban road dust in Nanjing, a mega-city of China. *Science of the Total Environment*, 476–477, 522–531. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.01.055>
- López-Chuken, U. J., & Young, S. D. (2010). Modelling sulphate-enhanced cadmium uptake by *Zea mays* from nutrient solution under conditions of constant free Cd<sup>2+</sup>-ion activity. *Journal of Environmental Sciences*, 22(7), 1080–1085. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(09\)60220-5](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(09)60220-5)
- Lux, A., Lackovič, A., Van Staden, J., Lišková, D., Kohanová, J., & Martinka, M. (2015). Cadmium translocation by contractile roots differs from that in regular, non-contractile roots. *Annals of Botany*, 115(7), 1149–1154. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv051>
- Lux, A., Martinka, M., Vaculík, M., & White, P. J. (2011). Root responses to cadmium in the rhizosphere: A review. *Journal of Experimental Botany*, 62(1), 21–37. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq281>
- Lux Alexander, Vaculík Marek, Kováč Jan. (2015). Plant microtechniques and protocols. *Plant Microtechniques and Protocols*, 1–572. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-19944-3>
- Mancilla, Y., & Mendoza, A. (2012). A tunnel study to characterize PM<sub>2.5</sub> emissions from gasoline-powered vehicles in Monterrey, Mexico. *Atmospheric Environment*, 59, 449–460. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.05.025>
- Márquez-Reyes, J. M., López-Chuken, U. J., Valdez-González, A., & Luna-Olvera, H. A. (2013). Removal of chromium and lead by a sulfate-reducing consortium using peat moss as carbon source. *Bioresource Technology*, 144, 128–134. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.067>
- Martínez, L. L. G., & Poleto, C. (2014). Assessment of diffuse pollution associated with metals in urban sediments using the geoaccumulation index (Igeo). *Journal of Soils and Sediments*, 14(7), 1251–1257. <https://doi.org/10.1007/s11368-014-0871-y>
- Meza-Figueroa, D., De la O-Villanueva, M., & De la Parra, M. L. (2007). Heavy metal distribution in dust from elementary schools in Hermosillo, Sonora, México. *Atmospheric Environment*, 41(2), 276–288. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2006.08.034>

- Molina-Villalba, I., Lacasaña, M., Rodríguez-Barranco, M., Hernández, A. F., Gonzalez-Alzaga, B., Aguilar-Garduño, C., & Gil, F. (2015). Biomonitoring of arsenic, cadmium, lead, manganese and mercury in urine and hair of children living near mining and industrial areas. *Chemosphere*, *124*, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.016>
- Müller, G. (1969). Index of geoaccumulation in sediments of the Rhine River. *GeoJournal*, 108–118.
- Navarrete-Rodríguez, G., Castañeda-Chávez, M. D. R., & Lango-Reynoso, F. (2020). Geoaccumulation of heavy metals in sediment of the fluvial–lagoon–deltaic system of the palizada river, Campeche, Mexico. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(3). <https://doi.org/10.3390/ijerph17030969>
- NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. (2007). NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. *Diario Oficial de La Federación*, *2da Edición*, 69. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/147ssa16.html>
- Okorie, A., Entwistle, J., & Dean, J. R. (2012). Estimation of daily intake of potentially toxic elements from urban street dust and the role of oral bioaccessibility testing. *Chemosphere*, *86*(5), 460–467. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.09.047>
- Olguín, E. J., Hernández, E., & Ramos, I. (2002). The effect of both different light conditions and the pH value on the capacity of *Salvinia minima* BAKER for removing cadmium, lead and chromium. *Acta Biotechnologica*, *22*(1–2), 121–131. [https://doi.org/10.1002/1521-3846\(200205\)22:1/2<121::AID-ABIO121>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/1521-3846(200205)22:1/2<121::AID-ABIO121>3.0.CO;2-F)
- Olguín, E. J., Sánchez-Galván, G., Pérez-Pérez, T., & Pérez-Orozco, A. (2005). Surface adsorption, intracellular accumulation and compartmentalization of Pb(II) in batch-operated lagoons with *Salvinia minima* as affected by environmental conditions, EDTA and nutrients. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *32*(11–12), 577–586. <https://doi.org/10.1007/s10295-005-0250-1>
- Orta-García, S. T., Ochoa-Martinez, A. C., Carrizalez-Yáñez, L., Varela-Silva, J. A., Pérez-Vázquez, F. J., Pruneda-Álvarez, L. G., Torres-Dosal, A., Guzmán-Mar, J. L., & Pérez-Maldonado, I. N. (2016). Persistent Organic Pollutants and Heavy Metal Concentrations in Soil from the Metropolitan Area of Monterrey, Nuevo Leon, Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *70*(3), 452–463. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0239-3>
- Pant, P., & Harrison, R. M. (2013). Estimation of the contribution of road traffic emissions to particulate matter concentrations from field measurements: A review. *Atmospheric Environment*, *77*, 78–97. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.04.028>
- Pereira, P., Gimeñez-Morera, a., Novara, a., Keesstra, S., Jordán, a., Mastro, R. E., Brevik, E., Azorin-Molina, C., & Cerdà, a. (2015). The impact of road and railway embankments on

- runoff and soil erosion in eastern Spain. *Hydrology and Earth System Sciences Discussions*, 12(12), 12947–12985. <https://doi.org/10.5194/hessd-12-12947-2015>
- Phetsombat, S., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., & Upatham, S. (2006). Toxicity and bioaccumulation of cadmium and lead in *Salvinia cucullata*. *Journal of Environmental Biology*, 27(4), 645–652.
- Plum, L. M., Rink, L., & Hajo, H. (2010). The essential toxin: Impact of zinc on human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(4), 1342–1365. <https://doi.org/10.3390/ijerph7041342>
- Prod, J. N., Resour, P., All, S. L., Thilakar, R. J., J, J. R., & Pillai, P. M. (2012). *Phytoaccumulation of Chromium and Copper by Pistia stratiotes L. and*. 2(6), 725–730.
- Ramos, E., Bux, R. K., Medina, D. I., Barrios-Piña, H., & Mahlkecht, J. (2023). Spatial and Multivariate Statistical Analyses of Human Health Risk Associated with the Consumption of Heavy Metals in Groundwater of Monterrey Metropolitan Area, Mexico. *Water (Switzerland)*, 15(6). <https://doi.org/10.3390/w15061243>
- Ribeiro, V. H. V., Coutinho, Í. A. C., Alencar, B. T. B., Cabral, C. M., Santos, J. B. Dos, Ferreira, E. A., & Francino, D. M. T. (2020). Morphoanatomical injuries in *Pistia stratiotes* L. (Araceae) as a result of exposure to clomazone in water. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 92 1, e20180519. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020180519>
- Rodrigues, D. A., Vasconcelos, F. S. C., Rodrigues, A. A., Rampazzo, D. F., Rodrigues, C. L., Vasconcelos, J. M., & Magalhães, P. A. N. R. (2016). Effect of cadmium on the morphology and anatomy of *Salvinia auriculata*. *African Journal of Biotechnology*, 15(21), 891–896. <https://doi.org/10.5897/AJB2016.15317>
- Rolli, M. N. M., & Al, E. T. (2017). *TOXIC EFFECT OF CADMIUM ON AQUATIC MACROPHYTE SALVINIA RESEARCH ARTICLE TOXIC EFFECT OF CADMIUM ON AQUATIC MACROPHYTE, SALVINIA MOLESTA ( MITCHELL ). January 2015.*
- Saeedi, M., Li, L. Y., & Salmanzadeh, M. (2012). Heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons: Pollution and ecological risk assessment in street dust of Tehran. *Journal of Hazardous Materials*, 227–228, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.04.047>
- SEMARNAT. (2021). *PROGRAMA NACIONAL DE REMEDIACION DE SITIOS CONTAMINADOS 2021-2024.*
- Sen Gupta, B., Curran, M., Hasan, S., & Ghosh, T. K. (2009). Adsorption characteristics of Cu and Ni on Irish peat moss. *Journal of Environmental Management*, 90(2), 954–960. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2008.02.012>
- Sheoran, a. S., & Sheoran, V. (2006). Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: A critical review. *Minerals Engineering*, 19(2), 105–116. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2005.08.006>

- Shi, X., & Wang, J. (2013). Comparison of different methods for assessing heavy metal contamination in street dust of Xianyang City, NW China. *Environmental Earth Sciences*, 68(8), 2409–2415. <https://doi.org/10.1007/s12665-012-1925-3>
- Singha, K. T., Sebastian, A., & Prasad, M. N. V. (2019). Iron plaque formation in the roots of *Pistia stratiotes* L.: importance in phytoremediation of cadmium. *International Journal of Phytoremediation*, 21(2), 120–128. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1474442>
- Stottmeister, U., Buddhawong, S., & Kusch, P. (2006). *CONSTRUCTED WETLANDS AND THEIR PERFORMANCE FOR TREATMENT OF WATER CONTAMINATED WITH ARSENIC AND HEAVY METALS*.
- Sun, H., Luo, J., Ma, L. Q., Ren, J., & Cai, F. (2014). Antimony uptake, translocation and speciation in rice plants exposed to antimonite and antimonate. *Science of The Total Environment*, 475, 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.103>
- Suñe, N., Sánchez, G., Caffaratti, S., & Maine, M. A. (2007). Cadmium and chromium removal kinetics from solution by two aquatic macrophytes. *Environmental Pollution*, 145(2), 467–473. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.04.016>
- Suryawanshi, P. V., Rajaram, B. S., Bhanarkar, A. D., & Rao, C. V. C. (2016). *Determining heavy metal contamination of road dust in Delhi , India*. 29(3), 221–234. <https://doi.org/10.20937/ATM.2016.29.03.04>
- Tang, R., Ma, K., Zhang, Y., & Mao, Q. (2013). The spatial characteristics and pollution levels of metals in urban street dust of Beijing, China. *Applied Geochemistry*, 35, 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2013.03.016>
- Tarlyan, N., Kostman, T., Nakata, P., Keates, S., & FRANCESCHI, V. (1998). Axenic culture of *Pistia stratiotes* for use in plant biochemical studies. *Aquatic Botany*, 60, 161–168. [papers2://publication/uuid/74D927FB-8149-4419-81EA-802A245989CC](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(98)00022-9)
- Tejada Tovar, C., Villabona Ortiz, Á., & Ruiz Rangel, V. (2012). Biomasa residual para remoción de mercurio y cadmio: una revisión. *Ingenium*, 6(14), 11–21. <https://doi.org/10.21774/ing.v6i14.189>
- Trujillo-González, J. M., Torres-Mora, M. A., Keesstra, S., Brevik, E. C., & Jiménez-Ballesta, R. (2016). Heavy metal accumulation related to population density in road dust samples taken from urban sites under different land uses. *Science of the Total Environment*, 553, 636–642. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.101>
- Ugya, A. Y., Imam, T. S., & Tahir, S. M. (2015). *The Use Of Pistia stratiotes To Remove Some Heavy Metals From Romi Stream : A Case Study Of Kaduna Refinery And Petrochemical Company Polluted Stream* . 9(1), 48–51. <https://doi.org/10.9790/2402-09124851>
- USEPA. (1996). Method 3050B - Acid digestion of sediments, sludges, and soils. 1996, December, 12. <https://doi.org/10.1117/12.528651>

- Vaculík, M., Jurkovič, L., Matejkovič, P., Molnárová, M., & Lux, A. (2013). Potential risk of arsenic and antimony accumulation by medicinal plants naturally growing on old mining sites. *Water, Air, and Soil Pollution*, 224(5). <https://doi.org/10.1007/s11270-013-1546-9>
- Vaculík, M., Landberg, T., Greger, M., Luxová, M., Stoláriková, M., & Lux, A. (2012). Silicon modifies root anatomy, and uptake and subcellular distribution of cadmium in young maize plants. *Annals of Botany*, 110(2), 433–443. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs039>
- Vaculík, M., Mrázová, A., & Lux, A. (2015). Antimony (SbIII) reduces growth, declines photosynthesis, and modifies leaf tissue anatomy in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(23), 18699–18706. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5069-3>
- Valdez Cerda, E., Hinojosa Reyes, L., Alfaro Barbosa, J. M., Elizondo-Martinez, P., & Acuña-Askar, K. (2011). Contamination and chemical fractionation of heavy metals in street dust from the metropolitan area of Monterrey, Mexico. *Environmental Technology*, 32(9–10), 1163–1172. <https://doi.org/10.1080/09593330.2010.529466>
- Veselý, T., Tlustos, P., & Száková, J. (2011). The use of water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) for rhizofiltration of a highly polluted solution by cadmium and lead. *International Journal of Phytoremediation*, 13(9), 859–872. <https://doi.org/10.1080/15226514.2011.560214>
- Veselý, T., Trakal, L., Neuberg, M., Száková, J., Drábek, O., Tejnecký, V., Balíková, M., & Tlustoš, P. (2012). Removal of Al, Fe and Mn by *Pistia stratiotes* L. and its stress response. *Central European Journal of Biology*, 7(6), 1037–1045. <https://doi.org/10.2478/s11535-012-0099-z>
- Victor, K. K., Séka, Y., Norbert, K. K., Sanogo, T. A., & Celestin, A. B. (2016). Phytoremediation Of Wastewaters Toxicity Using Water Hyacinth (*Eichhornia Crassipes*) And Water Lettuce (*Pistia Stratiotes*). *International Journal of Phytoremediation*, 6514(May), 0. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1183567>
- Wang, J., Liu, J., Pang, J., Fu, G., Wang, Q., Liu, C., Lü, W., Shi, Y., & Li, W. (2018). The effects of two free-floating plants ( *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* ) on the burrow morphology and water quality characteristics of pond loach ( *Misgurnus anguillicaudatus* ) habitat. *Aquaculture and Fisheries*, 3(1), 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2017.12.001>
- Wei, C., Yang, L., Wu, F., Tu, S., & Feng, R. (2008). Antimony accumulation and antioxidative responses in four fern plants. *Plant and Soil*, 317(1–2), 93–101. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9790-2>
- Wickramasinghe, S., & Jayawardana, C. K. (2018). Potential of Aquatic Macrophytes *Eichhornia Crassipes*, *Pistia Stratiotes* and *Salvinia Molesta* in Phytoremediation of Textile Wastewater. *Journal of Water Security*, 4(0), 1–8. <https://doi.org/10.15544/jws.2018.001>
- World Health Organization [en línea]. (2014). *7 million premature deaths annually linked to air pollution*.

- Wu, Q., Tam, N. F. Y., Leung, J. Y. S., Zhou, X., Fu, J., Yao, B., Huang, X., & Xia, L. (2014). Ecological risk and pollution history of heavy metals in Nansha mangrove, South China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *104*, 143–151. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.02.017>
- Xie, Y., Wen, M., Yu, D., & Li, Y. (2004). Growth and resource allocation of water hyacinth as affected by gradually increasing nutrient concentrations. *Aquatic Botany*, *79*(3), 257–266. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2004.04.002>
- Yadav, S., & Chandra, R. (2011). Heavy metals accumulation and ecophysiological effect on *Typha angustifolia* L. and *Cyperus esculentus* L. growing in distillery and tannery effluent polluted natural wetland site, Unnao, India. *Environmental Earth Sciences*, *62*(6), 1235–1243. <https://doi.org/10.1007/s12665-010-0611-6>
- Yadav, V., Arif, N., Kováč, J., Singh, V. P., Tripathi, D. K., Chauhan, D. K., & Vaculík, M. (2021). Structural modifications of plant organs and tissues by metals and metalloids in the environment: A review. In *Plant Physiology and Biochemistry* (Vol. 159, pp. 100–112). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.047>
- Yu, B., Wang, Y., & Zhou, Q. (2014). Human health risk assessment based on toxicity characteristic leaching procedure and simple bioaccessibility extraction test of toxic metals in urban street dust of tianjin, China. *PLoS ONE*, *9*(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092459>
- Zhang, J., Deng, H., Wang, D., Chen, Z., & Xu, S. (2013). Toxic heavy metal contamination and risk assessment of street dust in small towns of Shanghai suburban area, China. *Environmental Science and Pollution Research*, *20*(1), 323–332. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0908-y>
- Olkhovych, O., Taran, N., Hrechishkina, S., Voitsekhivska, O., Panuta, O., Voitsekhivskyi, V., & Belava, V. (2022). Evaluation of Hyper-Tolerance of Aquatic Plants to Metal Nanoparticles. *Journal of Ecological Engineering*, *23*(8), 249–259. <https://doi.org/10.12911/22998993/150719>