



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN

BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS Y DAÑO GENOTÓXICO EN
CULTIVOS DE TRASPATIO *Zea mays* L. (raza pepitilla) EN SUELOS
EXPUESTO A JALES MINEROS, EN HUAUTLA, MORELOS: BASES PARA
GENERAR UNA PROPUESTA DE MITIGACIÓN

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN BIOLOGÍA INTEGRATIVA DE LA BIODIVERSIDAD Y
CONSERVACIÓN

PRESENTA:

BIÓL. CARLOS ANTONIO VERGARA ALLENDE

DIRECTOR: DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ

CUERNAVACA, MORELOS

2019

“Sembrado para comer es sagrado sustento del hombre
que fue hecho de maíz. Sembrado para negocio es el
hambre del hombre que fue hecho de maíz”.

Miguel Ángel Asturias (Hombres de Maíz).

“Solo el que carga el morral, sabe lo que lleva dentro”

— Refrán popular

CRÉDITOS Y RECONOCIMIENTOS

A la Máxima Casa de Estudios Morelense, la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM).

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo recibido. Número de becario 838038.

A la Maestría en Biología Integrativa de Biodiversidad y la Conservación, Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC), UAEM.

A los miembros del comité tutorial integrado por:

Dr. Efraín Tovar Sánchez

Dra. Patricia Mussali Galante

Dr. Héctor Sotelo Nava

A la Comisión Revisora integrado por:

Dra. Belinda Josefina Maldonado Almanza

Dra. María Luisa Castrejón Godínez

Dr. Efraín Tovar Sánchez

Dra. Patricia Mussali Galante

Dr. Héctor Sotelo Nava

AGRADECIMIENTOS

A la **Maestría en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación** del CIByC-UAEM, particularmente a la **Jefatura de Programas Educativos del CIByC**, por todo el apoyo y las facilidades recibidas que ayudaron a concluir satisfactoriamente este proyecto.

Al **Laboratorio de Marcadores Moleculares** del CIByC-UAEM; al **Laboratorio de Investigaciones Ambientales** del Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB) en la UAEM; así como al **Laboratorio de Química Analítica** de la Facultad de Química en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por el apoyo y los espacios brindados para la realización de este trabajo de investigación.

Dr. Efraín Tovar Sánchez (tutor): Por toda la confianza depositada en mi persona, porque siempre me brindó de manera profusa su apoyo, sus conocimientos y su incondicional amistad, nunca tendré como pagarle, gracias a usted no solo crecí profesionalmente sin duda tuve un crecimiento personal. Siempre tendrás mi admiración, cariño y gratitud. Es un orgullo tenerte como mi maestro.

Dra. Patricia Mussali Galante: Por toda su paciencia, eterna disposición y sus atinadas observaciones. Gracias por no sólo enriquecer este proyecto de investigación, sino también mi desarrollo profesional.

Dr. Héctor Sotelo Nava: Por sus correcciones y sugerencias que enriquecieron enormemente este trabajo.

Dra. Belinda Maldonado Almanza: Por su tiempo, comprensión y todas las aportaciones que hizo para este trabajo. Porque sus comentarios me guiaron en los momentos más difíciles.

Dra. María Luisa Castrejón Godínez: Por las revisiones y comentarios hechas a este proyecto, por impulsar mi formación y por corregir con sentido del humor mis errores.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

Efra, no encuentro palabras que expresen mi más profundo y sincero agradecimiento por tu motivación, por todo tu apoyo, porque siempre estuviste ahí para mí, por tu amistad. Porque aun sabiendo los riesgos me abriste las puertas para hacerme tu alumno. Gracias por compartir tus conocimientos, por los consejos y regaños, por enseñarme a ser sereno y por siempre transmitir esa actitud positiva. Eres un investigador admirable.

Doctora Paty, gracias por tu confianza, por el apoyo brindado para el desarrollo de este proyecto, gracias por tu paciencia en esos momentos de altibajos, por tus consejos, por ponerme a prueba en todo momento, porque gracias a ello hoy se mas de mi.

A todos los chicos y chicas del laboratorio de marcadores moleculares por todo su apoyo. Gracias por hacer de mis momentos en el laboratorio mucho más gratos y llevaderos, En especial, quiero agradecer a Dalia Muro, por esas buenas charlas que hicieron más amenas las interminables horas lavando y preparando laminillas, por sufrir conmigo los errores en el laboratorio, “amika” lo logré muchas gracias. A Miguel Santoyo por enseñarme la técnica del “ensayo cometa”.

Gracias a Tatiana Cervantes por mostrarme esos pequeños secretos que facilitaron mi proceso de aprendizaje, por tus buenos consejos y tu apoyo incondicional, de ti aprendí más de lo que crees.

Gracias a Maricarmen Altamirano y Dania Rebollo por toda su buena vibra, por su gran esfuerzo y apoyo en campo. “Güera” eres una excelente chica y sé muy bien que llegaras a ser una gran investigadora si te lo propones ¡Nunca dudes de ello!

A todos los chicos y chicas del laboratorio de investigaciones ambientales por su apoyo y buenos comentarios. Marquito, Karen gracias por todo su apoyo, el cotorreo con ustedes hizo de mi tiempo en el laboratorio algo especial, chicos mil gracias por su apoyo.

Además de agradecer quiero hacer un reconocimiento muy especial a todos mis compañeros y profesores de la maestría, por acompañarme en esta travesía; porque cada uno de ustedes abono al cumplimiento de esta meta. Fueron dos años que se pasaron volando, pero aprendí de cada uno de ustedes ¡Sí se pudo!

A Ana Velia, mi incondicional, la pareja perfecta, a la mejor mamá del mundo mundial, sin duda amor este trabajo es de los dos porque sólo gracias a tu sacrificio, comprensión y apoyo se ha podido alcanzar este objetivo. Gracias por mi maestría, eternamente estaré agradecido por

permitirme estar a tu lado y vivir esta hermosa vida. Te amo con todo mi corazón.

A mi hijo Itzae, por ser mi motivo de alegría y mi motor para seguir adelante. Porque jamás creí amar tanto te amo a ti. Porque tú también sacrificaste mucho para que papá lograra ser maestro, ¡Te amo por siempre mi niño hermosochulitodelapompi!

A mis padres....

A mis hermanos, Pepe y Any, porque incansablemente me apoyan a pesar de mis errores. Hermanos ustedes son mi orgullo, mi fortaleza en esos difíciles momentos, gracias por sus porras, por su amor, por ser parte de mi vida. Para ustedes la sempiterna bendición de Dios.

A la familia Martínez García, por todo su apoyo, por aceptarme como parte de su familia, pero sobre todo por todo el amor y cariño que le dan a Itzae.

A todos mis amigos: Mabuya, el mejor amigo que alguien podría tener y simplemente un ser humano excelente; a Joel, Quintana, Aarón, Juanito y Damaris, por tantos buenos momentos (las chelas, ¿no?).

A Raúl Guzmán por todo su tiempo y apoyo para realizar los vuelos con Dron en Huautla. Amigo muchas gracias por todo tu apoyo y paciencia. ¡Fue muy divertido!

Un agradecimiento muy especial a toda la gente de la Comunidad de Huautla, que abrieron las puertas de sus casas para permitirnos la realización de este proyecto. Gracias por toda la hospitalidad y confianza depositadas. Particularmente a Joselito y su familia por todas las atenciones y muestras de cariño, pero sobre todo por el interés y esfuerzo puesto en este proyecto, sin ustedes no hubiera sido posible.

ESTE TRABAJO ESTA DEDICADO

..... A ANAVELIA

.....A ITZAE

.....A MIS PADRES

ÍNDICE

PAG.

RESUMEN.....	I
1. Introducción.....	1
1.1. La minería en México.....	1
1.1.1. El caso de Huautla, Morelos.....	3
1.2. Exposición a metales pesados.....	5
1.2.1. Ecosistemas expuestos a metales pesados	6
1.2.2. Dinámica de los metales pesados en suelo.....	7
1.2.2.1. Factores que afectan la biodisponibilidad y acumulación de los metales pesados	8
1.2.2.2. Bioacumulación de metales pesados	9
1.3. Toxicidad de los metales pesados	10
1.3.1. Toxicidad de los metales en plantas	10
1.3.2. Efectos genotóxicos de los metales pesados	12
1.4. Ensayo cometa - técnica de evaluación genotóxica	13
1.5. Estudios realizados en Huautla, Morelos.....	13
1.6. Genotoxicidad en <i>Zea mays</i> L.	16
1.8. El Maíz criollo en México.....	19
2. Justificación.....	20
3. Hipótesis.....	21
4. Objetivos.....	21
4.1. Objetivo general.....	21
4.2. Objetivos particulares.....	21
5. Metodología.....	21
5.1. Zona de estudio.....	21
5.2. Selección de los sitios de estudio.....	22
5.2.1. Vuelos sobre Jale – Huautla.....	22
5.2.2. Ubicación de microparcels.....	23
5.3. Criterios de inclusión.....	26
5.4. Historia de <i>Zea mays</i> L.	26
5.4.1. <i>Zea mays</i> L. – Raza pepitilla.....	27
5.5. Programa de conservación de maíces criollos.....	27
5.6. Muestreo de suelo e individuos de <i>Zea mays</i> L. (Raza pepitilla) en el poblado de Huautla,	

Morelos.....	28
5.6.1. Muestreo de suelo.....	28
5.6.2. Muestreo de plantas de maíz (<i>Zea mays</i> L. – raza pepitilla).....	28
5.7. Aislamiento de núcleos vegetales e individuos de maíz raza pepitilla.....	29
5.7.1. Electroforesis unicelular alcalina o “Ensayo cometa”.....	29
5.7.2. Evaluación del daño genotóxico.....	29
5.8. Determinación de metales en suelo e individuos de <i>Zea mays</i> L.	30
5.8.1. Determinación de metales en suelo.....	30
5.8.2. Determinación de metales en <i>Zea mays</i> L.	30
5.9. Análisis estadístico.....	30
6. Resultados.....	32
6.1. Concentración de metales pesados solubles en suelo del poblado de Huautla, Morelos a través de un gradiente de distancia al jale	32
6.2. Relación entre la concentración de metales pesados solubles en suelo del poblado de Huautla y la distancia al jale	32
6.3. Bioacumulación de metales pesados en fruto de <i>Zea mays</i> L. (raza pepitilla) cultivado en los traspatios del poblado de Huautla, Morelos.....	33
6.4. Daño genotóxico (rompimiento de cadena sencilla) en frutos de <i>Zea mays</i> L. (raza pepitilla) expuesta a metales pesados.....	34
6.5. Ordenación de cultivos de <i>Zea mays</i> L. (raza pepitilla) en traspatios del poblado de Huautla con base a la bioacumulación de metales pesados y daño genotóxico en frutos de maíz.....	37
6.6. Ordenación de cultivos de <i>Zea mays</i> L. (raza pepitilla) en traspatios del poblado de Huautla con base a la concentración de metales solubles en suelo, bioacumulación de metales pesados y daño genotóxico en frutos de maíz.....	39
7. Discusión.....	41
7.1. Concentración de metales pesados solubles en suelo del poblado de Huautla, Morelos a través de un gradiente de distancia al jale	41
7.2. Bioacumulación de metales pesados en fruto de <i>Zea mays</i> L. (raza pepitilla) cultivado en los traspatios del poblado de Huautla, Morelos.....	43
7.3. Daño genotóxico (rompimiento de cadena sencilla) en frutos de <i>Zea mays</i> L. (raza pepitilla) expuestos a metales pesados.....	43
7.4. Zonificación del poblado de Huautla, Morelos de acuerdo a metales pesados solubles, bioacumulación de metales y daño genético en frutos de maíz.....	46
8. Propuesta de mitigación de acuerdo a la zonificación del poblado de Huautla, Morelos.....	47
9. Conclusiones.....	51
10. Perspectivas.....	52
8. Literatura consultada.....	53

RESUMEN

Vergara-Allende, C. (2019). Bioacumulación de metales pesados y daño genotóxico en cultivos de traspatio *Zea mays* L. (raza pepitilla) en suelos expuesto a jales mineros, en Huautla, Morelos: bases para generar una propuesta de mitigación. Tesis de maestría. Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC). Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 63 p.

La minería en México constituye una de las actividades más antiguas y con mayor importancia tanto económica como socio-cultural para el país, pero a consecuencia de esta actividad se generan grandes cantidades de residuos sólidos, líquidos y gaseosos, siendo los “Jales” o “relaves” los que se asocian con efectos negativos al ambiente, por ser ricos en elementos potencialmente tóxicos (EPT) como los metales pesados (MP). Los MP representan un riesgo para la salud humana y el ecosistema, debido principalmente a su bioacumulación, biodisponibilidad y toxicidad.

En Huautla, Morelos, después de varios siglos de explotación minera, fueron depositados más de 780 mil toneladas de jales ricos en MP, los cuales se encuentran ubicados aproximadamente a 500 m del poblado. Los jales pueden ser removidos por fuerzas hídricas y/o eólicas y ser depositados en cuerpos de agua y suelos que los rodean, mismas que comúnmente son utilizadas para el riego de los campos de cultivo o se vuelven los terrenos de siembra. Las especies vegetales que se cultivan en áreas que tienen exposición a MP, son susceptibles a bioacumular MP en sus tejidos y presentar daños a nivel genético. Particularmente, el maíz (*Zea mays* L.) es uno de los recursos cultivados que tienen mayor trascendencia en el mundo, además, debido a su alta sensibilidad ante la presencia de contaminantes, importancia como base de la red trófica y amplia distribución geográfica, es considerado como especie bioindicadora de contaminación.

El objetivo de este estudio es determinar la concentración de MP en suelos y bioacumulación de los mismos en cultivos de *Z. mays* (raza pepitilla) en el traspatio de las casas del poblado de Huautla, Morelos a través de un gradiente de distancia al jale. Asimismo, se busca evaluar el efecto genotóxico que ejerce la bioacumulación de MP en los individuos de maíz por la técnica de electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa, un biomarcador de efecto temprano utilizado para monitoreo ambiental. Se detectó Pb, Cu, Zn, Cd y As soluble en el suelo del poblado de Huautla, así como una relación negativa y significativa entre la distancia a la fuente de contaminación (jale) y la concentración de metales solubles. Es decir, conforme se aleja de la fuente de contaminación se reduce la concentración de MP. Por otro lado, los individuos de *Z. mays* creciendo en los traspatios de las casas de Huautla bioacumularon Pb, Cu y Zn en sus semillas y se documentó una relación negativa y significativa entre la distancia a la fuente de contaminación (jale) y la concentración de MP bioacumulados. Los niveles de daño genético en individuos de *Z. mays* presentan una relación negativa y significativa con respecto a la fuente de contaminación.

Los análisis de función discriminante muestran tres grupos de microparcels en relación a la distancia de la fuente de contaminación, con respecto a los niveles de daño genético y bioacumulación de MP en semillas de maíz. Grupo 1, microparcels a 200 m; grupo 2, microparcels a 400 y 600 m; grupo 3, microparcels a 800, 1000 y 1200 m. Además, fueron detectados cuatro grupos de microparcels en relación a la distancia de la fuente de contaminación, con respecto a los niveles de MP solubles en suelo, niveles de daño genético y bioacumulación de MP en semillas de maíz. Grupo 1, microparcels a 200 m; grupo 2,

microparcels a 400 y 600 m; grupo 3, microparcels a 600 m orientación NE; y grupo 4, microparcels a 800, 1000 y 1200 m.

Este estudio demuestra que, I) los jales son una fuente de contaminación potencial de MP y que la dispersión eólica favorece la movilidad de contaminantes hacia el poblado de Huautla. II) Los MP asociados a los suelos de Huautla contienen una fracción soluble que puede ser bioacumulada en la flora asociada. III) Las microparcels de Huautla, Morelos donde se siembra *Z. mays* cercanos a jales mineros, los individuos de maíz presentan daño genotóxico y bioacumulación de MP significativamente mayor, en consecuencia al estrés inducido por la exposición a los MP que son depositados por efecto eólico. Por lo anterior, se confirma que la especie de *Z. mays* raza pepitilla es una especie centinela que puede ser utilizada para monitorear ambientes contaminados por MP y el uso del ensayo cometa puede ser utilizado en especies de importancia agronómica, como un método de alerta temprana sobre los efectos genotóxicos de los residuos mineros en sitios agrícolas.

Palabras Clave: Daño genotóxico, metales pesados, *Zea mays* L. (raza pepitilla), ensayo cometa, jales.

INTRODUCCIÓN

El estudio de los metales pesados (MP) y sus efectos sobre el ambiente, en los últimos años ha sido de gran interés, centrándose en aquellos sitios con intereses económicos, ecológicos y de salud humana, como los agroecosistemas. En ese sentido, el análisis del daño al ácido desoxirribonucleico (ADN) causado por estos agentes en dichos sistemas agrícolas se ha convertido en punto focal de evaluación, debido a sus implicaciones en los distintos niveles de organización biológica; razón por la que, la genotoxicología ha sido reconocida como una herramienta básica para los estudios ecotoxicológicos (Mussali-Galante *et al.*, 2013).

La sensibilidad de los organismos a los MP varía considerablemente a través de reinos y phylum, esto puede deberse a factores genéticos y fisiológicos; así como a las rutas por las que el elemento tóxico está en contacto con el individuo y del destino final de estos elementos en cada especie (Calow, 1993). Por lo anterior, el proceso de elección de la especie a evaluar es decisiva para la valoración genotóxica en ambientes expuestos a MP (Tovar-Sánchez *et al.*, 2012). En consecuencia, el uso de especies de importancia agrícola posee gran variedad de ventajas, además de ofrecer la detección oportuna de posibles consecuencias negativas sobre sus consumidores (Dukesnoy *et al.*, 2010). Además, son las recomendadas por la Agencia de Protección Ambiental (EPA, USA) y por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, USA), como excelentes bioindicadores de contaminación (Wang, 1991).

En general, el maíz (*Zea mays* L.) es uno de los recursos más cultivados y de mayor trascendencia a nivel nacional y mundial (Falabella *et al.*, 2008). Asimismo, es considerada como especie bioindicadora por presentar: I) alta sensibilidad a cambios ambientales, II) amplia distribución geográfica, III) ser la base de la red trófica, IV) responder bioquímica, celular y fisiológicamente ante diversos contaminantes, y V) Bioacumular contaminantes en tejidos (Ruíz *et al.*, 2012).

La minería en México

La minería en México, es una de las actividades económicas de mayor tradición y contribuye en gran medida con el desarrollo económico del país, debido a que aporta 4% del Producto Interno Bruto Nacional (SE, 2019), suministrando insumos a industrias como la metalúrgica, siderúrgica, química y electrónica (INECC, 2014). Debido a su gran diversidad y abundancia de recursos minerales, México se ha posicionado como una potencia minera a nivel mundial, ocupando el 1^{er} lugar en la producción de plata (Ag), quinto en plomo (Pb) y séptimo en cobre (Cu) (CAMIMEX,

2018). Además, México se ubica entre los diez principales productores de: oro (Au), zinc (Zn), Cu, cadmio (Cd), bismuto (Bi), fluorita, celestita, wollastonita, diatomita, molibdeno, barita, grafito, sal, yeso y manganeso (Mn), principalmente (SE, 2019). Actualmente, nuestro país es considerado el 1^{er} destino en inversión para exploración minera en América Latina y el 4^{to} en el mundo (Metals Economics Group, 2013). En la actualidad, las 32 entidades federativas de la República Mexicana poseen yacimientos mineros (Velasco *et al.*, 2005).

De acuerdo al Sistema de Información Minera (SIAM), en México se encuentran concesionadas un total de 52 millones de hectáreas para el sector minero, lo que corresponde a una cuarta parte del territorio nacional (26.9%) (SIAM, 2012). Pese a que actualmente no existe suficiente información para apreciar el costo del impacto ambiental que ha causado la minería a lo largo del país, se reconoce que es significativamente mayor que el de otras industrias, principalmente porque produce el 65% del total de los residuos industriales que existen en México (Mejía *et al.*, 1999). Bussiére *et al.*, (2000) estimaron que por cada hectárea contaminada por los drenajes ácidos derivados de la minería, los costos de restauración ecológica oscilarían los \$158,500.00 (dólares americanos).

Lo antes mencionado sugiere que las actividades mineras no sólo producen beneficios económicos, sino que también ejercen efectos negativos sobre el ambiente, afectando desde el subsuelo hasta la atmósfera, incluyendo suelos y cuerpos de agua superficiales y subterráneas, impactando así a los seres vivos que ahí habitan (Gómez-Bernal *et al.*, 2010). Las afectaciones causadas por la minería se derivan principalmente de dos procesos: 1) del proceso de tratamiento primario de los metales, que produce explosiones, ruidos y humos propios de la actividad minera y 2) de la generación de jales (Mejía *et al.*, 1999).

Históricamente las actividades mineras son generadoras de sedimentos a manera de lodos, con una escala granulométrica fina denominados jales o relaves (Gutiérrez-Ruiz *et al.*, 2007). Los jales generados en la extracción de minerales como el Pb, Ag, Zn y Cu, generalmente contienen sulfuros metálicos residuales como la pirita pirrotita, galena, esfalerita, calcopirita y arsenopirita, importantes representantes de EPT's. Por su parte, Romero *et al.*, (2007) reportan que metales como el arsénico (As), Cd, Pb, Cu, Zn, hierro (Fe), mercurio (Mg), níquel (Ni), cromo (Cr), entre otros, son considerados como EPT's de jales mineros, ya sea en condiciones normales de operación o como consecuencia de fenómenos ambientales como tormentas, incluso derrames, o resultado de un manejo inadecuado de los mismo, lo que puede repercutir en una dispersión hacia el entorno (Moncur *et al.*, 2004). Más aún, cuando los jales son abandonados sin ningún

tratamiento, su paulatino desgaste y lixiviación facilita la contaminación de suelos, sedimentos, aguas superficiales, subterráneas y aire (Gutiérrez-Ruiz *et al.*, 2007). Además, se han documentado los efectos negativos de la toxicidad de los metales provenientes de residuos mineros sobre un amplio número de especies vegetales y animales (Marin-Guirao *et al.*, 2005; Mussali-Galante *et al.*, 2013).

Se estima que en la República Mexicana existen más de 80 jales en operación (Romero y Gutiérrez, 2010). Sin embargo, no existe un inventario con la cantidad y ubicación de los jales inactivos o abandonados. La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) aprobó una norma para la adecuada disposición de los jales, la cual sólo se aplica para proyectos iniciados después de 2004 (SEMARNAT, 2004). El problema en México, es que como resultado de la actividad minera pasada existen cientos de millones de toneladas de jales dispersos a lo largo de todo el territorio nacional, de los que se desconocen sus condiciones de confinamiento o su posible riesgo ambiental (Ramos-Arroyo y Siebe-Grabach, 2006). En México se estima que existen 21.7 millones de hectáreas con residuos mineros que contienen EPT's ricos en metales pesados (Romero *et al.*, 2008). Los Estados donde se ha documentado esta situación son: Hidalgo, Guanajuato, Guerrero, San Luis Potosí, Michoacán, Baja California Sur, Durango, Sonora, Zacatecas, Coahuila, Puebla y Morelos. En este último se encuentran regiones mineras abandonadas y una gran cantidad de desechos producidos por esta actividad. Un ejemplo de ello es el poblado de Huautla, municipio de Tlaquiltenango (SEMARNAT, 2004, 2005).

El caso de Huautla, Morelos

En Morelos por varias décadas, se explotó principalmente Ag, Pb y Zn. Los distritos mineros más explotados en el estado, por sus contenidos de minerales metálicos, se ubican en el municipio de Tlaquiltenango. Durante los siglos XVIII y XIX se explotaron seis minas en esta región, de manera intermitente. En particular, en los años 50's, se explotaron cuatro minas en esta zona, la encargada de dicha tarea fue la compañía "Exploradora de Minas S.A.". Después, a finales de los años 70's y hasta finales de los 80's, la compañía "Rosario de México, S.A.", en busca de Ag y Pb principalmente, explotó otras minas en la misma región. Actualmente, todas estas minas ya no están en operación y se localizan dentro de una zona que fue decretada en 1999 como área natural protegida conocida como "Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla, REBIOSH". Esta Reserva protege poco más de 59,000 hectáreas, de las cuales en su mayoría presenta el tipo de vegetación de la selva baja caducifolia, ecosistema que cuenta con una gran biodiversidad de flora y fauna (INEGI, 2004; SEMARNAT, 2004).

Morelos está ubicado en zona de dominio de vientos alisios, los cuales son fuertes y profundos en el verano convirtiéndose en precipitación como efecto de los movimientos conectivos del aire en el fondo de los valles y al enfriamiento por expansión adiabática, fenómeno provocado por las laderas montañosas al ascender (Vidal, 1980). La zona más seca de la región se encuentra en la parte sur como consecuencia de los vientos dominantes adventicios (vientos horizontales) que tienen presencia la mayor parte del año con dirección predominante de oeste a este (CEAMA, 2001).

El poblado de Huautla se localiza al sureste de del estado de Morelos, a una altitud de 970 m, pertenece al municipio de Tlaquiltenango, tiene una superficie de 468 km², colinda al oeste y suroeste con el Estado de Guerrero y con el Estado de Puebla al este y sureste. Huautla cuenta con una población de 852 habitantes (INEGI, 2010). Presenta una riqueza natural en minerales azufrados de Pb y Ag, donde se estima que existen alrededor de 780 mil toneladas de residuos mineros ricos en Pb, As, Cd, Zn, y Cu, además de otra cantidad de material no procesado como Pb, Cd, Mn y Zn. Se han ubicado tres jales en la zona, los cuales se encuentran a la intemperie y sin regulación alguna (SEMARNAT, 2005). Además, por tratarse de una zona semi-árida el factor clima tiene un papel importante, toda vez que en los lugares con climas secos o semi-secos se propicia la dispersión por efectos eólicos, como consecuencia por la falta de humedad en los residuos sólidos que son fácilmente transportados (varios kilómetros) a grandes distancias (Smith y Huyck, 1999), información que enfatiza su importancia si tomamos en cuenta los resultados obtenidos en el estudio realizado por la SEMARNAT, 2004, 2005, en conjunto con el Instituto Nacional de Ecología, en donde determinaron que los jales de Huautla contenían elevadas concentraciones de plomo (hasta 3340 mg/kg) y arsénico (hasta 274 mg/kg) rebasando los límites máximos permisibles propuestos por la PROFEPA para As (20 mg/kg. Suelo residencial y 40 mg/kg suelo industrial) y para Pb (200 mg/kg y suelo residencial y 1500 suelo industrial). Además de lo anterior, encontraron concentraciones elevadas de cobre, zinc y cadmio. Los altos contenidos de Pb y As encontrados en los residuos de la zona, pueden relacionarse directamente con el tipo de minerales explotados, además de que el tamaño de la partícula < 45µm es el que predomina (44.2%) y es esta fracción la que contiene la mayor concentración de metales Pb (30.7%), As (31.9%) y Cd (26.0%) entre otros (Velasco *et al.*, 2004).

La Sierra de Huautla está constituida principalmente por cuatro tipos de suelo (Figura 1): *litosol*, *regosol eútrico*, *vertisol pélico* y el dominante es el *feozem háplico*, que se caracteriza por su color oscuro en la parte superficial debido a su alto contenido de materia orgánica, además de

ser suave y rica en nutrientes (INEGI, 2004). Datos recientes muestran que la materia orgánica del sitio, es un factor que influye en la biodisponibilidad de los metales pesados (Pb, Zn, Cd, Fe, Mn y Cu). Todos los metales estudiados en la zona superficial, media y base del jale principal, tuvieron porcentajes de biodisponibilidad en diferentes grados, por ejemplo, Pb registro su porcentaje más alto en la superficie (68.1%), mientras que el Cd lo mostró en la base (28.6%), el Cu mostro porcentajes muy altos comenzando en la parte media con el 83.3% seguido de la superficie que registró el 80.0%, para el caso del Zn se reporta su porcentaje más alto en la base (40.11%), al igual que el Fe con 24.8% y por último el Mn con el 47.6% en la base y 44.4% en la parte media (Solís – Miranda, 2016).

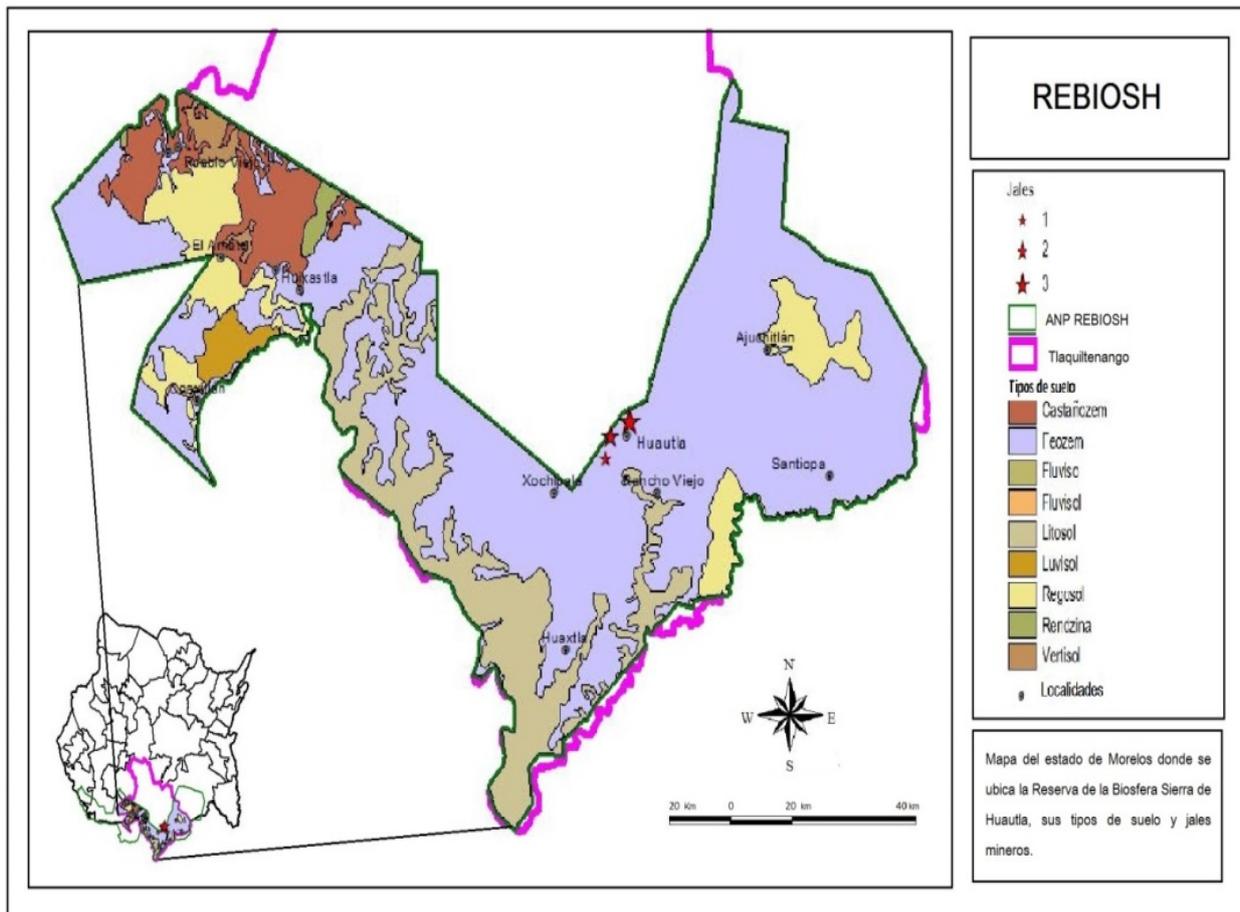


Figura 1. Tipos de suelo en la REBIOSH. INEGI, 2004.

Exposición a metales pesados

Una vez que se establece la zona para desarrollar explotación minera, a la par se crean cerca de estas regiones mineras viviendas temporales de los trabajadores, sin embargo cuando en estas regiones se termina dicha actividad, estos pequeños asentamientos se convierten en comunidades rurales que ante la falta de una fuente de sustento, encuentran un sustituto con la agricultura (Vázquez, 2010). Un ejemplo de ello es la comunidad de Huautla, Morelos, en donde el jale

principal de la zona tiene una dimensión aproximada a 180 × 80 m y se localiza a 500 m del poblado.

El Programa para la Conservación del Maíz Criollo (PROMAC) de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP), en su ejercicio fiscal del 2015 aplicado en la REBIOSH, identificó que la mayoría de los pobladores de Huautla además de sembrar el maíz criollo en sus tierras de cultivo, utilizan los traspatios de sus casas y alrededores de la comunidad. Esto último podría representar un riesgo potencial para la salud de la población. Lo anterior, debido a que la acumulación de MP tiene lugar en la parte biológicamente más activa del suelo, de modo que los metales biodisponibles pueden ser fácilmente absorbidos por los cultivos, lo que podría resultar en una elevada concentración de metales en tejidos vegetales utilizados para consumo humano o como alimento en la crianza de especies animales y sus derivados con el mismo fin (Ruiz y Armienta, 2012).

Ecosistemas expuestos a metales pesados

Los ecosistemas que han sido modificados por la acción del hombre con el uso de técnicas agrícolas y/o ganaderos con la finalidad de obtener bienes y servicios para consumo humano, se definen como agroecosistemas. Un agroecosistema puede estar ligado con otros ecosistemas y/o agroecosistemas (Brunett, 2005).

De acuerdo con lo descrito por Kaigorodova y Smirnov, (2007) y Vodyanitskii, (2013); la actividad derivada de la explotación minera tiene impactos no solo en la zona donde se lleva a cabo, también tiene efectos sobre los terrenos aledaños, pues las acumulaciones de los polvos que se generan con altas concentraciones de metales pesados, pueden ser tan elevadas que pueden ir de las 3 mil hasta las 28 mil toneladas en un año, solo por efecto del arrastre aéreo y dependiendo de la intensidad de la explotación. La consecuencia de este fenómeno en las zonas de impacto de dicha actividad minera, fue puesta evidenciada por Panin, (2006); quien demostró la alteración en la productividad de sus cultivos, detectando concentraciones de Zn, Cd y Cu que superan hasta diez veces los límites permisibles en hortalizas establecidos por la Comisión de Regulación Europea.

Los metales pesados tienen accesos a los agroecosistemas de forma natural o de manera antropogénica (Hou *et al.*, 2013), por: 1) la acumulación de polvos derivados de la actividad humana circundante y de jales mineros; 2) el uso de pesticidas y fertilizantes; y 3) la irrigación con aguas contaminadas (Sheppard *et al.*, 2009; Vodyanitskii, 2013). El orden en el que se enlistan se debe principalmente a su importancia en el aporte de metales pesados a estos suelos, siendo así

que el primer caso ha sido identificado como el principal proveedor (Pereira *et al.*, 2007). Sin embargo, como parte esencial del proceso agrícola, está el uso de fertilizantes y pesticidas como estrategia para contrarrestar afectaciones o incluso como una necesidad para incrementar la productividad de sus cultivos; razón por la cual esto también ha sido identificado como grave fuente de contaminación (Vodyanitskii, 2013).

Dinámica de los metales pesados en el suelo

Los metales pesados presentes en el suelo, generalmente pueden seguir cuatro diferentes vías de movilización (Figura 2). Éstos pueden quedar retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la fase acuosa o adsorbidos sobre constituyentes inorgánicos, asociados con la materia orgánica y/o precipitados como sólidos puros o mixtos. Pueden pasar a la atmósfera por volatilización, pueden movilizarse hacia aguas superficiales o subterráneas y pueden ser absorbidos por las plantas y así incorporarse a las cadenas tróficas (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

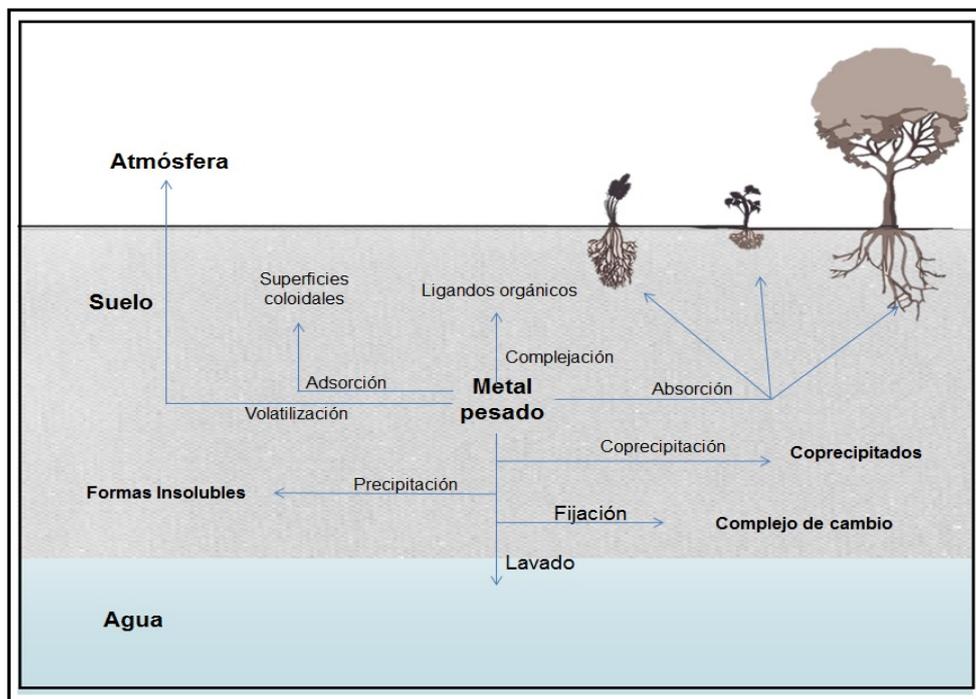


Figura 2. Movilización de los metales pesados en el suelo (Elaboración basada en Hernández, 2009).

La movilización de los MP en el ambiente, en suelo y en los seres vivos, es una condicionante importante de sus características de bioacumulación y transferencia hacia otros organismos en la red trófica, su potencial tóxico y sus efectos (Kevin *et al.*, 2001). Colombo *et al.*, (1998), comentan que la distribución de los MP en los perfiles del suelo, así como su disponibilidad está controlada por parámetros como propiedades intrínsecas del metal y características de los suelos.

Factores que afectan la biodisponibilidad y acumulación de los metales pesados

Una vez que los metales pesados se encuentran en suelos de cultivo, existen diferentes rutas por las cuales pueden moverse al resto del agroecosistema (ver Figura 2); esto dependerá de diversos factores como son los elementos químicos disponibles, pH y/o tipo de suelo, entre otros (Bautista-Cruz y Arnaud-Viñas, 2006); estos elementos su vez determinarán el riesgo potencial de biodisponibilidad de un metal en el suelo (Talavera *et al.*, 2005).

Los metales que se encuentran presentes en el suelo, no necesariamente están disponibles para las plantas y/o de manera general biodisponible para los organismos, esto es debido a que su absorción depende de varios factores y características físico-químicas del suelo (Fitter *et al.*, 1987), como pueden ser:

- **pH.-** El pH del suelo, es considerado uno de los principales factores que afecta la disponibilidad de la mayoría de los metales pesados al afectar el equilibrio entre la especiación metálica, solubilidad, adsorción e intercambio de iones en el suelo (McBride *et al.*, 1997; Kabata-Pendias, 2000; Reichman, 2002). Además, afecta el ingreso del metal a las raíces de las plantas (Rieuwerts *et al.*, 1998). Con excepción del Mo, Se y As, la biodisponibilidad de los metales pesados disminuye con el aumento del pH del suelo debido a su precipitación como hidróxidos insolubles, carbonatos y complejos orgánicos (Basta y Tabatabai, 1992; Alloway, 1995; Silveira *et al.*, 2003). En suelos ácidos, se produce una competencia de los iones de H⁺ con los cationes metálicos por los sitios de intercambio, produciéndose desorción de los metales pesados, aumentando su concentración en la solución suelo y su biodisponibilidad (Alloway, 1995).
- **Textura.-** La arcilla tiene un papel fundamental para la movilidad de los metales pesados. Suelos arcillosos tienden a adsorberlos, dejándolos retenidos en la superficie del suelo. Por el contrario los suelos arenosos carecen de capacidad de fijación de los metales pesados, los cuales pasan rápidamente al subsuelo y pueden contaminar los niveles freáticos (Hooda y Alloway, 1998). La mayor parte de las arcillas se caracterizan por tener cargas eléctricas, principalmente negativas, en su superficie que son responsables de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) del suelo, constituyendo un freno al movimiento de los cationes metálicos en la solución del suelo, de esta forma los metales permanecen por más tiempo en el suelo y disminuyen su solubilidad y biodisponibilidad (Kabata-Pendias, 2000).

- **Materia Orgánica.**- La formación de complejos por la materia orgánica del suelo es uno de los procesos que intervienen en la capacidad de solubilidad y asimilación de metales pesados por las plantas; la toxicidad de los metales pesados aumenta en gran medida por su fuerte tendencia a formar complejos organometálicos, facilitando con ello, su solubilidad, disponibilidad y dispersión (Schmitt y Stitch, 1991). La materia orgánica del suelo tiene gran cantidad de grupos funcionales (COO-, OH, C=C, COOH, SH, COOH) que adsorben los iones metálicos debido a su alta afinidad, formando complejos estables con ellos (González, 1995; Yin et al., 1996; Kabata-Pendias y Pendias, 2000). En general, las plantas no absorben complejos metálicos grandes por lo que su biodisponibilidad disminuye, sin embargo, pueden existir compuestos orgánicos solubles asociados a los metales pesados (Alloway, 1995).
- **Intercambio catiónico.**- En general cuanto mayor sea la capacidad de intercambio catiónico, mayor será la capacidad del suelo para fijar metales (Ahumada *et al.*, 1999).
- **Salinidad.**- El aumento en salinidad puede incrementar la movilización de metales pesados y su retención en el suelo, ya que normalmente, las sales tienden a dar pH alcalinos (Doménech *et al.*, 1997).

Bioacumulación de metales pesados

Al proceso de acumulación de metales pesados en un organismo una vez que éstos se encuentran biodisponibles, se le conoce como el proceso de bioacumulación, el cual se define como la cantidad total del contaminante que es absorbida y retenida por el organismo. Es el resultado de la asimilación y los procesos de pérdida. (Mussali-Galante, 2013; Newman, 2014; Jorgensen, 2016).

De acuerdo con Gutiérrez-Galindo *et al.* (1999), la acumulación de estos elementos en los organismos es un proceso complejo que depende de una gran variedad de factores tanto internos (inherentes al organismo) como externos (inherentes al metal). De los factores externos que juegan un papel determinante en la acumulación de los metales se pueden mencionar: la biodisponibilidad del metal, salinidad, pH, temperatura, humedad, naturaleza química, entre otros (Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1999; Guerrero, 2004). Dentro de los factores internos determinantes en la acumulación de metales se encuentran: la talla de los organismos, factores genéticos, características de historias de vida y los hábitos alimenticios (Moriarty, 1990; Laurinolli y Bendell-Young, 2006; Fratini *et al.*, 2008).

Una vez que los metales son bioacumulados por los seres vivos, estos tienden a transferirse y concentrarse sucesivamente a lo largo de toda la red trófica involucrada, incrementando conforme aumenta el nivel trófico en el que se encuentra. A este efecto multiplicador de bioacumulación se le denomina biomagnificación y representa un riesgo potencial para la salud de las especies involucradas debido a las implicaciones tóxicas de estos elementos (Guerrero, 2004).

Toxicidad de los metales pesados

La toxicidad de metales ha sido ampliamente estudiada, donde se ha reconocido que la relación entre la exposición y los subsecuentes efectos sobre la salud son un proceso de varias etapas, que incluye: la exposición externa, la dosis interna, los efectos biológicos tempranos, alteraciones en estructura y función celular, cambios fisiológicos y la aparición de la enfermedad (Vanden-Heuvel y Davis, 1999). En este contexto, varios metales son bien conocidos debido a su potencial carcinogénico, como el Cr, Cd, As, Ni y Co (Hartwig, 2001).

También se ha documentado que los metales son capaces de generar aberraciones cromosómicas, intercambios de cromátidas hermanas, formación de micronúcleos, oxidación y alquilación de bases nitrogenadas, entre otros (Rojas, 2009; Valavanidis *et al.*, 2009). Asimismo, se ha demostrado que la alteración de las enzimas involucradas en la reparación del material genético es un mecanismo común de toxicidad de diversos metales como el As, Cd, Co y/o Ni entre otros, generalmente por el intercambio de iones metálicos esenciales como el Zn, Mn, Ni y Co que comúnmente se encuentran en los centros catalíticos de este tipo de enzimas (Rossman, 2003). Estos efectos se extienden más allá del nivel individual, afectando otros niveles de organización biológica (Mussali-Galante *et al.*, 2013).

Toxicidad de los metales en plantas

La absorción de estos elementos por las raíces ocurre mediante dos procesos pasivo y activo. En el proceso pasivo los iones ingresan desde la raíz hasta la endodermis, desde la solución externa por un gradiente de concentración sin gasto de energía. La absorción activa requiere de un gasto de energía metabólica para ingresar los iones contra un gradiente químico (Kabata-Pendias, 2000). Por otra parte, la absorción de metales pesados por las plantas desde el suelo depende de la demanda (absorción) y del aporte del suelo (concentración en la solución suelo), esto quiere decir que los MP encuentran una limitante para su extracción por especies de plantas que está dada por la cantidad disponible en la solución del suelo (Van Leeuwen, 1999).

Este tipo de respuestas dependen principalmente de las características y el tipo de metal, además pueden variar entre especies vegetales, existen plantas que toleran concentraciones elevadas de metales en suelo, debido a que restringen su absorción y posterior translocación hacia las partes superiores (hojas). Por otro lado existen especies de plantas que absorben y acumulan metales pesados activamente en su biomasa (Baker y Walter, 1990; Barceló *et al.*, 2003; Vidal, 2009). No obstante lo anterior, las altas concentraciones de estos metales generan clorosis, crecimiento débil, reducción en la captación de nutrientes, además de desordenes metabólicos como consecuencia de un estrés oxidante; estas afectaciones son evidentes al observar un crecimiento reducido (Vidal, 2009; Monni *et al.*, 2001; Gardea-Torresdey *et al.*, 2005; Ruíz y Armienta, 2012).

La estructura y función de las plantas es afectada de manera específica por los MP, así podemos distinguir por ejemplo que un exceso de zinc puede tener efectos reductivos en el crecimiento de la raíz, además de causar clorosis (Rout y Dan, 2003). El plomo aún en bajas concentraciones disminuye el crecimiento de la raíz y reduce la producción de clorofila (Ivanov *et al.*, 2003). El cobre puede inhibir la fotosíntesis y los procesos reproductores, mientras que el arsénico interfiere con el proceso metabólico y disminuye la germinación de las semillas (Franco-Hernández *et al.*, 2010).

En los agroecosistemas la toxicidad de los metales depende principalmente del grado de bioasimilación y los mecanismos de evasión y tolerancia (Prieto *et al.*, 2009), según la forma en la que se encuentre el metal y las condiciones en el suelo, así será su disponibilidad para las plantas y por tanto la incorporación en la red trófica. Los efectos negativos que producen los metales pesados son diferentes, estos pueden generar efectos tóxicos sobre un organismo o ecotóxicos sobre la población, comunidad y/o ecosistema. Lo anterior puede o no suceder de manera inmediata, y generalmente ocurre en lugares cercanos a la fuente de contaminación; sin embargo, también puede haber efectos en sitios alejados donde también se pueden alterar diferentes ecosistemas a la vez (Ferrer, 2003; Albert, 2004). Las afectaciones en los organismos sean estas físicas o fisiológicas provocadas por la exposición a metales pesados, de forma generalizada, son el resultado de modificaciones producidas en los procesos bioquímicos (Ferrer, 2003; Maldonado *et al.*, 2011; Ruíz y Armienta, 2012).

Efectos genotóxicos de los metales pesados

Los mecanismos en que los metales pesados producen daño al ADN, generalmente son los siguientes: estrés oxidativo por la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), interferencia con las enzimas involucradas en el metabolismo de los ácidos nucleicos, alquilación de bases, formación de aductos y entrecruzamientos inter e intracadena (Hartwing, 1995; Cervantes-Ramírez, 2013; Mussali-Galante *et al.*, 2013).

El estrés oxidativo resulta por un desequilibrio entre la producción de ERO potencialmente tóxicas como el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^-) y las actividades de los sistemas de secuestro de éstas, en los que se incluyen enzimas como son la superóxido dismutasa, la catalasa, la peroxidasa y la peroxirredoxina. Cuando las ERO no son secuestradas, éstas reaccionan con el ADN oxidando el esqueleto azúcar-fosfato y las bases. Esta reacción con los azúcares provoca su fragmentación, que lleva a la pérdida de la base y al corte de la cadena. Asimismo, éstas pueden reaccionar con enzimas involucradas en los procesos de reparación del ADN cambiando su estructura y por lo tanto, si el daño es muy extenso no alcanza a ser reparado por completo y durante la replicación de ese segmento, las ADN polimerasas pueden incorporar bases equivocadas al leer la base oxidada, perpetuando así la alteración (Ramos *et al.*, 2006; Tapia y Araya, 2006).

Los aductos son lesiones premutagénicas que se producen por la unión covalente entre metales y átomos de nitrógeno y oxígeno de las bases nitrogenadas del ADN y la alquilación de bases involucra la unión de un grupo alquilo (metilo, etilo). En ambos casos, la base modificada puede ser eliminada del ADN, lo que produce escisión de la cadena o rompimiento de la misma. A partir de estos aductos, también se pueden producir entrecruzamientos inter e intracadena, lo que provoca un movimiento hacia el surco mayor de la doble hélice, causando una distorsión estructural que inhibe la síntesis y replicación del ADN (Hartwing, 1995; Mussali-Galante *et al.*, 2013).

Todas estas afectaciones han despertado gran interés por entender y evaluar los efectos negativos provocados por agentes potencialmente genotóxicos, para lo cual se han desarrollado diversas técnicas que permitan cuantificar el daño al ADN; por mencionar algunas de las más utilizadas están: aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas, micronúcleos y electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa (Prieto *et al.*, 2006); esta última tiene gran aceptación por su alto grado de sensibilidad, por la relativa rapidez con la que se puede realizar,

porque es posible utilizar cualquier tipo celular eucarionte, además de permitir la evaluación de células individuales y que la cantidad de muestra necesaria es pequeña (1.5×10^4 células) (Valverde *et al.*, 1999; Mussali, 2001; Márquez *et al.*, 2003).

Ensayo cometa - técnica de evaluación genotóxica

En 1984 se propuso al ensayo cometa como una técnica para la detección de daño genotóxico en células individuales por los científicos Ostling y Johanson. Consiste en una electroforesis en microgel, donde las células son cubiertas con agarosa y colocadas en una solución de lisis con base en detergentes; seguido de esto último, son sometidas a una corriente eléctrica, son marcadas con fluorocromos y finalmente observadas en un microscopio de fluorescencia, en donde las células se asemejan a la forma de un cometa; de ello deriva el nombre de la técnica. Con el paso del tiempo, la metodología ha tenido modificaciones con la finalidad de obtener mayor sensibilidad sobre la detección del daño genotóxico, así como adaptaciones a distintos tipos celulares, como pueden ser: en el pH de la solución de lisis, en el pH del amortiguador usado durante la electroforesis, en el voltaje de la electroforesis, en el tiempo de desenrollamiento de ADN y en el tiempo que transcurre durante la electroforesis (Mussali, 2001; Martínez-Pacheco, 2008; Cervantes-Ramírez, 2010).

En la actualidad existen tres versiones de esta técnica, cuya diferencia principal se basa en el pH de las soluciones utilizadas. Ostling y Johanson, (1984) presentan la primer propuesta con un pH neutro (7), para apreciar rompimientos de cadena doble del ADN. Posteriormente Olive *et al.*, (1990), modifica la solución de lisis con un pH alcalino (12.3), para la detección de rompimientos de cadena sencilla y sitios retardados de reparación. Finalmente Sigh *et al.*, (1998) propusieron un pH aún más alcalino (13), con esto es posible detectar rompimientos de cadena sencilla, sitios álcali lábiles y sitios retardados de reparación del ADN (Valverde *et al.*, 1999; Mussali, 2001; Martínez- Pacheco, 2008; Dhawan *et al.*, 2009; Cervantes-Ramírez, 2010). Por su versatilidad, rapidez y sensibilidad, se ha convertido en una herramienta ampliamente usada como biomonitor ambiental en diferentes especies bioindicadoras de contaminación y modelos biológicos (Shore, 1995; Cervantes-Ramírez, 2010).

Estudios realizados en Huautla, Morelos.

En la localidad de Huautla, se han estudiado los efectos que tienen los MP en los organismos que habitan en los jales o en sus cercanías (flora, fauna y población humana). Desde hace mas de 10 años, se llevan a cabo investigaciones que analizan los posibles efectos que pueden presentar los

organismos por la exposición a estos metales; en el Cuadro 1 se muestran sólo los últimos cinco años. Hasta ahora han observado: a) elevadas concentraciones de arsénico en el agua que utilizan los pobladores para consumo (9 veces por arriba de la norma nacional y 22 veces por arriba de la norma internacional), y altas concentraciones de As en sangre entera de estos mismos pobladores (60 µg/L), con respecto a los pobladores del sitio testigo, donde no se detectó al metaloide (Tovar-Sánchez *et al.*, 2016); b) Inducción de daño genético expresado como aberraciones cromosómicas, rompimientos de cadena sencilla de ADN en linfocitos de sangre periférica y micronúcleos en epitelio bucal de los pobladores que consumen el agua contaminada con respecto a la población testigo (Tovar-Sánchez *et al.*, 2016). Asimismo, en las poblaciones animales que habitan en los jales de Huautla se ha reportado: a) bioacumulación de metales (Zn, Ni, Fe, y Mn) en hueso e hígado de dos especies de roedores dominantes considerados como especies centinelas (*Peromyscus melanophrys* y *Biomys musculus*) respecto a los roedores del sitio testigo, b) Daño genético (rompimientos de cadena sencilla de ADN) elevado en ambas especies estudiadas con respecto a los individuos del sitio testigo y c) un efecto significativo del género (macho vs. hembra) sobre los niveles de daño genético, ya que las hembras fueron más susceptibles a los efectos de los metales en comparación con los machos (Tovar-Sánchez *et al.*, 2012).

Por su parte, Mussali-Galante *et al.*, (2013), en las poblaciones de *P. melanophrys*, se encontró: i) Un gradiente de bioacumulación de metales en muestras de riñones, es decir las poblaciones que habitan en el jale con mayor cantidad de metales, bioacumularon más metales con respecto a las poblaciones de roedores que habitan en el jale con menor concentración de metales. ii) Los mayores valores de diferenciación genética (*Fst* y *Rst*) y el menor número de migrantes por generación (*Nm*) se registraron entre las poblaciones expuestas, lo que demuestra un flujo genético reducido entre las poblaciones más contaminadas. Los análisis de distancia genética mostraron que la población más contaminada fue la más distinta genéticamente de las cinco poblaciones estudiadas. Más aún, se registró una relación negativa y significativa entre la diversidad genética (*He*, *IR*) y la concentración de cada metal y el índice de bioacumulación de metales en *P. melanophrys*. Este estudio demuestra que el estrés ambiental causado por metales, es uno de los factores principales que influye en los niveles y en la distribución de la diversidad genética de las poblaciones de *P. melanophrys* que habitan en los jales de Huautla, Morelos.

Utilizando a la comunidad de microartrópodos a través de un gradiente de distancia, Hernández Gómez, (2014), demostró que la exposición a MP (Cu, Pb y Zn) afectan los parámetros que determinan su estructura como comunidad en términos de riqueza, abundancia y diversidad

de las especies. Explicó que existe una relación negativa y significativa entre la concentración de metales en suelo y las propiedades emergentes de la comunidad (riqueza y abundancia de especies) de microartrópodos edáficos como ácaros y colémbolos. Lo que concuerda con lo reportado por González Brito, (2015), quien por medio de la comunidad de artrópodos, demostró que también presentan una respuesta ante el estrés que ocasionan los MP biodisponibles, igualmente afectando su estructura. La abundancia relativa de los artrópodos se ve afectada de manera positiva y significativa en los sitios más cercanos al jale.

Murillo Herrera, (2015), evaluó la relación entre el agente (mezcla de MP) y el daño genotóxico en células foliares de *Prosopis laevigata* establecidas sobre los jales. El autor registró una elevada concentración foliar de MP y elevados niveles de daño al ADN (rompimiento de cadena sencilla) ocasionado por el largo periodo de exposición a MP. Lo que más tarde es reforzado con lo registrado por Hernández Lorenzo, (2015), que encuentra biomagnificación de Cu y Pb sobre estructuras foliares en la misma especie y una reducción en las medidas morfológicas ocasionado por esta misma exposición. Recientemente el primer estudio sobre bioacumulación e impacto sobre la estructura y diversidad genética en esta especie por exposición a MP realizado por Fuentes – Reza, (2017), encontró concentraciones biodisponibles de Cu, Pb y Zn, además de un mayor enriquecimiento foliar para cobre y plomo.

Los últimos estudios sobre Bioacumulación, daño genotóxico y cambios en la morfología foliar de *Acacia farneciana* que no es hiperacumuladora de Cu, Pb y Zn en la zona, los realizó Santoyo, (2016); quien registró un enriquecimiento de Cu en las poblaciones asociadas a los jales. La exposición crónica de la especie a metales pesados presentes, son causantes de un daño genotóxico significativamente mayor en comparación con el testigo.

Cuadro 1. Investigaciones realizadas en la localidad de Huautla, Morelos, durante los últimos cinco años.

REFERENCIA	SISTEMA DE ESTUDIO	EVALUACIONES
Tovar-Sánchez <i>et al.</i> , 2012	<i>Peromyscus melanophrys</i> y <i>Baiomys musculus</i>	[] As, Pb, Cd, Hg, Ni, Cu y Al Daño genético.
Mussali-Galante <i>et al.</i> , 2013	<i>Peromyscus melanophrys</i>	Menor diversidad genética en poblaciones expuestas respecto a los testigos Menor densidad de roedores en sitios expuestos.
Hernández-Lorenzo, 2015	<i>Prosipis laevigata</i>	Reducción en caracteres macro y micromorfológicos
González-Brito, 2015	Artrópodos	Relación negativa y significativa entre la cercanía al jal y la diversidad de artrópodos.
Hernández-Gómez, 2014	Microartrópodos	Relación negativa y significativa entre la cercanía al jal y la diversidad de

		microartrópodos.
Murillo, 2015	<i>Prosipis laevigata</i>	Mayor daño genético en poblaciones expuestas respecto a los testigos.
Santoyo, 2016	<i>Acacia farnesiana</i>	Mayor daño genético en poblaciones expuestas respecto a los testigos. Reducción en los caracteres macromorfológicos. [] Pb, Zn y Cu
Castañeda-Bautista, 2016	<i>Pithecellobium dulce</i>	Reducción en caracteres macromorfológicos foliares. Mayor daño genético en poblaciones expuestas respecto a Poblaciones testigo.
Tovar – Sánchez <i>et al.</i> , 2016	Humanos	[] As, rompimiento de cadena sencilla y aberraciones cromosómicas.
Solís-Miranda, 2016	Aislamiento de bacterias	Biodisponibilidad de Pb, Zn, Cd, Fe, Mn y Cu Relación con materia Orgánica.
Fuentes – Reza, 2017.	<i>Prosopis laevigeta</i>	Cu, Pb, Zn Bioacumulación sobre efectos en la estructura y diversidad genética – Fitorremediación.

Genotoxicidad en *Zea mays* L..

De manera general, se ha reportado que el estrés por metales afecta la fotosíntesis y reproducción de esta especie. Particularmente, el plomo reduce la producción de clorofila, mientras que el arsénico interfiere con el proceso metabólico y disminuye los porcentajes de germinación de las semillas (Monni *et al.*, 2001; Franco-Hernández *et al.*, 2010). Lo que en consecuencia, se ha relacionado con una menor tasa de crecimiento y adecuación (Gardea-Torresdey *et al.*, 2005).

Independientemente de la variedad de maíz estudiada, se ha comprobado que existe relación positiva y significativa entre el aumento en las concentraciones de metales con la mayor cantidad de anomalías mitóticas, así como un descenso en el índice mitótico y elevación en el número de micronúcleos y aberraciones cromosómicas (Erturk *et al.*, 2013). Otros estudios realizados muestran el nivel genotóxico de los metales (Cuadro 2). Por su parte, Cuevas G. y Walter I., (2004), realizaron una evaluación de dos años de duración, para estudiar la absorción y la distribución de metales pesados (Cu, Zn, Ni, Cd, Pb y Cr) en esta especie (*Zea mays*), cultivadas en un suelo calcáreo enriquecido con diferentes dosis de compost de lodo residual. Analizaron también los metales asimilables en el suelo con el fin de determinar el efecto residual y la movilidad de estos. El resultado fue que la cantidad de metales pesados aportados por el compost no representó, en condiciones experimentales, ningún riesgo para el buen desarrollo del maíz y los contenidos de estos en las diferentes partes de la planta no superaron el umbral de tolerancia que pudiera causar efectos tóxicos al ser consumidos por el ganado. La concentración de los metales

asimilables en el suelo no mostró diferencias significativas entre los tratamientos con compost y estos no fueron diferentes significativamente con respecto al fertilizante mineral. La aplicación del compost como mejora orgánicamineral a un suelo con alto valor en CaCO_3 , no afecta la calidad de la planta de maíz ni causa problemas ambientales a corto plazo.

Pastor *et al.*, (2009), analizaron zonas de pastizales expuestas a metales pesados por actividades mineras abandonadas, que han sido sustituidas por cultivos forrajeros. El objetivo era conocer la respuesta del maíz a este tipo de situaciones; realizaron un bioensayo en mesocosmos bajo condiciones controladas durante 3 meses, sobre suelos con las anteriores características. El maíz fue sembrado dos años después de que se cosecharan a ras del suelo los pastos existentes en el banco de semillas de los mesocosmos utilizados. Los resultados muestran la excelente capacidad de extracción de los metales que tiene esta especie todavía presentes en los mismos. Encontraron que las hojas del maíz acumulan elevada dosis de metales cuando crece en suelos contaminados, por lo que consideraron a esta especie como una planta acumuladora de Cd, As, Cu, Mn, Pb y Zn, y apta para fines de fitorremediación de suelos contaminados. Dadas las altas concentraciones encontradas en las partes aéreas principalmente, consideran muy importante valorar las consecuencias que tendría esta especie utilizada como forrajera, si se cultiva en este tipo de suelos contaminados por metales.

Ruiz y Armienta, (2012), determinaron las concentraciones de As y metales pesados Pb, Zn, Cu, Fe, Cd, en sustratos con influencia de jales mineros, también evaluaron la acumulación y los efectos en el desarrollo del maíz (*Zea mays* L.), bajo condiciones controladas (temperatura, humedad relativa y radiación solar) por 70 días; así como las concentraciones de metales para plantas de 30 días. Plantas con mayores concentraciones de As y metales (metales y metaloides tóxicos, MMTOX), mostraron síntomas visibles de afectación como: necrosis, clorosis, adelgazamiento de las hojas e inhibición del crecimiento. A los 70 días de crecimiento, el Zn presentó concentraciones de 54.7 a 3555.4 mg/kg y el Pb de 11.1 a 320.3 mg/kg; 30.8 a 519.8 mg/kg para Zn y de 3.7 a 38.5 mg/kg de Pb., en las partes aéreas y raíces respectivamente. A los 30 días los contenidos de Zn y Pb oscilaron entre 88.9 y 504.8 mg/kg y 25.2 y 300.9 mg/kg, respectivamente en raíz, en la parte aérea las concentraciones para Zn fueron de 15.5 a 555.6 mg/kg y para Pb de 2.2 a 10.8 mg/kg. Las plantas crecidas en suelos agrícolas lejanos a los jales tuvieron mejor crecimiento (46 cm promedio) con respecto a las crecidas en los jales (24 cm promedio). Comprobaron que las afectaciones al desarrollo del maíz por MMTOX son mayores en

áreas cercanas a los jales, pues la planta es susceptible de acumularlos, lo que altera su crecimiento y desarrollo, que son visibles en su apariencia por los efectos fitotóxicos.

En un estudio realizado en el 2013, Cervantes- Ramírez observó mediante el ensayo cometa, que organismos de *Zea mays* expuestos a metales pesados derivados de jales mineros muestran un efecto genotóxico mayor, representado en rompimientos de cadena sencilla, que individuos no expuestos a estos contaminantes. Observó también que existen diferencias significativas en la inducción de daño genotóxico por estructura vegetal, siendo mayor la presencia en las hojas, seguidas por el embrión y finalmente la raíz.

Cuadro 2. Estudios con metales pesados y sus efectos en *Zea mays*.

Proyecto	Especie de maíz	Metales pesados	Metodología	Resultados	Autor
Metales pesados en maíz (<i>Zea mays</i> L.) cultivado en suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual	<i>Zea mays</i> L. Florencia (ciclo corto)	Cu, Zn, Ni, Cd, Pb y Cr	Extracción con ácido dietilentriamino pentaacético (DTPA) y en solución Espectrometría de emisión de plasma ICP (Perkin Elmer AEE 400)	Las concentraciones de metales pesados asimilables a lo largo del perfil del suelo no presentaron en ningún caso diferencias significativas entre los tratamientos con compost de lodo frente al tratamiento con fertilizante mineral, ni con los valores obtenidos en el suelo antes de iniciar la experiencia (año 0).	Cuevas y Walter, 2004
Respuesta del maíz (<i>Zea mays</i>) en suelos contaminados por metales pesados después de crecer una comunidad de pasto	<i>Zea mays</i>	Al, Mn, Zn, As y Cd	Bioensayo en mesocosmos. As por fluorescencia de rayos X., los metales mediante ICP-OES	Predominio de Zn y Pb, el Fe, Mn, Zn, Pb y Cd correlacionados entre sí positivamente. Suelos con Cu, correlacionados entre sí positivamente Zn, Cu y Cd, éste último con el Cr. Mn está correlacionado positivamente con Cd y Ni. Donde predominan Zn y Pb, el pH correlacionado positivamente con Al, Fe, Mn, Cu y As de las raíces. El Mn, Zn, Pb y Cd de partes aéreas correlacionados positivamente con sus contenidos en raíces. Donde el Cu es mayoritario, el Fe, Zn, Cu, Cd y Ni están correlacionados positivamente con los de las partes aéreas. Mn y Cd de raíces correlacionados positivamente con los de las partes aéreas. Cu y Al correlacionados positivamente con éstos en las raíces. Hojas susceptibles de acumular MP. pH del suelo determina capacidad de bioacumulación.	Pastor et al., 2009.
Acumulación de arsénico y metales pesados en maíz en suelos cercanos a jales o residuos	<i>Zea mays</i> L. variedad H-515	Pb, Zn, Cu, Fe, Cd y As	Espectrofotometría de absorción atómica por llama (AAAnalist 100, Perkin Elmer) y para As por generación de hidruros	Zn y Pb con mayor concentración en sustratos y acumulación en plantas. El As con concentraciones altas en todas las unidades experimentales. En las plantas, la mayor acumulación fue en raíces de 30 días. Las [] de metales y metaloides tóxicos en las	Ruiz y Armienta, 2012

mineros				plantas fueron Zn> Pb> Cu> Cd> As. La acumulación de estos fue raíz> parte aérea.	
Genotoxicidad en <i>Zea mays</i> y <i>Eisenia foetida</i> asociados a agroecosistemas expuestos a jales mineros en Santa Rosa, Guerrero.	<i>Zea mays</i> híbrido H-515	Ag, As, Cd, Pb, Ti, V, Al, Cr, Cu, Fe Mn, Ni, Zn	Electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa alcalino (pH 13)	Efecto significativo del sitio (testigo vs jale) en la inducción de rompimientos de cadena sencilla observable mediante la longitud de cauda de los cometas, los sitios con Riego-temporal presentaron la mayor longitud, seguidos por las parcelas Temporal expuestas (testigo<Temporal<Riego-Temporal), por otro lado encontró menor daño en testigo < Riego-Temporal expuesto < Temporal expuesto	Cervantes - Ramírez, 2013

El maíz criollo en México

En la Región Sur de México que incluye a los Estados de Chiapas, Oaxaca, Guerrero y Morelos entre otros, se localizan cerca del 68% de las 59 razas de maíz criollo (Sánchez *et al.*, 2000). En general, las comunidades utilizan el maíz criollo por los bajos costos que representa su producción, los cuales son significativamente más bajos comparados con maíces no adaptados, además los pobladores la prefieren por su calidad tortillera y sabor, así como por sus usos religiosos (Vázquez *et al.*, 2003). Se ha reportado que por lo menos existen cerca de 165 maíces criollos tipo Ancho y 100 tipo Pepitilla (Serratos-Hernández, 2012). Por su parte, la SEMARNAT a través del PROMAC, documenta que México contiene razas de maíz criollo que se encuentran en peligro de extinción, como es el caso de la raza pepitilla y maíz ancho (CONANP, 2016).

En el 2008 la discusión en las mesas de trabajo del Gabinete Social de la Presidencia de la República, se centraron en el tema de la conservación *in situ* de los maíces criollos y sus parientes silvestres. Es así como la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, junto con la Dirección General del Sector Primario y Recursos Naturales Renovables de la SEMARNAT, y la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), diseñaron el Programa de Conservación de Maíz Criollo – PROMAC por sus iniciales. A partir de 2009, la CONANP es la responsable de la administración y operación del PROMAC, con el objetivo de promover la preservación y recuperación de razas y variedades de maíz criollo y sus parientes silvestres en sus entornos naturales, en los diferentes sistemas de cultivo de acuerdo con las regiones y costumbres, mediante apoyos dirigidos a la conservación *in situ*, actividades para el fortalecimiento comunitario, promoción y fomento de la agrobiodiversidad, y proyectos productivos asociados (CONANP, 2016).

A partir de 2013, fue aceptada la Ley de Protección y conservación del maíz criollo en Morelos, la cual tiene por objeto regular la protección y conservación del maíz en su estado genético para el Estado, promover el desarrollo sustentable del maíz morelense y la productividad, competitividad, sanidad y biodiversidad del maíz, así como, establecer los mecanismos de fomento y protección al maíz, en cuanto a su producción, comercialización, consumo y diversificación constante como patrimonio alimentario del Estado de Morelos. En Morelos el maíz adquiere suma importancia ya que su producción no abastece la demanda, pues del 2010 al 2014 se produjeron 93,577 toneladas, mientras que la demanda fue de aproximadamente 200,000 toneladas, cubriendo la diferencia con otros Estados (SIAP-SAGARPA). El rendimiento de Morelos en promedio es de 3.2 t/ha. (P.O. Tierra y Libertad, 2014)”.

JUSTIFICACIÓN

Si bien, la minería trae consigo grandes beneficios para cierta parte de la población, también es cierto que inevitablemente, la realización de esta actividad sin una planeación adecuada para provocar el menor impacto al medio ambiente, puede ocasionar daños irreversibles para en la zona.

Existen datos que muestran concentraciones elevadas de diferentes metales en suelo, agua y jales de Huautla, Morelos (SEMARNAT, 2004, 2005). En particular, los metales pesados contenidos en los jales de Huautla tienden a dispersarse fácilmente por el aire principalmente y el agua, depositándose en suelos de traspatio que son utilizados como parcelas de cultivo, mayoritariamente de maíz (CONANP, 2016), quedando susceptibles de ser absorbidos por estos cultivos, debido a que los metales pesados interaccionan con ellos fácilmente por ser ricos en compuestos orgánicos, lo que favorece su liberación y biodisponibilidad (Vázquez, 2010), contribuyendo con esto a su contaminación, sin embargo, no hay información acerca de posibles daños sobre estos cultivos.

Toda vez que esta especie, además de ser considerada como bioindicadora (Ruíz *et al.*, 2012), representa el alimento base para la población, sin menos preciar el valor socioeconómico que para éstos representa (CONANP, 2016); así como, el impacto derivado de la presencia de estos relaves en la zona (Mussali-Galante *et al.*, 2013; Tovar-Sánchez *et al.*, 2016), es de suma importancia evaluar si los suelos de los traspacios de las casas de Huautla que son utilizadas para cultivo contienen metales pesados solubles y si éstos son bioacumulados por las plantas cultivadas como el maíz. Además, de saber si la bioacumulación de metales promueve efectos negativos

sobre el material genético y con los resultados obtenidos contribuir a la generación de las bases para una propuesta de mitigación.

HIPÓTESIS

Si los metales pesados contenidos en los jales de Huautla, Morelos están biodisponibles y se dispersan por efecto del aire principalmente y agua, se espera encontrar una relación negativa entre la lejanía al jal y las concentraciones de metales pesados en suelo, individuos de *Zea mays* L. y daño al ADN (fruto).

OBJETIVO

Objetivo general

Evaluar la bioacumulación de metales pesados y el daño genotóxico en *Zea mays* L. (Maíz criollo, raza pepitilla) en un gradiente de distancia de los jales a través del poblado de Huautla, Morelos.

Objetivos particulares

➤ Determinar la concentración de metales (As, Pb, Cd y Zn), a través de un gradiente de distancia a partir de los jales en suelos del poblado de Huautla, Morelos mediante espectrofotometría de plasma masas.

➤ Definir la concentración de metales (As, Pb, Cd y Zn) absorbidos por los ejemplares de maíz criollo (*Zea mays* L., raza pepitilla) expuestos a estos suelos, utilizando microparcels a través de un gradiente de distancia a partir de los jales en terrenos del poblado de Huautla, Morelos.

➤ Evaluar el daño genético por rompimientos de ADN en maíz criollo (raza pepitilla), a través de un gradiente de distancia a partir de los jales en suelos del poblado de Huautla, Morelos, por medio de la técnica de electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa).

➤ Formular una propuesta de mitigación de los daños genéticos causados por la acción de metales pesado, que integre los resultados obtenidos en estudios previos y los logrados en este proyecto, para los habitantes del poblado de Huautla, Morelos.

METODOLOGÍA

Zona de estudio

Jale principal. Es el más grande de la zona (180 × 80 m) y se encuentra a 18°26'36.37"N–99°01'26.71" O. Se localiza a 500 m del poblado de Huautla (Figura 3) y ha sido el jal más

estudiado en cuanto a sus características físico-químicas y contenido de metales. Está rodeado de selva baja caducifolia (Rzedowski, 2006), los valores de pH varían de 6.2 a 7.0, presenta una capacidad de intercambio catiónico 30.1 cmol(+)/kg, y el tamaño de partícula predominante es <math><45 \mu\text{m}</math> (44.2 %), siendo esta fracción donde la mayor cantidad de metales está contenida [As (31.9 %), Cd (26.0 %), Pb (30.7 %), y V (29.1 %)] (SEMARNAT, 2004, 2005).

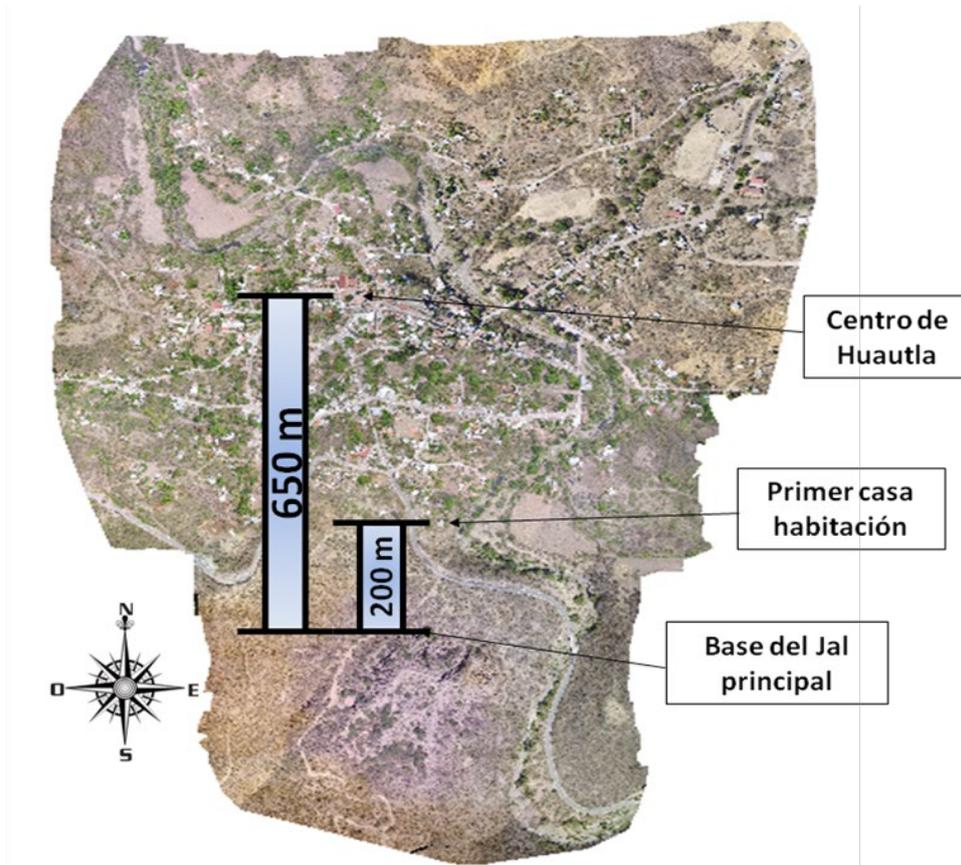


Figura 3. Mapa de la ubicación del Jal con respecto al pueblo de Huautla, Morelos.

Selección de los sitios de estudio

Vuelos sobre Jale - Huautla

Para poder establecer la ubicación de la comunidad de Huautla, Morelos con respecto al jale, realizamos vuelos sobre la zona de estudio en Dron marca DJI, modelo Phantom 3 Advanced, a través de su cámara FC300s, obtuvimos imágenes con una resolución de 4000 x 3000 pixeles, lo que permitió ver claramente el sitio de siembra. Se obtuvieron 681 cuadros del poblado de Huautla; se utilizó el programa Pix4D mapper para obtener un mapa detallado (figura 3) de los sitios de interés (poblado de Huautla-jale).

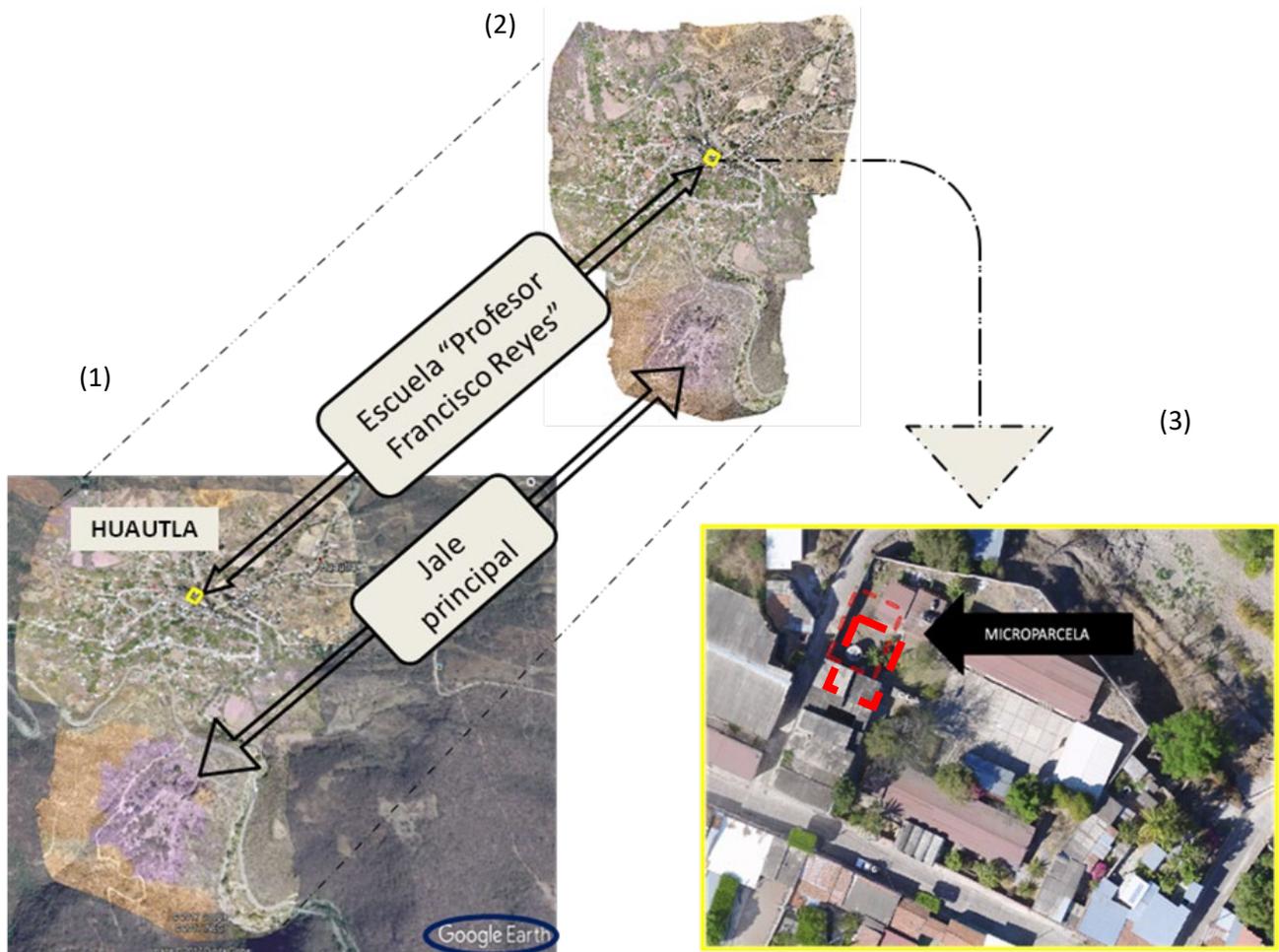


Figura 4. (1) Mapa de Google Earth del poblado de Huautla, Mor., (2) Mapa obtenido con el programa Pix4D, (3) Fotografía tomada por el Dron DJI, Phantom 3 Advanced, de la escuela "Profesor Francisco Reyes", donde se ubicó una de las microparcels.

Ubicación de microparcels

Ubicados en la base del jale principal en dirección al poblado de Huautla, se trazó un transecto de 1,200 m, con seis puntos separados de manera equidistante cada 200 m, para abarcar con esa distancia al poblado en dirección sur-norte, estableciendo así un gradiente de distancia. Al mismo tiempo, en cada gradiente establecido se ubicaron siete microparcels (traspasio de las casas) separadas cada 100m en dirección este-oeste, para tener un total de 35 sitios o microparcels (figura 4); con esto se formó un cuadrante de 600m de este a oeste y 800m de sur a norte, comenzando 200m delante del jale principal (lado norte del relave) sobre la comunidad. El diseño del muestreo se basó en la dirección que toman los vientos dominantes en la región, que son de sur a norte con variantes que van del sur al este u oeste, incluso de este a oeste (SMN EMAS, 2018; meteored.mx).

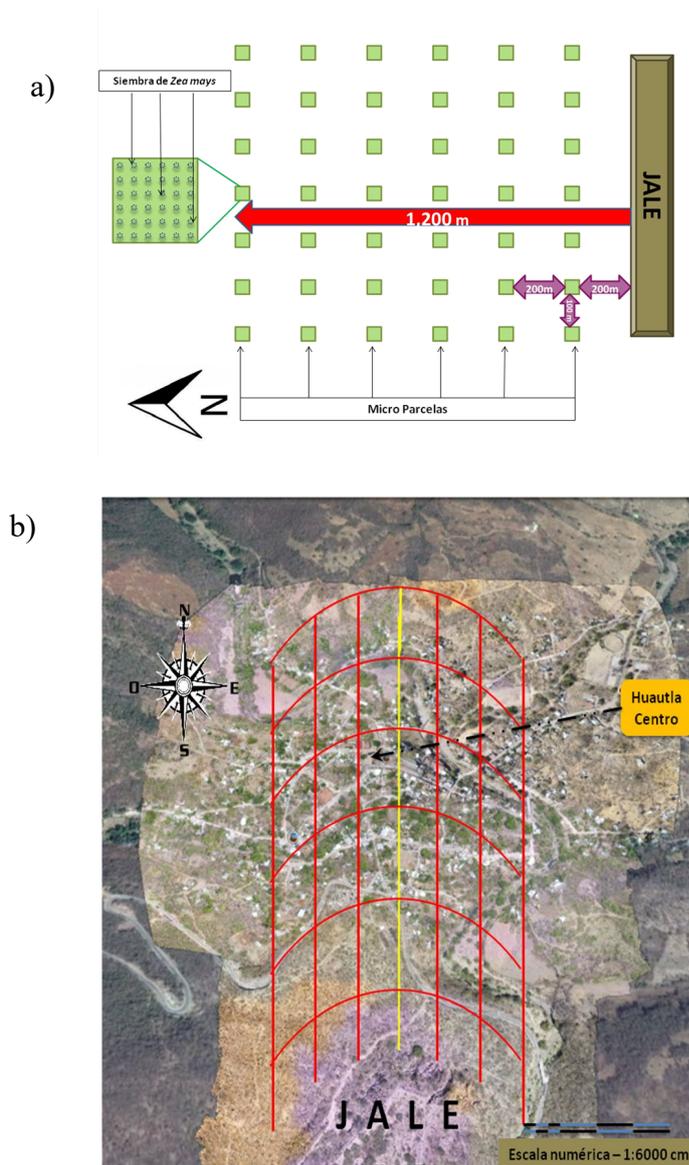


Figura 5. a) Distribución de los sitios de estudio (microparcels); **b)** Ubicación de las microparcels en Huautla, Morelos.

Siembra del maíz

Después de que la propuesta fue presentada al Comité del Comisariado Ejidal de Huautla, que es quien representa la máxima autoridad local, la misma dio su autorización para la ubicación física de los sitios de siembra. Una vez ubicados en el sitio de siembra (traspatio), se buscó la zona con mayor protección contra animales como gallinas, cerdos y/o chivos y borregos principalmente. Así mismo se buscó la zona con el mayor tiempo de exposición a la luz solar; es importante mencionar que la distribución de la siembra se hizo tratando de ocupar el menor espacio posible, evitando invadir espacios útiles para los dueños del lugar. Así en cada microparcelsa se sembraron 30 individuos de la raza pepitilla. La semilla utilizada para los cultivos de maíz fue donada por beneficiarios del PROMAC de la CONANP en Huautla, Morelos. La siembra se realizó en 35

diferentes traspatios de las viviendas de la comunidad (Cuadro 3) a principios del mes de julio de 2017.

Cuadro 3. Habitantes del ejido de Huautla que prestaron sus traspatios para la siembra de maíz.

NOMBRE	CLAVE MICROPARCELA	GEOREFERENCIACIÓN
Hilario Olguín	0.1 – izquierda	N – 18°26′15.9″ W – 99°01′25.3″
Reyes Flores	0.2 – izquierda	N – 18°26′17.6″ W – 99°01′27.8″
Estefanía Olguín	0.3 – izquierda	N – 18°26′20.1″ W – 99°01′36.0″
Noé Fernández	0	N – 18°26′13.55″ W – 99°01′20.88″
Jaime Sánchez	0.1 – derecha	N – 18°26′15.4″ W – 99°01′13.9″
Javier Sánchez	0.2 – derecha	N – 18°26′17.9″ W – 99°01′12.2″
Máximo Sánchez	0.3 – derecha	N – 18°26′13.9″ W – 99°01′09.0″
Noé Moran	1.1 – izquierda	N – 18°26′20.9″ W – 99°01′22.8″
Bernardino Olguín	1.2 – izquierda	N – 18°26′20.0″ W – 99°01′27.90″
Artura Rivera	1.3 – izquierda	N – 18°26′22.0″ W – 99°01′29.0″
Santos Palacios	1	N – 18°26′20.2″ W – 99°01′20.0″
Juana Mendiola	1.1 – derecha	N – 18°26′19.4″ W – 99°01′15.6″
Eliut Morán	1.2 – derecha	N – 18°26′22.7″ W – 99°01′14.0″
Anauh Barrera	1.3 – derecha	N – 18°26′20.8″ W – 99°01′8.7″
Facundo Ponce	2.1 – izquierda	N – 18°26′26.2″ W – 99°01′23.4″
J. Isabel García	2.2 – izquierda	N – 18°26′26.8″ W – 99°01′30.2″
Simón Muñoz	2.3 – izquierda	N – 18°26′27.9″ W – 99°01′32.4″
Isaías Vara	2	N – 18°26′26.68″ W – 99°01′21.32″
Mtra. Briseida (escuela)	2.1 – derecha	N – 18°26′30.6″ W – 99°01′19.0″
Víctor Marbán	2.2 – derecha	N – 18°26′26.66″ W – 99°01′14.49″
Mauro Abundes	2.3 – derecha	N – 18°26′29.9″ W – 99°01′10.0″
Pedro Rivera	3.1 – izquierda	N – 18°26′33.26″ W – 99°01′24.85″

Emiliano Alquicira	3.2 – izquierda	N – 18°26'32.6" W – 99°01'30.4"
José A. Alquicira	3.3 – izquierda	N – 18°26'33.33" W – 99°01'31.65"
José Luis Vara	3	N – 18°26'32.2" W – 99°01'19.3"
Alberto Orea	3.1 – derecha	N – 18°26'32.0" W – 99°01'16.1"
Efrén Barrera	3.2 – derecha	N – 18°26'33.17" W – 99°01'14.64"
José Trujillo	3.3 – derecha	N – 18°26'33.6" W – 99°01'11.8"
David Alquicira	4.1 – izquierda	N – 18°26'40.9" W – 99°01'25.9"
Sergio Jiménez	4.2 – izquierda	N - 18°26'39.5" W – 99°01'32.8"
Luis Alquicira (la maquina)	4.3 – izquierda	N – 18°26'41.3" W – 99°01'32.8"
Juan Villegas (Juanito)	4	N - 18°26'40.9" W – 99°01'23.2"
Mario Villegas	4.1 – derecha	N – 18°26'41.5" W – 99°01'22.6"
Modesto Leiva	4.2 – derecha	N – 18°26'39.7" W – 99°01'17.5"
Carlos Cervantes	4.3 – derecha	N – 18°26'39.73" W – 99°01'11.44"

Criterios de inclusión

Los criterios de selección para los sitios de cultivo (microparcels) fueron:

- 1.- Condiciones edáficas similares.
- 2.- Mismo origen de semilla [*Zea mays* L. (raza pepitilla) proporcionada por el Programa de Conservación de Maíz Criollo].
- 3.- Misma fecha de siembra y cosecha.
- 4.- Sin aplicación de agroquímicos.
- 5.- Mismo tipo de manejo hídrico (temporal)
- 6.- No estar expuesto a animales domésticos (vacas, gallinas, etc.).

Historia natural de *Zea mays* L..

En México existen cerca de 700 derivados del maíz, dato importante si tomamos en cuenta que junto con el frijol, aporta el 75% de la ingesta calórica de los campesinos de zonas rurales, se puede producir en prácticamente todas las regiones agrícolas, con diferentes sistemas de producción y durante todo el año (CONANP, 2016). Una aproximación al entendimiento del maíz ha sido seleccionar las principales unidades (tipos o formas) que le caracterizan y a las que se han

denominado razas. El término raza se ha utilizado en el maíz para agrupar individuos o poblaciones que comparten características en común, de orden morfológico, ecológico, genético y de historia de cultivo, que permiten diferenciarlas como grupo (Anderson y Cutler, 1942; Harlan y de Wet, 1971; Hernández y Alanís, 1970).

***Zea mays* L. - Raza Pepitilla**

La raza primaria nombrada “pepitilla” pertenece al grupo de los dentados tropicales (CONANP, 2016), la cual incluye razas agrónomicamente importantes del sur de México, distribuidas principalmente en regiones intermedias y de baja altitud (Sánchez, 1989).

Las regiones donde se siembran las razas Pepitilla, coinciden con las áreas de distribución de teocintle (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) de la cuenca del Balsas; y Celaya con los teocintles de la Mesa Central (*Zea mays* ssp. *mexicana* raza Mesa Central) (Wilkes, 1977; CONABIO, 2011). Es característico de esta raza sus mazorcas de forma cónica de olote delgado con numerosas hileras de granos, alargados y puntiagudos, similares a las pepitas de calabaza. Presenta una gran variación morfológica en grosor de mazorca, número de hileras (18 a 30), tamaño y color de grano. Su centro de distribución, donde se han colectado sus variantes típicas, ocurre entre el sur de Morelos, suroeste de Puebla y norte de Guerrero. Se adapta a suelos delgados, marginales y de ladera. Por estas razones es posible encontrar su influencia en germoplasma del altiplano en las razas Cónico Norteño, así como en material de subtrópico y trópico, esto quizás por su buena combinación con otros germoplasmas divergentes y/o su aportación de características que interesan a los agricultores como profundidad de grano, número de hileras, calidad de tortilla, etc. (Wellhausen *et al.*, 1951; CONABIO, 2010).

Programa de Conservación de Maíces Criollos

En particular, el PROMAC 2016 otorgó recursos destinados al apoyo de las especies de interés, ya sea por su mayoritaria preferencia en su uso o con un alto grado de riesgo y de las cuales es necesaria su conservación (Cuadro 4). Para este apoyo, fueron seleccionadas diferentes especies, subespecies, razas y variedades de teocintle, tripsacum y maíz criollo (*Zea mays* subespecie *mays*); en este último grupo encontramos a la raza pepitilla. Además, el PROMAC consideró al Estado de Morelos, específicamente a la REBIOSH como Región prioritaria para la conservación en tres municipios, entre ellos Tlaquiltenango en la localidad de Huautla.

Muestreo de suelo e individuos de *Zea mays* L. (raza pepitilla) en el poblado de Huautla, Morelos

Muestreo de suelo.

En cada una de las 35 viviendas elegidas, se tomaron muestras de suelo (traspacios) con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Las muestras se tomaron con pala de acero inoxidable para evitar contaminación, se colectó un kilo de cada muestreo a 30 cm de la superficie. Posteriormente, se almacenaron en bolsas de plástico y se etiquetaron para su identificación.

Muestreo de plantas de maíz (*Zea mays* L. - raza pepitilla)

El muestreo de maíz (seis individuos adultos colectados de forma aleatoria en cada microparcela, de los cuales se analizaron hojas frutos y raíz, en cada caso las muestras fueron homogenizadas para determinar los MP) se realizó con apego a lo señalado por NOM-117-SSA1-1994, que establece los métodos de prueba para la determinación de distintos metales en alimentos, por espectrometría de absorción atómica. En este caso fueron utilizados 30g de las hojas, 30g del fruto y 30g de raíz, los cuales fueron colocados en bolsas de papel etiquetados. Las muestras obtenidas fueron transportadas al Laboratorio de Marcadores Moleculares del CIByC - UAEM. Posteriormente, se secaron a 60°C hasta obtener un peso seco constante. Se tomaron 15 g de cada muestra para ser pulverizada. Las muestras serán digeridas por vía húmeda, con HNO₃ suprapuro concentrado bajo presión, en horno microondas, diluyéndose posteriormente el extracto líquido obtenido con agua destilada para el del tipo y contenido de metales.

Con lo antes descrito se espera obtener un mapa de riesgo del poblado con respecto a la contaminación de metales proveniente de los jales, categorizándolos en: a) zona 1 o próxima a los jales, que representaría la máxima contaminación; b) zona 2 o intermedia, y c) zona 3 o más alejada integrada por los sitios con baja contaminación.

Aislamiento de núcleos vegetales de individuos de maíz raza Pepitilla

Para el aislamiento de núcleos individuales, las muestras de tejido se lavaron, secaron y colocaron en cajas de Petri sobre hielo con 200 µl de un amortiguador frío (PBS), a las cuales se les hicieron

10 cortes de 1 mm de grosor y se dejaron reposar para que los núcleos se precipitaran. Posteriormente se tomaron 100 μ l de la suspensión y se mezcló con agarosa de bajo punto de fusión al 1% y seguido del protocolo para el ensayo cometa alcalino, el cual se describe a continuación (Rojas *et al.*, 1999).

Electroforesis unicelular alcalina o “ensayo cometa”

La electroforesis se realizó a pH 13 (Singh *et al.*, 1998). Una vez realizada la mezcla de la suspensión de núcleos vegetales con agarosa de bajo punto de fusión (LMPA), se tomaron 80 μ l de esta solución para colocarlos sobre un portaobjetos con una monocapa previa de agarosa de punto de fusión regular. Posteriormente, fueron cubiertos con un cubreobjetos y se mantuvieron a 4°C por 5 minutos en condiciones de oscuridad, transcurrido este tiempo se retiró para que finalmente se le aplicara una capa final de 80 μ l de LMPA al 0.5% a 4°C por otros 5 minutos. Seguido de lo anterior, los geles se colocaron en una solución de lisis fría (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Trisma-base pH 10) aforada a 100 ml con 1 % Tritón-X y 10 % DMSO 10% en vasos *Koupling* a 4°C por 1h, subsiguientemente, los geles se colocaron en la cámara de electroforesis cubiertos con un amortiguador alcalino frío [NaOH (300 mM) + 1 mM EDTA] a pH 13.0 por 20 minutos, este proceso ayuda al desenrollamiento del ADN. La electroforesis se llevó a cabo a 300 mA y 25 Volts por 20 minutos en condiciones de oscuridad. Finalmente, los geles fueron lavados con un amortiguador neutralizante conocido como Tris (0.4 M pH= 7.5) por 5 minutos (Tice *et al.*, 2000) en tres ocasiones y se fijaron con etanol absoluto frío por 10 minutos para su posterior análisis.

Evaluación del daño genotóxico

Para analizar el daño genotóxico de los organismos seleccionados, se analizó la longitud de la cauda del cometa (migración del ADN), las laminillas se observaron en un microscopio de fluorescencia Carl Zeiss modelo Axiostar Plus H-BO-100. Se midieron con un ocular graduado y estas medidas fueron transformadas a micras. Se analizó en 210 individuos el parámetro indicador del daño al ADN: longitud de la cauda del cometa (migración del ADN), en 100 núcleos consecutivos (50 núcleos por laminilla, dos laminillas por individuo).

Determinación de metales en suelo e individuos de *Zea mays*

Determinación de metales en suelo

Para determinar las concentraciones de metales se preparó la muestra compuesta representativa de suelo secándola a temperatura ambiente durante tres días, se tamizó en una malla de 2 mm y se tomó una cantidad de 5 gr agregándole una mezcla de HNO₃ y HCl. Esta solución se dejó en una parrilla digestora por dos horas a 60°C, diluyendo el extracto líquido con agua desionizada, filtrando y aforando a 25 mL.

Para la determinación de metales solubles en el suelo se utilizó el método descrito por Quevauviller *et al.*, (1996). Para cada una de las muestras, se tomaron 5 gr de suelo. Posteriormente se le agregaron 50 ml de solución de EDTA 0,05 M. Las muestras utilizadas fueron empapadas previamente con HNO₃ al 30% (V/V) durante 24 h, y luego se enjuagaron tres veces con agua desionizada.

Determinación de metales en *Zea mays*

Para la determinación de metales en *Zea mays* L., cada muestra se lavó con agua destilada, se secó a 60 °C hasta obtener un peso constante. Posteriormente se tomaron 0.25 g de cada una de las muestras y se le adicionaron 10 ml de HNO₃ para la digestión ácida en un digestor de microondas EPA-3051. Una vez realizada la digestión, las muestras a temperatura ambiente se filtraron y aforaron con agua destilada en matraces de 25 mL. La lectura de las muestras se realizó en el espectrofotómetro de absorción atómica (GBC-908-AA, CIENTIFIC EQUIPMENT) del Laboratorio de Investigaciones Ambientales en el Centro de investigación en biotecnología (CEIB) de la UAEM.

La concentración de los metales en suelo, se determinó por espectrofotometría de masas con plasma acoplado inductivamente, empleando un espectrofotómetro tipo ICP-820 (MS Series ICP-ms Systems, Bruker, MA, USA) en el laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma del Estado de México.

Análisis estadístico.

Se realizaron pruebas de Normalidad a los valores del daño al ADN obtenido mediante electroforesis unicelular alcalina y una vez que se comprobó la normalidad de las muestras se realizaron análisis estadísticos de varianza (ANOVA) para determinar el efecto del sitio sobre los niveles de daño genético y la concentración de metales (suelo y tejido vegetal). Posterior a los

análisis de ANOVA, en todos los casos se realizaron comparaciones simples con la prueba *post-hoc* Tukey. Para determinar la relación entre la distancia al jale y la concentración de metales en suelo y estructura vegetal, se realizaron análisis de regresión, mismos que se utilizaron para analizar la relación entre la concentración de metales pesados y los niveles de daño genético individuos de *Z. mays*.

RESULTADOS

Concentración de metales pesados solubles en suelo del poblado de Huautla, Morelos a través de un gradiente de distancia al jale

Se detectaron cuatro metales pesados (Cu, Zn, Cd y Pb) y un metaloide (As) soluble en los suelos del poblado de Huautla, Morelos. En general, los análisis de varianza de una vía (ANOVA) registraron un efecto significativo de la lejanía al jale (200, 400, 600, 800, 1,000 y 1,2000 m) sobre la concentración de metales y metaloides solubles en el suelo del poblado de Huautla. Los sitios más cercanos al jale (200 y 400 m) registraron las mayores concentraciones de metales solubles. En contraste, los sitios más alejados denotaron estadísticamente las menores concentraciones (Cuadro 4).

Cuadro 4. Análisis de varianza de una vía para detectar el efecto de la lejanía al jale sobre la concentración de metales y metaloides solubles en el suelo del poblado de Huautla, Morelos. Se presenta concentración promedio (\pm error estándar) de metales y metaloides.

Distancia (m)	Cu	Zn	Cd	Pb	As
200	186.89 \pm 3.06 a	13.48 \pm 0.60 a	12.67 \pm 0.56 a	312.65 \pm 3.05 a	1.56 \pm 0.07 a
400	77.83 \pm 2.95 b	19.60 \pm 0.90 b	22.65 \pm 0.74 b	277.76 \pm 3.49 b	0.71 \pm 0.04 b
600	14.36 \pm 0.65 c	18.05 \pm 0.73 bc	11.50 \pm 0.29 a	8.31 \pm 0.26 cd	0.24 \pm 0.04 c
800	17.60 \pm 0.73 c	19.39 \pm 0.54 b	5.45 \pm 0.01 c	11.43 \pm 0.41 d	0.21 \pm 0.03 c
1000	9.27 \pm 0.80 cd	16.22 \pm 0.67 ac	4.01 \pm 0.30 cd	18.77 \pm 0.34 d	0.22 \pm 0.04 c
1200	2.02 \pm 0.21 de	13.81 \pm 0.53 a	2.57 \pm 0.15 d	0.01 \pm 0.00 e	0.10 \pm 0.03 c
ANOVA: $F_{5,57}$	1644.29 ***	16.283***	297.46 ***	6214.56***	173.90***

Letras diferentes denotan diferencias significativas con una $P < 0.05$ (Prueba de Tukey). *** = $P < 0.001$.

Relación entre la concentración de metales pesados solubles en suelo del poblado de Huautla y la distancia al jale

En general, se detectó una relación negativa y significativa entre la lejanía al jale (distancia m) y la concentración de metales solubles. Arsénico ($r = -0.84$, $r^2 = 0.64$, $P = 0.03$), plomo ($r = -0.84$, $r^2 = 0.64$, $P = 0.03$), cadmio ($r = -0.80$, $r^2 = 0.55$, $P = 0.04$), y cobre ($r = -0.84$, $r^2 = 0.63$, $P = 0.03$) en suelo (mg/Kg) del poblado de Huautla, Morelos. En contraste, no se encontró relación entre la lejanía al jale y la concentración de zinc en el suelo ($r = -0.14$, $r^2 = 0.02$, $P = 0.79$), es decir, la lejanía al jale no es factor que determine la concentración de zinc soluble en suelo (Figura 6).

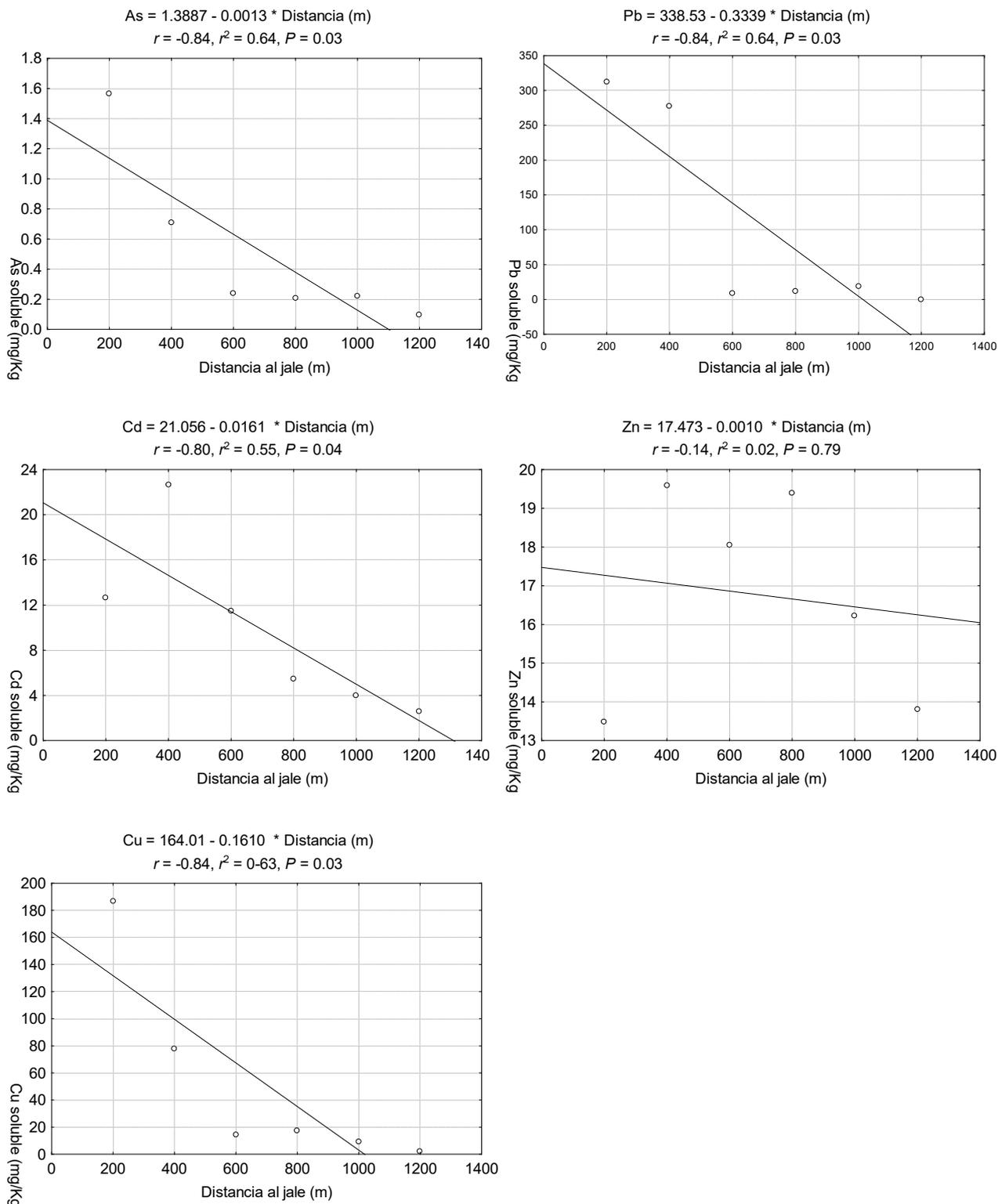


Figura 6. Relación entre la distancia al jale y la concentración de arsénico (As), plomo (Pb), cadmio (Cd), zinc (Zn) y cobre (Cu) soluble (mg/Kg) en suelo del poblado de Huautla, Morelos.

Bioacumulación de metales pesados en fruto de *Zea mays* L. (raza pepitilla) cultivado en los traspacios del poblado de Huautla, Morelos

En general, se detectó cobre, zinc y plomo bioacumulados en los frutos del maíz raza pepitilla cultivado en los traspacios de las casas del poblado de Huautla, Morelos. En contraste, el cadmio y

arsénico que se encuentran solubles en el suelo de Huautla no fueron detectados en los frutos del maíz.

Los análisis de varianza de una vía (ANOVA) mostraron un efecto significativo de la lejanía al jale (200, 400, 600, 800, 1,000 y 1,200 m) sobre la bioacumulación de metales en los frutos del maíz raza pepitilla cultivado en los traspatios del poblado de Huautla. En particular, la prueba de Tukey muestra tres grupos con respecto a la bioacumulación de Cu, registrando el siguiente patrón de bioacumulación. 200 m > 400 = 600 m > 800 = 1,000 = 1,200 m. Por su parte, el zinc documentó el siguiente patrón: 200 = 400 m > 600 m. Por su parte, el tercer grupo (800 = 1,000 = 1,200 m) no difieren significativamente con los grupos antes mencionados. Por último, la bioacumulación de Pb mostró el siguiente patrón de bioacumulación en frutos de maíz: 200 = 400 m > 800 = 1,000 = 1,200 m. Por su parte, el tercer grupo (600 m) no difieren significativamente con los grupos antes mencionados.

Cuadro 5. Análisis de varianza de una vía para detectar el efecto de la lejanía al jale sobre la bioacumulación de metales en los frutos de *Zea mays* L. (raza pepitilla) del poblado de Huautla, Morelos. Se presenta concentración promedio (\pm error estándar) Cu, Zn y Pb.

Distancia al jale (m)	Cu	Zn	Pb
200	1.070 \pm 0.00 a	0.60 \pm 0.09 a	3.16 \pm 0.50 a
400	0.36 \pm 0.08 b	0.63 \pm 0.12 a	2.94 \pm 0.76 a
600	0.40 \pm 0.04 b	0.24 \pm 0.01 b	1.90 \pm 0.39 ab
800	0.17 \pm 0.01 c	0.52 \pm 0.08 ab	0.88 \pm 0.13 b
1000	0.11 \pm 0.01 c	0.44 \pm 0.04 ab	0.96 \pm 0.23 b
1200	0.13 \pm 0.01 c	0.40 \pm 0.05 ab	0.60 \pm 0.13 b
ANOVA: $F_{5,57}$	130.21 ***	4.01**	7.09***

Letras diferentes denotan diferencias significativas con una $P < 0.05$ (Prueba de Tukey). *** = $P < 0.001$, ** = $P < 0.01$.

Daño genotóxico (rompimiento de cadena sencilla) en frutos de *Zea mays* L. (raza pepitilla) expuesta a metales pesados

En general, el análisis de varianza de una vía detectó un efecto significativo de la distancia al jale sobre los niveles de daño genético (rompimiento de cadena sencilla) ($F_{5,57} = 34.193$, $P < 0.0001$). En general, la prueba de Tukey mostró tres grupos con respecto a los niveles de daño genético en los frutos de maíz: 200 m > 400 = 600 m > 800 = 1,000 = 1,200 m. En la figura 7, se ilustran imágenes del daño genético obtenidos mediante la técnica de electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa de los frutos de *Z. mays* expuesta suelo contaminado por metales pesados.

Cuadro 6. Análisis de varianza de una vía para detectar el efecto de la lejanía al jale sobre los niveles de daño genético (rompimiento de cadena sencilla) en los frutos de *Zea mays* (raza pepitilla) del poblado de Huautla, Morelos. Se presenta datos promedio (\pm error estándar) del rompimiento de cadena sencilla medida en micras.

Distancia (m)	Daño Genético (micras)	
200	129.1 \pm 4.76	a
400	64.19 \pm 9.99	b
600	57.84 \pm 12.1	b
800	27.73 \pm 3.75	c
1000	17.33 \pm 2.19	c
1200	21.82 \pm 3.83	c
ANOVA $F_{5,57}$	34.193***	

Letras diferentes denotan diferencias significativas con una $P < 0.05$ (Prueba de Tukey). *** = $P < 0.001$.

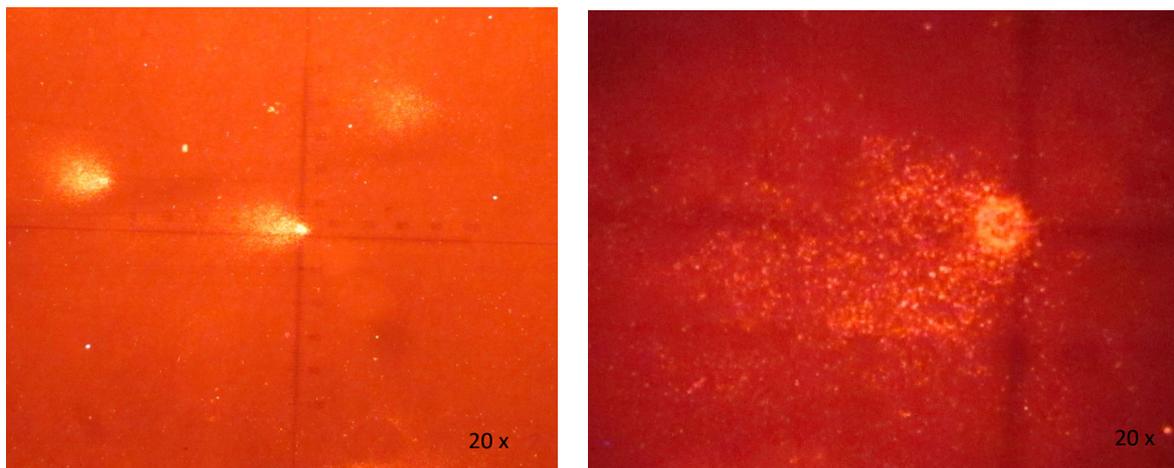


Figura 7. Rompimiento de cadena sencilla (longitud de cauda) en individuos de *Zea mays* expuestos a metales pesados mediante la técnica del ensayo cometa a pH13.

El análisis de regresión mostró un relación negativa y significativa entre la lejanía al jale y los niveles de daño genético ($r = -0.79$, $r^2 = 0.61$, $P = 0.000$), es decir, los sitios más cercanos al jale registran los niveles mayores de daño genético y conforme se incrementa la distancia al jale se reducen los niveles de daño genético (DG), (Figura 8).

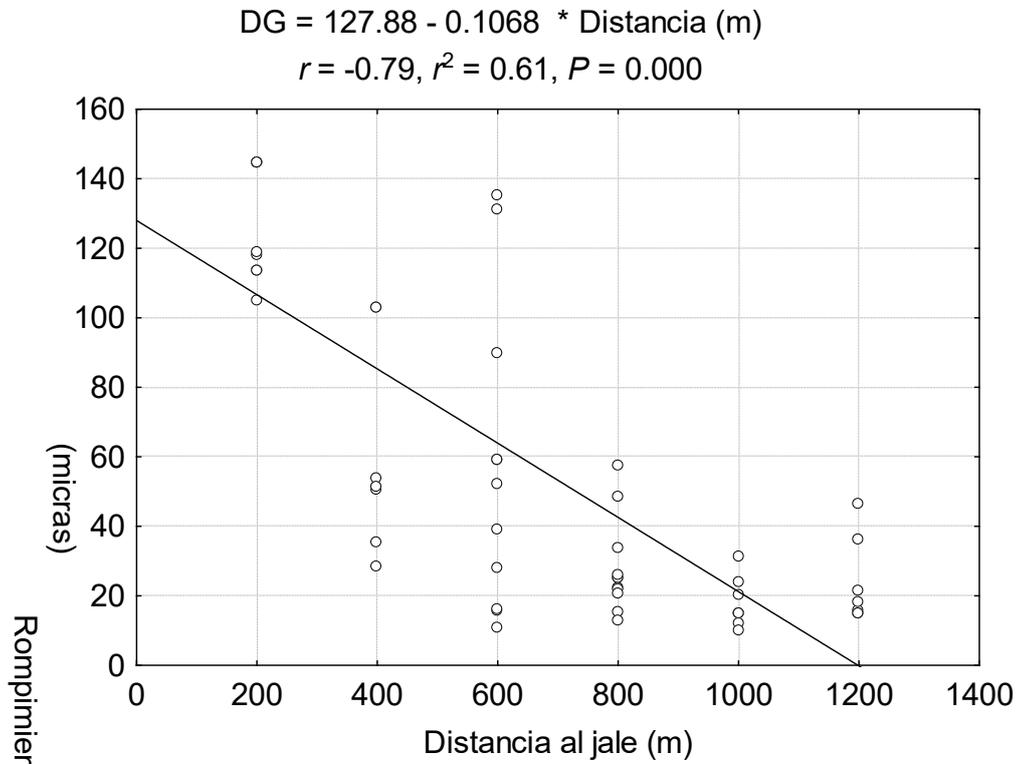


Figura 8. Relación entre la distancia al jale (m) y los niveles de daño genético en frutos de *Zea mays* (raza pepitilla) asociados a los traspacios del poblado de Huautla, Morelos.

En general, los análisis de regresión muestran una relación negativa y significativa entre la bioacumulación de Pb ($r = 0.47, r^2 = 0.21, P = 0.0001$) y Cu ($r = 0.88, r^2 = 0.21, P = 0.0001$), y los niveles de daño genético en frutos de *Zea mays* L. (raza pepitilla) asociados a los traspacios del poblado de Huautla, Morelos. En contraste, no se detectó una relación entre la bioacumulación de ($r = 0.47, r^2 = 0.21, P = 0.0001$) Zn y los niveles de daño genético (DG), (Figura 9).

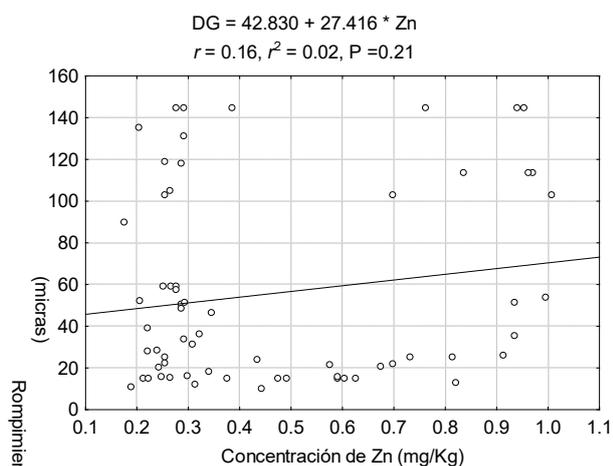
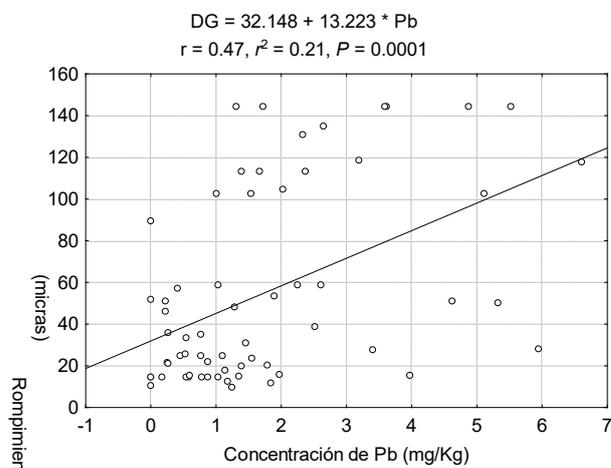
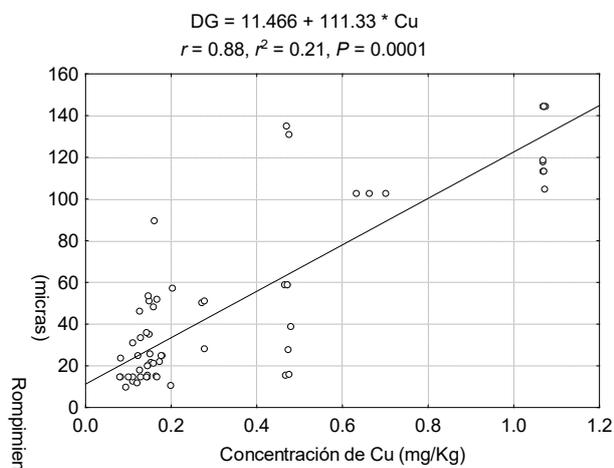


Figura 9. Relación entre la bioacumulación de metales pesados (Cu, Pb, Zn) y los niveles de daño genético en frutos de *Zea mays* (raza pepitilla) asociados a los traspacios del poblado de Huautla, Morelos.

Ordenación de cultivos de *Zea mays* L. (raza pepitilla) en traspacios del poblado de Huautla con base a la bioacumulación de metales pesados y daño genotóxico en frutos de maíz.

Los análisis de función discriminante denotan una ordenación de las parcelas de traspacio utilizadas para el cultivo de maíz raza pepitilla. En la figura 8 se muestra la ordenación de tres grupos de parcelas, una corresponde a las parcelas ubicadas a 200 m del jale, en la segunda se ubican las parcelas localizadas a 400 y 600 m del jale y en la tercera se ordenan las parcelas ubicadas a 800, 1,000 y 1,200 de distancia al jale. Las variables que contribuyen con mayor peso al modelo de ordenación del AFD1 (eje X) son la concentración de Cu en frutos del maíz y los niveles de daño genético en fruto (Cuadro 7). Por su parte, las variables que contribuyen con mayor peso al modelo de ordenación del AFD2 (eje Y) son la concentración de Pb en frutos del maíz y los niveles de daño genético en fruto (Cuadro 8).

Cuadro 7. Resultados del Análisis de Función Discriminante para la ordenación de microparcels cultivadas con *Zea mays* raza pepitilla en el poblado de Huautla, Morelos. Las letras en negritas denotan las variables con mayor peso en la ordenación.

Variable	AFD 1	AFD 2
Pb	-0.137	-0.982
Cu	-0.996	0.028
DG	-0.143	0.174
Eigenval	468.416	1.544
Cum.Prop	0.995	0.998

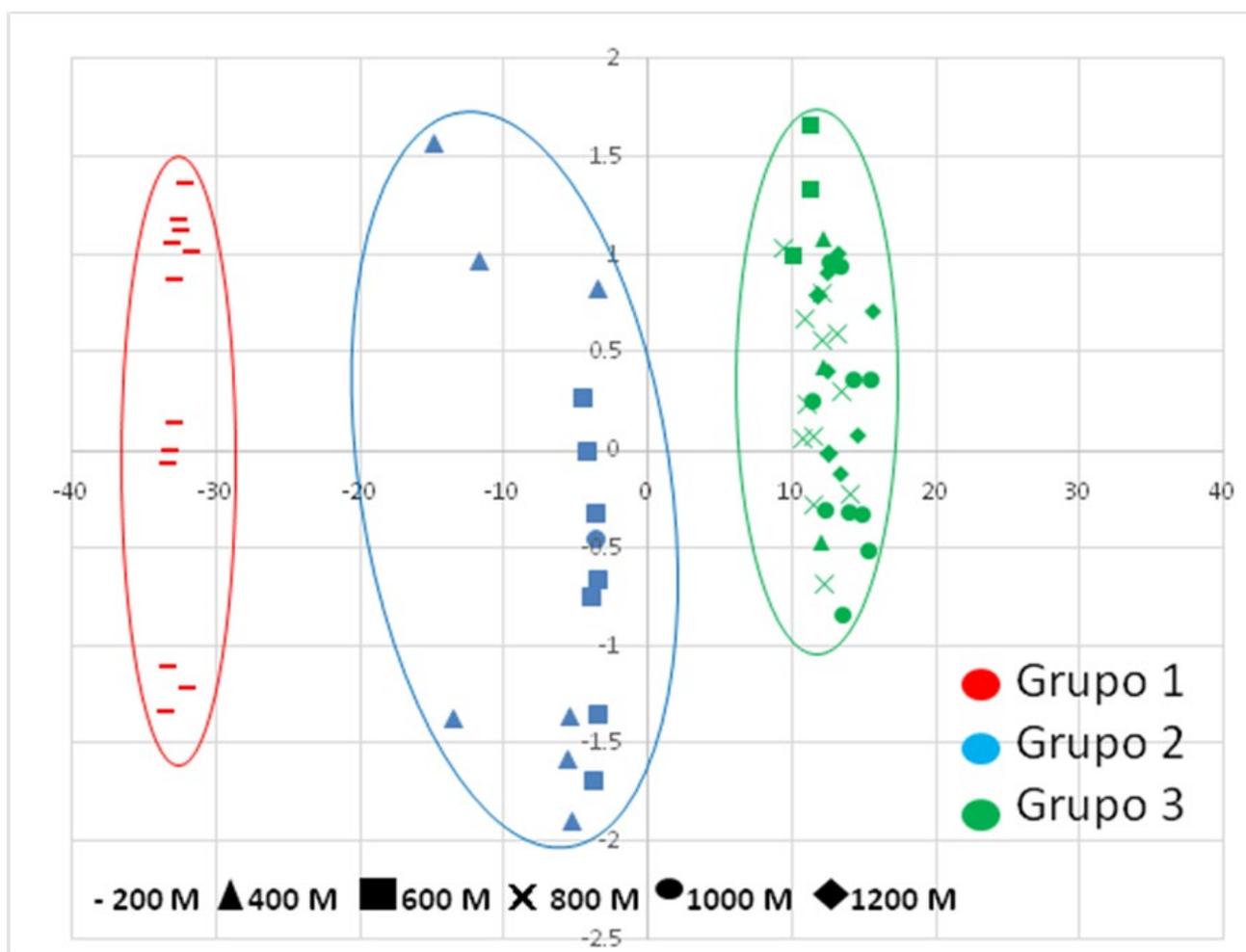


Figura 8. Análisis de Función Discriminante para la ordenación de microparcels de traspatio con cultivo de maíz raza pepitilla, por medio de la bioacumulación de metales pesados (Cu, Pb y Zn) y los niveles de daño genotóxico (rompimiento de cadena sencilla).

Ordenación de cultivos de *Zea mays* L. (raza pepitilla) en traspacios del poblado de Huautla con base a la concentración de metales solubles en suelo, bioacumulación de metales pesados y daño genotóxico en frutos de maíz.

Los análisis de función discriminante denotan una ordenación de las parcelas de traspatio utilizadas para el cultivo de maíz raza pepitilla. En la figura 9 se muestra la ordenación de cuatro grupos de parcelas, una corresponde a las parcelas ubicadas a 200 m del jale, en la segunda se ubican las parcelas localizadas a 400 m del jale, en la tercera se ordenan las parcelas ubicadas a 600 m y por último de ordenan en un cuarto grupo las parcelas ubicadas a 800, 1,000 y 1,200 de distancia al jale. Las variables que contribuyen con mayor peso al modelo de ordenación del AFD1 (eje X) son: Pb soluble, bioacumulación de Cu en fruto, y Cu y Zn soluble (Cuadro 9). Por su parte, las variables que contribuyen con mayor peso al modelo de ordenación del AFD2 (eje Y) son la bioacumulación de Cu y Pb, así como el Pb y Cd soluble (Cuadro 8).

Cuadro 8. Resultados del Análisis de Función Discriminante para la ordenación de microparcels cultivadas con *Zea mays* raza pepitilla en el poblado de Huautla, Morelos, por la concentración de metales pesados solubles en suelo, bioacumulación de metales y daño genético en frutos de maíz. Las letras en negritas denotan las variables con mayor peso en la ordenación.

Variables	ADF 1	ADF 2
Pb_Bf	-0.007	0.419
Cu_Bf	0.567	0.778
DG_f	0.088	0.081
Znp_Bf	0.140	0.301
As_Soluble	-0.168	0.320
Pb_Soluble	0.895	-0.777
Cd_Soluble	-0.145	0.326
Zn_Soluble	-0.242	0.010
Cu_Soluble	0.433	0.095
Eigenval	1523.394	137.314
Cum.Prop	0.897	0.978

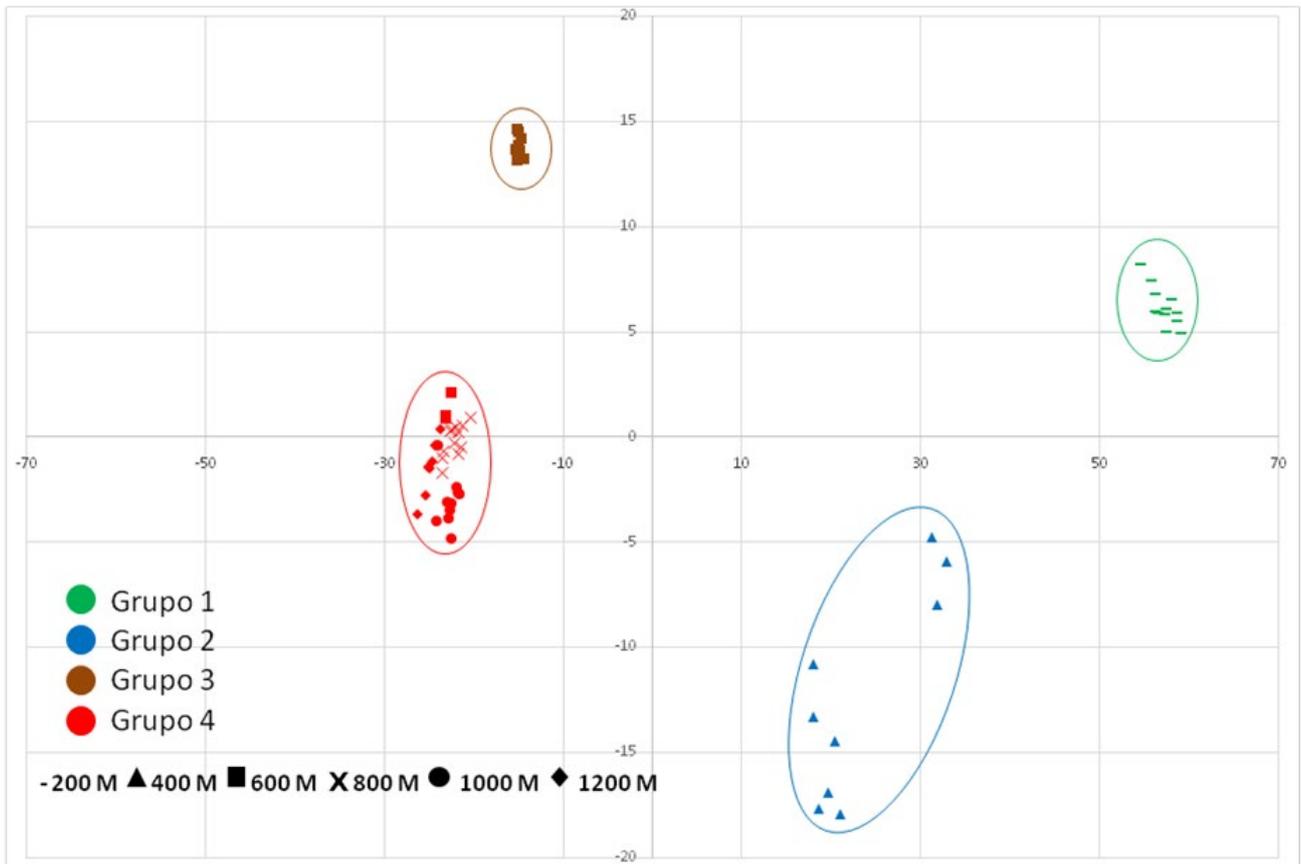


Figura 9. Análisis de Función Discriminante para la ordenación de microparcelas de traspatio con cultivo de maíz raza pepitilla, por medio de metales solubles en suelo (Pb, Cu, Zn, Cd, As), bioacumulación de metales pesados (Cu, Pb y Zn) y los niveles de daño genotóxico (rompimiento de cadena sencilla).

DISCUSIÓN

En general, la minería metálica es una de las fuentes más recurrentes de contaminación ambiental por MP, muchos de los cuales se encuentran biodisponibles (Gómez-Bernal *et al.*, 2010). Lo anterior, conlleva a procesos de bioacumulación en los organismos afectando todos los niveles de organización biológica, desde las moléculas hasta los ecosistemas (Mussali-Galante *et al.*, 2013).

En particular, en el distrito minero de Huautla, en el municipio de Tlaquiltenango fueron explotados diferentes metales durante varias décadas, esto se debe a que el área de estudio es rica en minerales azufrados. Estudios realizados en la zona revelan valores de concentraciones que superan los límites máximos permisibles, tanto para suelos destinados a la agricultura como para suelo industrial de acuerdo con la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Además, de que el poblado de Huautla se encuentra a escasos 500 m del jale principal, los MP contenidos en los jales tienden a dispersarse fácilmente por el aire principalmente y depositados en suelos de traspatio que son utilizados como parcelas de cultivo, mayoritariamente de maíz, quedando susceptibles de ser absorbidos por estos cultivos y transferidos a las cadenas tróficas.

Por lo anterior, resulta relevante evaluar si los suelos de los traspacios de las casas de Huautla que son utilizadas para cultivo contienen MP solubles y si éstos son bioacumulados por las plantas cultivadas como *Zea mays* L. Además, de saber si la bioacumulación de metales promueve efectos negativos sobre el material genético y con los resultados obtenidos construir las bases para una propuesta de zonificación del poblado de Huautla.

Concentración de metales pesados solubles en suelo del poblado de Huautla, Morelos a través de un gradiente de distancia al jale

En general, los resultados del presente estudio denotan una relación negativa y significativa entre la lejanía a los residuos mineros y las concentraciones de los metales biodisponibles analizados (Cu, Pb, Cd, As, Fe); siendo los sitios más cercanos al jale los que presentaron concentraciones mayores de cobre, plomo y arsénico. En contraste, las concentraciones de zinc no mostraron una relación significativa con respecto a la fuente de contaminación.

Se ha argumentado que los MP que son generados por procesos antropogénicos que pueden alterar las condiciones fisicoquímicas del suelo. Por ejemplo, Van Straalen *et al.*, (2001), documentan que los factores edáficos del suelo son modificadas por la extracción y procesamientos de los minerales en términos de: i) reducción de arcillas, ii) baja solubilidad y iii) aumento en el pH del suelo, favoreciendo la solubilidad de los MP asociados a los sitios. Además,

el tamaño de partícula que contienen los jales (<5 µm), favorece que éstos sean transportados por el viento a más de 25 km de distancia. Además, autores como González, (2015); han documentado que Pb, Cu y As asociados a jales son dispersados por el viento disminuyendo su concentración al aumentar la distancia con respecto a la fuente de contaminación. Asimismo, Peláez-Peláez *et al.*, (2016); encontraron que la concentración Cd y Pb en suelo disminuyen su concentración conforme se alejan de la fuente emisora de contaminación favoreciendo un gradiente de contaminación. Lo anterior apoya los resultados encontrados en este estudio, ya que se detectó una relación negativa y significativa entre la lejanía al jale y la concentración de MP, revelando un gradiente de contaminación por MP.

El gradiente de contaminación por MP detectado en este estudio con respecto a la lejanía al jale puede ser favorecido por los parámetros fisicoquímicos que presentan las muestras del jale de Huautla. Por ejemplo, se ha documentado un pH entre 8.2-7.4, una capacidad de intercambio catiónico de 30.1 Cmol (+) / Kg y partículas menores a 45 µm (Velasco *et al.*, 2004, 2005; Solís, 2015). Además, se ha documentado que los parámetros edáficos varían entre muestras analizadas del jale (zona superior, media y baja). Por lo que, el intervalo de pH del jale denota que una fracción de los metales que se encuentran depositados en los residuos sean insolubles, el tamaño de partícula sugiere que una fracción de los metales estará adherida a ésta y el ambiente xérico de una Selva Baja Caducifolia (Contreras-MacBeath *et al.*, 2002) con un clima cálido subhúmedo Aw0 con estacionalidad seca muy marcada (García, 1998), facilitará que el viento disperse las partículas del jale (incluyendo MP adheridos) generando un gradiente de contaminación (Van Straalen *et al.*, 2001).

En este estudio no se detectó una relación entre la lejanía al jale y la concentración soluble de Zn, es decir que la concentración de Zn se mantiene muy similar independientemente de la lejanía al jale. Lo anterior, puede estar relacionado con el tipo de suelo presente de manera natural en la zona de Huautla, el cual se caracteriza por una elevada riqueza natural de sulfuros metálicos como esfalerita (ZnS), lo que favorece de forma natural la presencia de Zn y disminuye la posibilidad de detectar una reducción de la concentración de Zn conforme se alejan la fuente de contaminación (jale). Por otra parte la riqueza natural de minerales azufrados de Pb y Ag, que contienen los suelos de Huautla, favorece la presencia de Zn asociada al suelo de forma natural (Velasco *et al.*, 2004, 2005).

Bioacumulación de metales pesados en fruto de *Zea mays* L. (raza pepitilla) cultivado en los traspatios del poblado de Huautla, Morelos

La bioacumulación de metales pesados en las semillas de las especies vegetales es un aspecto de suma importancia, ya que repercute directamente en el número de descendientes y posibles reclutamientos. Lo anterior, influye en la adecuación de las especies. En el presente trabajo se detectó que sólo Pb, Cu y Zn son metales acumulados en las semillas de *Z. mays* L. raza pepitilla. Los resultados encontrados en este estudio son respaldados por el estudio de Tovar-Sánchez *et al.*, (2018), quienes documentan que individuos de maíz establecidos en sitios contaminados por los jales mineros de Taxco de Alarcón, Guerrero, bioacumulan Pb, Cu y Zn en los frutos. Dentro de los elementos bioacumulados, uno es considerado como no esencial (Pb) y dos esenciales (Zn y Cu) para plantas, aunque estas categorías no pueden ser generalizadas a todas las especies vegetales (García y Dorronsoro, 2005). Además, los resultados demuestran que existe diferencias significativas en la acumulación de metales entre sitios (lejanía al jale), encontrándose concentraciones más elevadas en los individuos establecidos en el sitio cercanos al jale (200 m) y la menor concentración se detectó en los sitios más alejados del jale (de 800 a 1,200 m).

Lo anterior, puede ser explicado como una respuesta celular a los gradientes de concentración de metales, induciendo una absorción selectiva mediante complejos proteínicos; o por difusión simple o facilitada debido a la carga iónica presente en la raíz (Barceló *et al.*, 2005). Sin embargo, la diferencia observada en los niveles de acumulación de cada metal evaluado, depende principalmente de su función bioquímica en la planta más allá de la concentración biodisponible de éste en suelo (Dickinson *et al.*, 2009; Thakur *et al.*, 2016).

Daño genotóxico (rompimiento de cadena sencilla) en frutos de *Zea mays* L. (raza pepitilla) expuestos a metales pesados

En este estudio el patrón en el daño genético a través del poblado de Huautla respondió a las diferentes distancias con relación al jal y al gradiente de concentración de los MP en el suelo, lo que indica que efectivamente existe una importante dispersión de MP por efectos eólicos. Como ya se ha mencionado anteriormente, el pH alcalino del suelo, la pérdida de arcillas y la baja solubilidad favorece que los metales presentes en Huautla sean insolubles, por lo que su dispersión a la atmósfera se ve facilita (Van Straalen *et al.*, 2001).

Los mayores niveles de daño genético (longitud de cauda) se encontraron en los individuos establecidos en las cercanías del jale (200 m), con un valor promedio de 129.1 micras. Estos resultados son congruentes con los reportados por Tovar-Sánchez *et al.*, (2018), quienes evaluaron

el daño genético en plantas de maíz establecidas en sitios contaminados por los jales de Taxco de Alarcón, Guerrero. Los autores documentan valores entre 119 y 150 micras y señalan que los campos de cultivo se encuentran en la periferia de los jales.

Las plantas pueden presentar diferencias intra e interespecíficas en la absorción de metales, esto puede ser explicado debido a que la absorción de MP del suelo puede darse por un mecanismo de transporte pasivo o activo, que varía según el tipo de metal y la especie de la planta en cuestión (Kabata-Pendias y Pendias, 2001). En este estudio de manera general podemos decir que tres elementos (Cu, Pb y Zn) se bioacumulan en las plantas del maíz expuestas a suelos contaminados con MP. De acuerdo con Reichard *et al.*, (2007), estos metales tienen la capacidad de unirse a la cadena de ADN uniéndose al nitrógeno de la guanina, lo que provoca que se formen entrecruzamientos intra e intercadena (Rossman *et al.*, 2003). Este tipo de enlaces provoca tensión en las uniones del ADN, causando rompimientos de cadena sencilla (RCS) (Gómez-Caminero *et al.*, 2001).

Por su parte Andrew *et al.*, (2006), mencionan que los aductos en el ADN pueden ser generados por los compuesto órgano metálicos, estas alteraciones son reparadas con la escisión de la base, sin embargo esto deja sitios abásicos que pueden ser interpretados como rompimientos de cadena sencilla (Roy y Saha, 2002). Algunos metales como Pb, también pueden funcionar como agentes alquilantes al intercambiar un grupo carboxilo por uno alquilo en las bases del ADN, si habláramos de la incorporación de dos grupos alquilo, es muy probable que se formen aductos, formando cruzamientos intra e intercadena provocando nuevamente RCS (Andrew *et al.*, 2006; Thomas *et al.*, 2004).

Es claro que la exposición a MP en los jales de la comunidad de Huautla, Morelos, es capaz de inducir rompimientos de cadena en el ADN. Lo anterior de acuerdo a los resultados obtenidos con el tipo de medida de daño analizada en los frutos de maíz con la técnica del ensayo cometa, conocida como "longitud de cauda", es decir la distancia que abarca en línea recta desde el final de la cabeza del cometa hasta el punto final de la cola del mismo. Por lo tanto, una mayor proporción de fragmentos se traduce en una cauda de mayor tamaño y por ende mayor daño genético. Sin embargo aún es necesario evaluar el porcentaje de fragmentación del ADN (intensidad de cauda), pues no obstante que la migración de los fragmentos de material genético, como ya se mencionó, se miden como longitud de la cauda. La luminosidad expuesta por esta cola es conocida como "intensidad de la cuada" y se relacione con el porcentaje de fragmentos de ADN contenidos en la misma respecto al cometa completo. Es decir, un mismo cometa puede variar en

el tamaño y luminosidad de su cauda o dicho de otra forma, el cometa puede tener una cola muy corta pero una intensidad elevada, o bien puede presentar una cola larga pero con poca fragmentación (Sunjog *et al.*, 2013). Con lo anterior, es posible explicar que no obstante que los cometas obtenidos muestran longitudes de cauda que claramente son sensibles a los distintos gradientes de contaminación en el sitio y que además se relacionan con las concentraciones de MP biodisponibles. Hay efectos genotóxicos que involucran una mayor incidencia de rompimientos en la cadena de ADN, que no pueden ser apreciables únicamente por el tamaño de la cauda, toda vez que se reconocen diversas rutas por las cuales los metales pesados causan daño. Una de estas vías es mediante la inducción de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) y Radicales Libres (RL) (Hartwig, 1995) también puede activar a la NAD (P) H-oxidasa, la cual es una enzima localizada en la membrana de algunos tipos celulares que cataliza la reducción de O₂ a ión superóxido (Schoen *et al.*, 2004; Hughes, 2006).

Basu *et al.*, (2001) y Rossman, (2003), coinciden en que los metales son capaces de interactuar con complejos enzimáticos antioxidantes como el glutatión (GSH), la tioredoxina y la superóxido dismutasa (SOD), inhibiendo su actividad. El aumento en la cantidad de EROS y RL puede generar la oxidación en algunos sitios del ADN, éstos posteriormente suelen ser transformados a sitios abásicos durante la reparación por escisión de bases, al eliminar el nucleótido con la base oxidada mediante la ADN-glicosilasa (Basu *et al.*, 2001 y 2005; Hughes, 2006). Todo lo anterior es posible de verse como rompimientos de cadena sencilla con el ensayo cometa a pH 13.

Asimismo, estos metales y sus metabolitos son capaces de unirse a la cadena de ADN, formado cruzamientos inter e intracadena (Rossman *et al.*, 2003). Esta clase de uniones genera fuerzas de tensión entre los enlaces del ADN, lo que causa rompimientos de cadena sencilla (Gómez-Caminero *et al.*, 2001).

De la misma forma, algunos metales, como son el Pb y As, pueden actuar como agentes alquilantes al sustituir un grupo carboxilo por un grupo alquilo en las bases del ADN; al incorporarse más de dos grupos alquilo se pueden formar aductos, generando cruzamientos intra e intercadena (Andrew *et al.*, 2006), lo que resultan en rompimientos de cadena sencilla (Moore *et al.*, 1996).

Es necesario resaltar que la inducción del daño al ADN en una medida de gran importancia ecotoxicológica, debido a que este tipo de anormalidades genéticas pueden afectar tanto la

productividad del cultivo, como su rendimiento y en consecuencia el éxito reproductivo de la especie evaluada (Cheng, 2003). Asimismo, se han demostrado que la exposición a estos contaminantes afecta negativamente a la tasa de germinación y de crecimiento de raíces (Zhang, 1997). En consecuencia, las semillas muestran tejido necrótico y puede existir cambio de color de diversas especies vegetales de importancia agronómica (Hong *et al.*, 1991), incluyendo al maíz (Liu y Cui, 1991).

De manera general, los autores concluyen que entre mayor sea la inducción de daño al ADN, mayor será la probabilidad de que la planta sufra afectaciones como inhibición del crecimiento, daños estructurales y disminución de la actividad fisiológica y bioquímica; sin embargo, también existe la posibilidad de que el daño genético sea producido en los gametos por lo que también se vería comprometida la reproducción del individuo expuesto (Piršelová, 2011).

Zonificación del poblado de Huautla, Morelos de acuerdo a metales pesados solubles, bioacumulación de metales y daño genético en frutos de maíz

En el presente trabajo se plantea una zonificación dentro del contexto de la contaminación provocada por los residuos mineros y sobre la traza urbana del poblado de Huautla, Morelos. La zonificación servirá entonces como un componente fundamental para informar a la población sobre los niveles de contaminación presentes provocados por estos residuos mineros, la cual se incorpora en la propuesta de mitigación para la zona de estudio. Quedando de la siguiente manera:

Partiendo de la fuente de contaminación (Jale), el poblado está dividido en cuatro partes con base a las variables analizadas (la concentración de metales solubles en suelo, bioacumulación de metales pesados y daño genotóxico en frutos de maíz). La primera sección corresponde a la primera línea establecida a los 200m y que llamaremos zona de “alto riesgo” ya que es aquí como ya se menciona anteriormente, donde se presenta la mayor correlación y los niveles más altos sobre las variables referidas. La segunda sección se ubica a los 400m y fue designada como zona de “riesgo”, seguida de la línea ubicada a 600m denominada zona de “riesgo medio”. Finalmente la zona de “mínimo riesgo” en esta última sección están agrupadas las microparcels ubicadas a los 800, 1000 y 1200m (Figura 10).

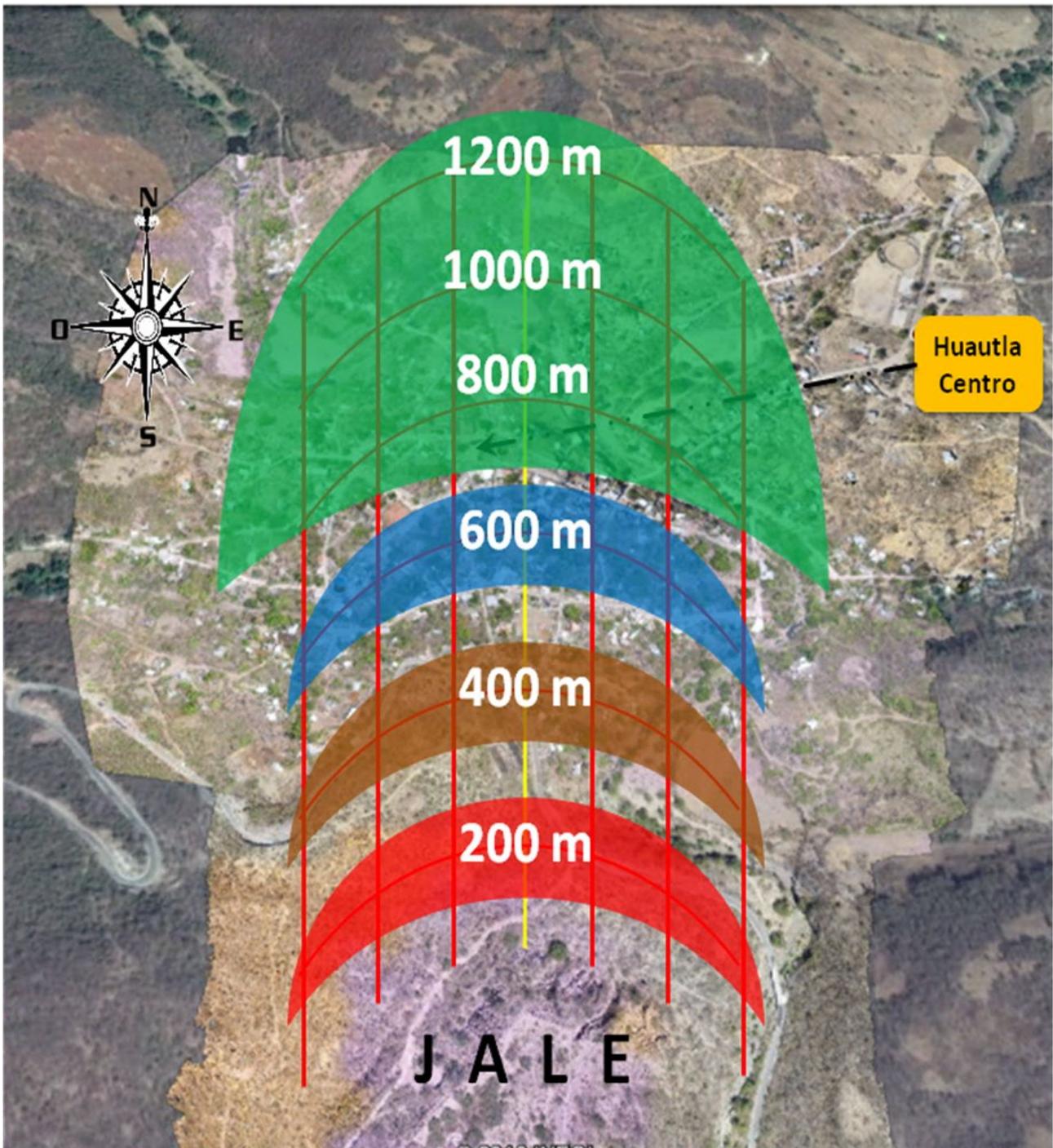


Figura 10. Zonificación del poblado de Huautla, Morelos de acuerdo a metales pesados solubles, bioacumulación de metales y daño genético en frutos de maíz, en color rojo la zona de “alto riesgo”, en café la zona de “riesgo”, en azul la zona de “riesgo medio” y finalmente en verde la zona de “mínimo riesgo”

Propuesta de mitigación de acuerdo a la zonificación del poblado de Huautla, Morelos.

La información antes presentada, deja en evidencia que los residuos mineros en la localidad de Huautla, Morelos, afectan significativamente al ambiente y representan un vector de contaminación para los suelos circundantes que se utilizan para cultivos de autoconsumo o para

forraje y por consecuencia también representan una potencial vía de exposición a MP para sus consumidores según sea el caso (Ruiz y Armienta, 2012). A razón de lo anterior, lograr la estabilización de los MP es prioridad, restringiendo su movilidad, tanto en lixiviación ácida, como por dispersión eólica.

De acuerdo con la US EPA, (2001), en la remediación de suelos contaminados el objetivo es alterar la composición de un contaminante peligroso a través de acciones químicas, físicas o biológicas para reducir su toxicidad, movilidad o volumen en la matriz o material contaminado. En la legislación mexicana (NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012), el término *remediación de suelos* se entiende como el conjunto de acciones necesarias para recuperar y restablecer sus condiciones, con el propósito de que éste pueda ser destinado a alguna de las actividades previstas en el programa de desarrollo urbano o de ordenamiento ecológico que resulte aplicable para la zona respectiva.

Volke y Velasco, (2004), mencionan sobre los bajos costos que generan los procedimientos biológicos en el tratamiento de sitios contaminados, además de ser menos dañinas con el ambiente y que en muchos de los casos se requiere un mínimo o ningún tratamiento posterior. Además de lo anterior, la técnica de remediación biológica o también conocida como biorremediación, puede emplear organismos propios del sitio contaminado (endógenos) o de otros sitios (exógenos), puede realizarse *in situ* o *ex situ*, en condiciones aerobias o anaerobias (Eweis *et al.*, 1998). Los procesos de biorremediación se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados (Semple *et al.*, 2001).

En este orden de ideas, la fitorremediación ha sido utilizada con buenos resultados en el tratamiento de suelos contaminados por compuestos inorgánicos como Cd, Cr, Cu, Pb, Co y Zn, entre otros y consiste en la utilización de plantas para remover, transferir, estabilizar, concentra y/o destruir contaminantes.

De manera general en México existen listados botánicos de especies que son utilizadas como fitorremediadoras de suelos. Sin embargo, aún se siguen haciendo pruebas con diversas especies vegetales (Chan-Quijano, 2012). Como ya hemos mencionado anteriormente, en los jales de Huautla, Morelos se han realizado estudios con especies vegetales acumuladoras que se encuentran establecidas de manera natural, entre las que se encuentran *Prosopis laevigata* y *Vachellia farnesiana* (Hernández-Lorenzo, 2015; Murillo, 2015; Santoyo, 2016; Fuentes – Reza, 2017).

De acuerdo con los autores estas especies son excelentes acumuladores de MP, razón por la cual se sugiere fomentar su crecimiento y desarrollo en el jale principalmente por ser la fuente de contaminación, resaltando que al ser especies arbóreas ofrecen beneficios particulares como la fijación de carbono ó la retención de suelos, incluso pueden proveer de protección contra el viento, para evitar su erosión por efectos eólicos principalmente.

Particularmente en los jales de Huautla estas especies además de ser especies con potencial de aprovechamiento forestal maderable, son especies que de manera natural se han establecido y son tolerantes a la contaminación por MP (Martínez, 2009; Fuentes-Reza, 2017) y debido a que se pueden establecer relaciones con bacterias (Solís-Miranda, 2016), puede favorecer el medio para el desarrollo de nueva vegetación acelerando el proceso de sucesión y, al mismo tiempo, permitir la detoxificación de los suelos contaminados ya que hablamos de especies que se les considera con potencial remediador (Armienta *et al.*, 2008; Murillo, 2015; Santoyo, 2016; Castañeda-Bautista, 2016; Fuentes – Reza, 2017). La ventaja de utilizar estas especies es que una vez que están establecidos los individuos en el jale pueden completar de manera natural su ciclo de vida. Posteriormente, estos individuos utilizados para la fitorremediación podrán funcionar como biomonitores ambientales mediante los efectos genotóxicos (Santoyo, 2016).

Por otro lado, la zona sur del Estado de Morelos no se destaca por desarrollar actividades madereras, por lo que es posible que el aprovechamiento forestal maderable sea una opción viable para el manejo de este recurso, buscando con esto contrarrestar la incineración de estas especies vegetales contaminadas. Esta actividad no solo estaría contribuyendo socio-económicamente con la diversificación de la actividad económica de la zona sino también a la salud tanto humana como ambiental. Sin embargo para tener un aprovechamiento forestal adecuado será necesario buscar la asesoría técnica apropiada y en su momento la autorización de la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) para la creación de un programa de aprovechamiento forestal maderable acompañado y reconocido en todo momento por las autoridades (Comité del Comisariado Ejidal) de Huautla, Morelos.

Con la detoxificación paulatina de la fuente de contaminación, así como con la cobertura vegetal fomentada, se estarían reduciendo los aportes de MP a los traspacios de las casas de localidad de Huautla, Morelos; sin embargo es primordial informar y prevenir a los habitantes particularmente aquellos que viven dentro de las zonas de “alto riesgo” y “riesgo” que el cultivo de especies vegetales como el maíz (*Z. mays*) o incluso el uso de las especies sugeridas para la fitorremediación con la intención de utilizar sus estructuras vegetales ya sea para forraje o para

algún tipo de consumo alimenticio o medicinal, significaría un potencial riesgo, debido a, como ya se mencionó antes, que se trata de especies que bioacumulan MP.

CONCLUSIONES

Los suelos de traspatio en la localidad de Huautla, Morelos contienen metales solubles como As, Pb, Cd, Cu, y Zn

Hay una relación negativa y significativa entre la lejanía a la fuente de contaminación (jale) y la concentración de MP solubles asociados al suelos del poblado de Huautla, Morelos

Las plantas de *Zea mays* raza pepitilla sembradas en los traspatios de las casas de la localidad de Huautla, Morelos, bioacumulan Cu, Pb y Zn en sus semillas. En contraste, no bioacumulan cadmio ni arsénico

Hay una relación negativa y significativa entre la lejanía a la fuente de contaminación (jale) y la bioacumulación de MP asociados a las semillas de maíz.

Los individuos de *Zea mays* raza pepitilla sembrados en los traspatios de las casas de la localidad de Huautla, Morelos, muestran un efecto genotóxico provocado por la bioacumulación de cobre, zinc y plomo.

En general, los resultados de MP solubles en suelo, bioacumulación de MP y daño genotóxico en semillas del maíz raza pepitilla muestran que el poblado de Huautla, Morelos puede clasificarse tres zonas de contaminación: alta (200 m), media (400 y 600 m) y baja (800, 1000 y 1200 m).

PERSPECTIVAS

Es necesario hacer estudios para caracterizar las especies vegetales establecidas en los traspatios de las casas de Huautla, Morelos, identificando los usos que los pobladores le pueden dar. Por ejemplo, medicinal, comestible, forraje, etc. Lo anterior, permitirá hacer estudios detallados de bioacumulación de MP en diferentes órganos de las plantas. Posteriormente, se recomienda hacer estudios que analicen si los MP modifican la calidad nutricional de las plantas, así como los metabolitos secundarios (concentración) en plantas con usos medicinales, comestibles (humano) y para forraje (animales de granja).

Por último, es necesario hacer estudios que caractericen de manera fina la dirección de los vientos en el poblado de Huautla a través del tiempo, así como determinar los niveles de dispersión de MP por acción eólica (del jale hacia el poblado). Lo anterior, permitirá evaluar al jale como una fuente potencial de contaminación para los pobladores vía inhalada.

LITERATURA CONSULTADA

- Ahumada M.; Palma R.; Centron A.; Ramirez S.; Hauenstein E.; Gonzalez M.; Perez G. (1999). Pauta de condición de las veranadas en la IX Región de La Araucanía. Ministerio de Agricultura, Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), Depto. de Protección de los Recursos Naturales Renovables, 9: 1-71.
- Albert L. (1990). Curso básico de toxicología ambiental. Editorial Noriega Limusa. México. 225 p.
- Albert L. (2004). Contaminación ambiental: origen, clases, fuentes y efectos en Toxicología ambiental. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. México. 61-74
- Alloway B. J. (1995). Heavy Metals in Soils. Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, London, 368 p.
- Anderson E. y H. C. Cutler (1942). Races of Zea mays I. Their recognition and classification. Annals of Missouri Botanical Garden 29:69-88.
- Andrew, A., Burgess J., Meza M., Demidenko E., Waugh M., Hamilton J. y Karagas M. (2006). Arsenic Exposure Is Associated with Decreased DNA Repair in Vitro and in Individuals Exposed to Drinking Water Arsenic. *Environmental Health Perspectives*. 114: 1193-1198.
- Armienta, M., Ongley, L., Rodríguez, R., Cruz, O., Mango, H. y Villaseñor, G. (2008). Arsenic distribution in mesquite (*Prosopis laevigata*) and huizache (*Acacia farnesiana*) in the Zimapán mining area, México. *Geochemistry: Exploration, Environment, Analysis*. 8:191-197.
- Bautista-Cruz A. y Arnaud-Viñas M. (2006). Elementos potencialmente tóxicos en suelos agrícolas con manejo de riesgo contaminante. *Naturaleza y Desarrollo*. 4: 36-42.
- Baker A. y Walker P. (1990). Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: SHAW, A.J. (Ed.). Heavy metal tolerance in plants: Evolutionary aspects. Boca Raton: CRC Press. 155- 177 p.
- Barceló J. y Poschenrieder C. (2003). Phytoremediation: principles and perspectives. Contributions to Science. Institut Estudis Catalans, Barcelona. 2:333-344.
- Basta N. T.; Tabatabai M. A. (1992). Effect of cropping systems on adsorption of metals by soils: II- Effect of pH. *Soil Sci*. 153(2), 195-204.
- Basu, A., Mahata J., Gupta S. y Giri A., (2001). Genetic toxicology of a paradoxical human carcinogen, arsenic: a review. *Reviews in Mutation Research*. 488: 171-194.
- Basu, A., Som A., Ghoshal S., Mondal L., Chaubey R., Bhilwade H., Rahman M. y Giri A., (2005). Assessment of DNA damage in peripheral blood lymphocytes of individuals susceptible to arsenic induced toxicity in West Bengal, India. *Toxicology Letters*. 159:100-112.
- Boyás, D. J. C., (1992). Determinación de la productividad, composición y estructura de las comunidades arbóreas del estado de Morelos en base a unidades ecológicas. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 269
- Bussiére B.; Aubertin M., Benzaazoua M. y Gagnon D. (2000). Modelo de estimación de costos de restauración de emplazamientos mineros generadores de DAM. Environmental Society of CIM. S.N: 1-27.
- Brunett Pérez L. (2005). *Contribución a la evaluación de la sustentabilidad; estudio de caso dos agroecosistemas campesinos de maíz y leche del Valle de Toluca*. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de México. México. 215 p.
- Calow P. (1993). Handbook of ecotoxicology. Vol. I. 478 p. Blackwell Science Ltd., London, England.
- CAMIMEX, (2018). Informe anual 2018/cámara minera de México/LXXXI Asamblea general ordinaria. Estadísticas. En: https://www.camimex.org.mx/files/8715/3073/8412/05_info_2018.pdf
- Castañeda-Bautista J.A. (2016). Estudio ecotoxicológico de los jales mineros de Huautla, Morelos: El caso de *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Beth. (Fabaceae). Maestría en biología integrativa de la biodiversidad y la conservación. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos. Mexico. 73pp.
- Cervantes-Ramírez L. (2010). Daño genotóxico en *Baiomys musculus* (Rodentia:Muridae) por

- efecto de los jales mineros de Huautla, Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 65 p.
- Cervantes-Ramírez L. (2014). Genotoxicidad en *Zea mays* y *Eisenia foetida* asociados a agroecosistemas expuestos a jales mineros en Santa Rosa, Guerrero. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México.
- Chan-Quijano, J., Ochoa-Gaona, S., Pérez-Hernández, I., Gutiérrez-Aguirre, M. y Saragos-Méndez, J., (2012). Germinación y sobrevivencia de especies arbóreas que crecen en suelos contaminados por hidrocarburos. *Teoría y praxis*. 12: 102-119.
- Colombo L.; Mangione S.B.; Figlioglia A. (1998). Soil profile distribution of heavy metals in soil attended with sewage sludge for eight years. *Agr. Med. Inter. J. of Agric. Sci.* 128: 273-283.
- CONABIO. (2011). Base de datos del proyecto global "Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México". Octubre de 2010. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D. F. <http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/proyectoMaices.html>
- CONANP. (2016). Programa de Conservación de Maíz Criollo en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México.
- Contreras-MacBeath, T., E. Ongay-Delhumeau y V. Sorani D. 2002. Programa Estatal de Ordenamiento Territorial Sustentable de Morelos Fases I, II y III. Incluyendo los subsistemas Natural, Social y Económico. SEDESOL. 600 p. y 62 mapas
- Dhawan A.; Bajpayee M. y Parmar D. (2009). Comet assay: a reliable tool for the assessment of DNA damage in different models. *Cell Biology and Toxicology*. 25: 5-32.
- Dickinson N.M., Baker A.J.M., Doronila A., Laidlaw S., Reeves R.D. (2009). Phytoremediation of inorganics: realism and synergies. *International Journal of Phytoremediation* 11: 97-114.
- Doménech A.; Fernández-Garayzábal J. F.; Lawson P. J. A. García; Cutuli M. T. M. Blanco; Gibello A.; Moreno M. A.; Collins M. D. y Domínguez L. (1997). Winter disease outbreak in sea-bream (*Sparus aurata*) associated with *Pseudomonas anguilliseptica* infection. 156:317-326
- Dukesnoy I.; Champeau G.M.; Evray G.; Ledoigt G y Piquet-Pissaloux A. (2010). Enzymatic adaptations to arsenic-induced oxidative stress in *Zea mays* and genotoxic effect of arsenic in root tips of *Vicia faba* and *Zea mays*. *Comptes Biologies*. 333: 814-824.
- Erturk, F. A., Ay, H., Nardemir, G. y Agar, G. (2013). Molecular determination of genotoxic effects of cobalt and nickel on maize (*Zea mays* L.) by RAPD and protein analyses. *Toxicology and Industrial Health*. 29: 662-671.
- Eweis, J.B., S.J. Ergas, D.P. Chang y E.D. Schroeder (1998). *Bioremediation Principles*. McGraw-Hill International Editions. 296 pp.
- Ferrer A. (2003). Intoxicación por metales. *Anales Sis San Navarra*. 26: (supl. 1) 141-153.
- Fitter A. H.; Kay, R. K. M. (1987). *Environmental physiology of plants*. Academic press. San Diego.
- Fuentes – Reza A., (2017). Bioacumulación y análisis de la estructura y diversidad genética de *prosopis laevigeta* por exposición a metales en Huautla, Morelos. Tesis de Licenciatura en Ciencias Ambientales, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Franco-Hernández M.; Vásquez-Murrieta M.; Patiño-Siciliano A. y Dendooven L., (2010). Heavy metals concentration in plants growing on mine tailings in Central Mexico. *Bioremediation Techniques*. 101: 3864-3869.
- CEAMA., (2001). Comisión Estatal del Agua y Medio Ambiente. Plan de Acción Ambiental Estatal 2001-2006.
- Cheng, S., (2003). Effects of heavy metals on plants and resistance mechanisms. *Heavy Metal Pollution in China*. 10: 256 - 264.
- Cuevas G. y Walter E., (2004). Metales pesados en maíz (*Zea mays* L.) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 20 (2) 59-68, 2004.

- García, E. – Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), (1998). "Climas (Clasificación de Koppen, modificado por García)".
- Gardea-Torresdey J., Peralta-Videa J.; de la Rosa, G. y Parsons J., (2005). Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. *Coordination Chemistry Reviews*. 249: 1797-1810.
- Gómez-Bernal J.; Santana-Carillo J.; Romero-Martin F.; Armienta-Hernández M.; Morton-Bermea O. y Ruiz-Huerta E., (2010). Plantas de sitios contaminados con desechos mineros en Taxco, Guerrero, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 87: 131-133.
- Gómez-Caminero, A., Howe P., Hughes M., Kenyon E., Lewis D., Moore M., Ng J., Aitio A. y Becking G., (2001). *Arsenic and arsenic compounds*. World Health Organization. Suiza. 37-45 pp.
- Gómez M.; N. O.; B. Coutiño E. y A. Trujillo C., (2010). Proyecto FZ016 "Conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México, segunda etapa 2008- 2009". Informe final de la región Pacífico Sur. INIFAP, Campo Experimental Iguala. Iguala, Guerrero, México. 21 p.
- González R. J. M., (1994). Promising characteristics to soil conservation and forage production from rhodes grass sown on shallow and stony soil under rainfall conditions. 15th World Congress of Soil Science. Acapulco, México. Vol. 7b: 269-270.
- Guerrero D. (2004). Conceptos básicos de ecología y su relación con la toxicología ambiental. En: *Toxicología*. Universidad de Juárez. México. 61-74.
- Gutiérrez-Galindo E.; Villaescusa-Celaya J. A. and Arreola-Chimal A. (1999) Bioaccumulation of metals in mussels from four sites of the coastal region of Baja California. *Ciencias Marinas*. 25 (4): 557-578.
- Gutiérrez-Ruiz M.; Romero F.; González-Hernández G. (2007) Suelos y sedimentos afectados por la dispersión de jales inactivos de sulfuros metálicos en la zona minera de Santa Bárbara, Chihuahua, México. *Rev Mex Cienc Geol* 24:170–184
- Harlan J. R. y J. M. J. de Wet. (1971). Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon* 20(4):509- 517.
- Hartwing A. (1995). Current aspects in metal genotoxicity. *Biometals* 8: 3-11.
- Hartwing A. (2001) Zinc finger proteins as potential targets for toxic metal ions: differential effects on structure and function. *Antiox. Redox Sign*. 3: 625-634.
- Hernández-Gómez M.A. (2014). Estructura de la comunidad de microartrópodos a través de un gradiente de contaminación por metales pesados en Huautla, Morelos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Hernández X.; E. y G. Alanís F. (1970). Estudio morfológico de cinco razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México: Implicaciones filogenéticos y fitogeográficas. *Agrociencia* 5 (1): 3–30.
- Hong, R., Yang, G. y Liu, D., (1991). Effects of Cd on the growth and physiological biochemical reaction of wheat seedlings. *Acta Agriculture Boreli-Sinica*. 6: 70-75.
- Hooda Peter and Alloway B. J. (1998). Cadmium and lead sorption behavior of selected English and Indian soils. *Geoderma*. 84. 121-134. 10.1016/S0016-7061(97)00124-9.
- Hou Q.; Zhongfang Y.; Junfeng J.; Tao Y.; Guoguang C.; Juan L., Xueqi X.; Ming Z. y Xuyin Y. (2013). Annual net input fluxes of heavy metals of the agro-ecosystem in the Yangtze River delta, China. *Journal of Geochemical Exploration*. Doi 2013.08.007.
- Hopkin S., (1989). *Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates*. Elsevier Applied Science, 366pp.
- Hughes, M., (2006). Biomarkers of exposure: a case of study with inorganic arsenic. *Environmental Health Perspectives*. 114: 1790-1796.
- Hutchinson, S.L., M.K. Banks y A.P. Schwab (2001). Phytoremediation af aged petroleum sludge: effect of inorganic fertilizer. *J. Environ. Qual*. 30: 395-403. Instituto Nacional de Ecología Y

- Cambio Climático. (2014). Contaminación de suelos por metales y metaloides. En: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/459/cap2.html>
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2004) Información Geográfica del Estado de Morelos, México.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (2010) Industria minero-metalúrgica en México Boletín de prensa núm. 482/11.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2014). Población de Huautla, Morelos, En <http://www.microrregiones.gob.mx/catloc/LocdeMun.aspx?tipo=clave&campo=loc&ent=17&mun=025>.
- Ivanov V.; Bystrova E. I. y Seregin I. V., (2003). Comparative Impacts of Heavy Metals on Root. *Russian J Plant Physiol* 50: 398-406.
- Jorgensen S. E., (2016). *Ecotoxicology and Chemistry Applications in Environmental Management*. CRC Press. Copenhagen University, Denmark. 326 pp.
- Kabata-Pendias, A., (2000). *Trace elements in soils and plants*. Third Edition. CRC Press, -Boca Raton, USA.
- Kabata-Pendias A. and Pendias H., (2001). *Trace elements in soils and plants* CRC. Press, Florida.
- Kaigorodova S. y Smirnov Y., (2007). Duration of technogenic geochemical anomaly in the impact zone of copper smelter in the Central Urals. *Modern Problems of Soil Pollution*. 2: 92-96.
- Kevin C.; Michael L., (2001). Bioaccumulation of metals in plants, arthropods, and mice at a seasonal wetland. University of California, John Muir Institute of the Environment, Davis, California, USA.
- Laurinolli M; Bendell-Young L., (2006). Copper, zinc, and cadmium concentrations in *Peromyscus maniculatus* of an Illinois wildlife refuge and indigenous small mammals. *J am vet med Assoc* 185:1309-1313.
- Liu, H. y Cui, S., (1991): Effects of cadmium on the seed germination, growth of seedling, oxydase isoenzyme of crops. *Environmental Science*. 12: 29-31.
- Maldonado M.; Rodríguez C.; López A.; Wrobel K. y Wrobel K., (2011). Global DNA methylation in earthworms: A candidate biomarker of epigenetic risks related to the presence of metals/metalloids in terrestrial environments. *Environmental Pollution*.159: 2387-2392.
- Marin-Guirao L, Marín Atucha E, Lloret Barba J, Martínez López J, García Fernández A., (2005) Effects of mining wastes on a seagrass ecosystem: Metal accumulation and bioavailability seagrass dynamics and associated community structure. *Marine Environ Res* 60:317–337
- Márquez M.; López J.; Correa G.; Pareja A. y Giraldo N., (2003). Detección del daño genotóxico agudo y crónico en una población de laboratoristas ocupacionalmente expuestos. *IATREIA*. 16: 275-282.
- Martínez, C., (2009). Efecto de los metales pesados en jales mineros sobre la comunidad vegetal de la microcuenca de Huautla y el daño genotóxico en su herbívoro dominante *Peromyscus levipes* (Rodenta: Muridae). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del Estado de Querétaro.
- Martínez-Pacheco M., (2008). Evaluación de los efectos genotóxicos de metales presentes en el agua de bebida de la población de Huautla, Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 77 p.
- Mejía J.; Carrizales L.; Rodríguez V.; Jiménez-Capdeville M.; Díaz-Barriga F., (1999) Un método para la evaluación de riesgos para la salud en zonas mineras. *Salud Públ Méx* 4:132–140.
- Metals Economics Group, *Worldwide Exploration Trends (2013)*, A Special Report from SNL Metals Economics Group for the PDAC International Convention.
- Meteored.mx. - https://www.meteored.mx/clima_Huautla-America+Norte-Mexico-Morelos--1-78185.html
- Moncur M.C.; Ptacek C.J.; Blowes D.W.; Jambor J.L., (2004) Release, transport and attenuation of metals from an old tailings impoundment. *Appl Geochem* 20:639–659.

- Monni S.; Uhlig C.; Hansen E. y Magel E., (2001). Ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to heavy metal pollution. *Environmental Pollution*. 112: 121-129.
- Moore, L., Warner M., Smith A., Kalman D. y Smith M., (1996). Use of the fluorescent micronucleus assay to detect the genotoxic effects of radiation and arsenic exposure in exfoliated human epithelial cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 27: 176-184.
- Moriarty F., (1990). *Ecotoxicology: The study of pollutants in ecosystems*. Academic Press. Reino Unido.
- Mussali-Galante P., (2001). ¿Es la técnica de electroforesis unicelular (ensayo cometa) capaz de predecir el efecto de fármacos antineoplásicos? Estudio inicial sobre la inducción de daño al ADN de sustancias antineoplásicas con mecanismos de acción conocidos. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 113 p.
- Mussali-Galante P.; Ávila-Costa M.; Piñón-Zarate G.; Martínez-Levy G.; Rodríguez-Lara V.; Rojas-Lemus M. (2005) DNA damage as an early biomarker of effect in human health. *Toxicol Ind Health* 21: 55-66.
- Mussali-Galante P.; Tovar-Sánchez E.; Valverde M.; Rojas del Castillo E. (2013) Biomarkers of exposure for assessing environmental metal pollution: from molecules to ecosystems. *Rev Int Contam Ambie* 29:117–140.
- Mussali-Galante P.; Tovar-Sánchez E.; Valverde M.; Valencia-Cuevas L.; Rojas E. (2013) Evidence of population genetic effects in *Peromyscus melanophrys* chronically exposed to mine tailings in Morelos, Mexico. *Environ Sci Poll Res* 20: 7666-7679.
- Murillo H. A. I. (2015). Detección de daño genotóxico en *Prosopis laevigata* de los jales de la Sierra de Huautla, Morelos, México provocado por metales pesados. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.. México. 66p.
- McBride H.J.; Brazas R. M. Yu Y.; Nasmyth K., Stillman D. J. (1997) Long-range interactions at the HO promoter. *Mol Cell Biol* 17(5):2669-78
- NMX-AA-132-SCFI-2006. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos naturales (SEMARNAT). Norma mexicana para identificación y cuantificación de metales y metaloides en suelos contaminados y manejo de las muestras.
- Navarro-Aviño J.; Aguilar A.; López-Moya J. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*.16:10-25.
- Newman M. C. (2014). *Fundamentals of Ecotoxicology: The Science of Pollution*. Fourth Edition. CRC Press. New York. 633 pp.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.
- Norma Oficial Mexicana NOM-117-SSA1-1994 “Bienes y servicios. Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, fierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica”.
- Norma Oficial Mexicana NOM-127/SSA-1-2004. Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano.
- Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación.
- Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSAA-2004. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos naturales (SEMARNAT). Norma Mexicana para determinación de metales en agua.
- Panin M., (2006). Technogenic impact on the contents of heavy metals in crops. *Geochemistry of the Biosphere*. S.N.: 279-281.
- Pastor J.; Gutierrez M. J. – Gines Hernández A. J., (2009). Proyecto CTM 2008-04827/TECNO del Ministerio de Ciencia e Innovación. Programa P2009/AMB-1478a (EIADES, de la CM).

- Peláez-Peláez, M.J., Bustamante J.J. y Gómez-López, E.D. (2016). Presencia de cadmio y plomo en suelos y su bioacumulación en tejidos vegetales en especies de *Brachiaria* en el Magdalena Medio colombiano. *Revista Luna Azul*, 43, 82-101.
- Pereira P.; Lopes W.; Carvalho L.; Rocha G., Bahia N.; Loyola J.; Quiterio S., Escaleira V.; Arbillá G. y Andrade J., (2007). Atmospheric concentrations and dry deposition fluxes of particulate trace metals in Salvador, Bahia, Brazil. *Atmospheric Environment*. 41: 7837-7850.
- Periódico Oficial "Tierra y libertad", Órgano del Gobierno del Estado Libre y Soberano de Morelos, 5199 - Ley de Protección y Conservación del Maíz Criollo en su estado genético para el Estado de Morelos. 6ª época, (25 de junio de 2014). 10 – 13 Pp.
- Piršelová, B., (2011). Monitoring the sensitivity of selected crops to lead, cadmium and arsenic. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 7: 31-38.
- Prieto F.; Lechuga M.; Méndez M.; Barrado E. y Gaitán J., (2006). Daños tóxicos en tejidos vegetales, producidos por aguas contaminadas con arsénico en Zimapán, Hidalgo, México. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 26: 94-97.
- Prieto M.; González C.; Román A. y Prieto F., (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 10(1) 29-44.
- Quevauviller, Ph., Rauret, G., López-Sánchez, J. F., Rubio, R. Ure, A. and Muntau, H., (1996), The certification of the EDTA-extractable contents (mass fractions) of Cd, Cr, Ni, Pb and Zn in sediment following a three-step sequential extraction procedure. Office for Official Publications of the European Communities, BCR Information, Luxembourg, 59 pp
- Ramos-Arroyo Y.; Siebe-Grabach CH., (2006) Estrategia para identificar jales con potencial de riesgo ambiental en un distrito minero: Estudio de caso en el distrito minero de Guanajuato, México. *Rev Mex Cien Geol* 23 (1): 54-74.
- Reichard, J., Schenekenburger M. y Puga A., (2007). Long term low-dose arsenic exposure induces loss of DNA methylation. *Biochemical Biophysical Research Communications*. 352: 188-192.
- Reichman S. M., (2002) The Responses of Plants to Metal Toxicity: A Review Focusing on Copper, Manganese and Zinc. In: Reichman S. M., Ed., *Symptoms and Visual Evidence of Toxicity* Melbourne, Australian Minerals and Energy Environment Foundation, Melbourne, 22-26.
- Rieuwerts J. S.; Thornton I.; Farago M. E.; Ashmore M. R., (1998). Factors influencing metal bioavailability in soils: preliminary investigations for the development of a critical loads approach for metals. *Chem. Speciat. Bioavail.*, 10(2), 61–75.
- Rojas, E., López M. y Valverde, M., (1999). Single cell gel electrophoresis assay methodology and applications. *Journal of Chromatography*. 722:225-254
- Rojas E., (2009). Special issue on the 20th anniversary of the comet assay. *Mutat Res Rev* 681: 1-2.
- Romero F.M.; Armienta M.A.; González-Hernández G., (2007) The solid-phase control on the mobility of potentially toxic elements in an abandoned lead/zinc mine tailings impoundment, Taxco, Mexico. *Appl Geochem* 22:109–127
- Romero F.; Armienta M.; Gutiérrez M.; Villaseñor G., (2008) Factores geológicos y climáticos que determinan la peligrosidad y el impacto ambiental de jales mineros. *Rev Int ContamAmb*. 24: 43-54.
- Romero FM, Gutiérrez-Ruiz M., (2010) Estudio comparativo de la peligrosidad de los jales en zonas mineras localizadas en el sur y centro de México. *Bol Soc Geol Mex*. 62:43–53
- Rossmann T., (2003) Mechanism of arsenic carcinogenesis: an integrated approach. *Mutat Res* 533: 37-65.
- Rout G., y Dan P., (2003). Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: I. Zinc. Trust Workshop, Institute of Cancer Research. *Mutation Research* 337:57-60.
- Roy, P. y Saha A., (2002). Metabolism and toxicity of arsenic: a human carcinogen. *Current Science*. 82: 38-45.

- Ruíz E. y Armienta M. (2012). Acumulación de Arsénico y metales pesados en maíz en suelos cercanos a jales o residuos mineros. *Rev Int Contam Ambie.* 28: 103-117
- Rzedowski J., (2006) Vegetación de México. Fondo de Cultura Económica, México.
- Sánchez G., J. J., (1989). Relationships among the Mexican Races o maize. Ph. D. Thesis. North Caroline State University, Department of Crop Science. Raleigh, N. C. 187 p.
- Sánchez G., J. J., (2011). Diversidad del maíz y teocintle. Informe preparado para el proyecto global "Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México" de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 98 p. Manuscrito. http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/proyecto/Anexo9_Analisis_Especialistas/Jesus_Sanchez_2011.pdf.
- Santoyo-Martínez M., (2016). Bioacumulación, daño genotóxico y cambios en la estructura y morfología foliar de *Acacia farnesiana* en los jales de Huautla, Morelos. Maestría en biología integrativa de la biodiversidad y la conservación. UAEM.
- Secretaria de Economía. (2019). En <https://www.gob.mx/se/acciones-y-programas/mineria>
- Seuntjens P., Nowack B., and Schulin R. (2004). Root-zone modeling of heavy metal uptake and leaching in the presence of organic ligands. *Plant and Soil* 265: 61–73.
- SEMARNAT. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2004) Dirección general del centro nacional de investigación y capacitación ambiental. Dirección de Investigación en Residuos y Proyectos Regionales. Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. Tania L. Volke Sepúlveda J. Antonio Velasco Trejo, D. Alejandro de la Rosa Pérez, Gustavo Solórzano Ochoa. Etapa I
- SEMARNAT. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2005) Dirección de Investigación en Residuos y Sitios Contaminados. Subdirección de Investigación en Sitios Contaminados y Sustancias Tóxicas. Informe anual de actividades. Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. Etapa II.
- Semple, K.T., B.J. Reid y T.R. Fermor (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environ. Pollution* 112: 269-283.
- Serratos Hernández J. A. (2012). El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. 2ª edición. Universidad Autónoma de la Ciudad de México. 31p.
- Silveira L.; Jácomo A. T. A. y Diniz-Filho. J.A.F. (2003). Camera trap, line transect census and track surveys: a comparative evaluation. *Biological Conservation* 114(3):351-355.
- Singh, N., McCoy, M., Tice R. y Schneider E. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research.* 175: 184-191.
- Smith S. K. y Huyck O. L. H. (1999). An overview of abundance, relative mobility, bioavailability, and human toxicity of metals. The environmental geochemistry of mineral deposits. Part A: Processes, techniques, and health issues. *Economic geol., reviews* 6A; 29-70.
- SMN, EMAS. Servicio Meteorológico Nacional de México, Estación Meteorológica Automática, estación Sierra de Huautla, Morelos (2018), Latitud (N): 18.5413888888889, Longitud (O): -98.9361111111111, Altitud: 1330.
- Sheppard S.; Grant C., Sheppard M.; de Jong R. y Long j. (2009). Risk indicator for agricultural inputs of trace elements to Canadian soils. *Journal of Environmental Quality.*38: 919-932.
- Schoen, A., Beck B., Sharma R. y Dubé E., (2004). Arsenic toxicity at low doses: epidemiological and mode of action considerations. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 198: 253-267.
- Shore R. 1995. Predicting cadmium, lead and fluoride levels in small mammals from soil residues and by species-species extrapolation. *Environmental Pollution.* 88: 333-340.
- Sunjog, K., Kolarević, S., Héberger, K., Gačić, Z., Knežević-Vukčević, J., Vuković-Gačić, B. y Lenhardt, M. (2013). Comparison of comet assay parameters for estimation of enotoxicity by sum of ranking differences. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* 405:4879-4885.

- Talavera O.; Yta M.; Moreno R.; Dótor A.; Flores N. y Durante C. (2005). Mineralogy and geochemistry of sulfide-bearing tailings from silver mines in the Taxco, Mexico area to evaluate their potential environmental impact. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México. *Geofísica Internacional*, vol. 44, núm. 1, January-march, 2005, pp. 49-64.
- Tapia A. y Araya M. (2006). Estrés oxidativo, por oxidantes y enfermedad de Crohn. *Revista médica de Chile*. 134:95-100.
- Thakur P. Madhav, Peter B. Reich, Cameron Wagg, Nicholas A. Fisichelli, Marcel Ciobanu, Sarah E. Hobbie, Roy L. Rich, Artur Stefanski and Nico Eisenhauer, (2016) Efectos de la historia del calentamiento del suelo en el rendimiento de especies herbáceas de plantas templadas y boreales congénitas y sus asociaciones con la biota del suelo. *J Plant Ecol*, 10.1093 / jpe / rtw066.
- Tice, R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi H., Miyamae Y., Rojas, E., Ryu, J. y Sasaki, Y. (2000). Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 35:206-221.
- Tovar-Sánchez E.; Cervantes L.T.; Martínez C.; Rojas E.; Valverde M.; Ortiz-Hernández M.L.; Mussali-Galante P. (2012) Comparison of two wild rodent species as sentinels of environmental contamination by mine tailings. *Environ Sci Pollut Res*. 19:1677–1686.
- Tovar-Sánchez E.; Mussali-Galante P.; Martínez-Pacheco M.; Ortiz-Hernández M. L.; Sánchez-Salinas E.; Olvera Velona A. (2016). Relationship Between Genotoxic Damage And Arsenic Blood Concentrations In Individuals Residing In An Arsenic Contaminated Area In Morelos, Mexico; *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, vol. 32, núm. 1, pp. 101-117.
- Thomas, D., Waters S. y Styblo M. (1996). Elucidating the pathway for arsenic methylation. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 198:319-326.
- U.S. Environmental Protection Agency (EPA). (2001). Treatment Technologies for Site Cleanup: Annual Status Report. 10th Edition. Office of Solid Waste and Emergency Response. <http://www.epa.gov/TIO>.
- Valavanidis A.; Vlachogianni T., Fiotakis C. (2009) 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG): a critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health Part C*. 27: 120-139.
- Valverde M.; Ostrosky-Wegman P.; Rojas M.; Fortoul T.; Meneses F.; Ramírez M.; Díaz- Barriga F. y Cebrian M. (1999). The application of single cell gel electrophoresis or comet assay to human monitoring studies. *Salud Pública de México*. 41: S109-S113.
- Van Deuren, J., Z. Wang, Z. y J. Ledbetter (1997). *Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide*. 3ª Ed. Technology Innovation Office, EPA. <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>.
- Van Leeuwen H. P. (1999). Metal speciation dynamics and bioavailability: Inert and labile complexes. *Environ. Sci. Technol*. 33: 3743–3748.
- Van Straalen N., Butovsky R., Pokarzhevskii A., Zaitsev A., Cornelis S. (2001). Metals concentrations in soil and invertebrates in the vicinity of metallurgical factory near Tula (Russia). *Pedobiologia*. 45: 451-466.
- Vanden-Heuvel J.; Davis J. (1999). Molecular approaches to identify exposure and risk to specific environmental pollutants. *Biomarkers* 4: 93-105.
- Vázquez A. (2010). Especiación química de metales pesados en suelos de cultivo de la región de Taxco, Guerrero, como una guía para evaluar el impacto de los residuos mineros en los recursos naturales del entorno. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Metropolitana. D.F. México. 67 p.
- Vazquez Carrillo G.; Guzman Baez L.; Andrez Garcia L.; Marquez Sanchez F. y Castillo Merino J. (2003) Calidad de granos de tortilla de maíz criollos y sus retrocruzas *Rev. Fitotec Mex* Vol 26(4):231-238.
- Velasco T. J.; De la Rosa P. D.; Ramírez M. y Volke T. (2005). Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales, Etapa II. SEMARNAT-INE, México. 36p.

- Vidal Z. R. (1980). Algunas relaciones clima-cultivos en el Estado de Morelos. Instituto de Geografía UNAM, México. 95 pp.
- Vidal M. (2009). Evaluación de los mecanismos de adsorción y acumulación intracelular del plomo (Pb^{2+}), en sistemas continuos de fitorremediación con *Salvinia minima*. Tesis de maestría. Instituto de Ecología. México. 99 p.
- Vodyanitskii Y. (2013). Contamination of Soils with Heavy Metals and Metalloids and Its Ecological Hazard (Analytic Review). *Eurasian Soil Science*. 46: 793–801.
- Volke S. T., Velasco T. J. A.; De la Rosa D. A.; Solórzano O. G., (2004). Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. (Primer informe), México, Dirección general del Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental.
- Volke, T. y Velasco J. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. México: INE-SEMARNAT, 2002, 64 pp.
- Wang W. (1991). Literature review on higher plants for toxicity testing. *Water, Air and Soil Pollution*. 59: 381-400.
- Wellhausen E. J.; Roberts L. M.; E. Hernández X. en colaboración de P. C. Mangelsdorf. (1951). Razas de maíz en México. Su origen, características y distribución. Oficina de Estudios Especiales-Secretaría de Agricultura y Ganadería. Folleto técnico Núm. 55. México D.F.
- Wilkes H. G. (1977). Hybridization of maize and teosinte, in México and Guatemala and the improvement of maize. *Economic Botany* 31:254-293.
- Yin Z.; Smith R. J.; Brown A. J. (1996) Multiple signalling pathways trigger the exquisite sensitivity of yeast gluconeogenic mRNAs to glucose. *Mol Microbiol* 20(4):751-64.
- Zhang, Y. 1997. The toxicity of heavy metals to barley (*Hordeum vulgare*). *Acta Scientiae Circumstance*. 17: 199-204.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



"1919-2019: en memoria del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca Mor., a 20 de mayo del 2019

**Comisión de Seguimiento Académico
Maestría en Biología Integrativa de la
Biodiversidad y la Conservación
Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada **"BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS Y DAÑO GENOTÓXICO EN CULTIVOS DE TRASPATIO *Zea mays* L. (raza pepitilla) EN SUELOS EXPUESTO A JALES MINEROS, EN HUAUTLA, MORELOS: BASES PARA GENERAR UNA PROPUESTA DE MITIGACIÓN"** del alumno **Carlos Antonio Vergara Allende**, con número de matrícula **7920170901**, aspirante al grado de Maestro en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente

Dr. Efraín Tovar Sánchez

C.i.p. – Archivo.



"1919-2019: en memoria del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca Mor., a 20 de mayo del 2019

**Comisión de Seguimiento Académico
Maestría en Biología Integrativa de la
Biodiversidad y la Conservación
Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada **"BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS Y DAÑO GENOTÓXICO EN CULTIVOS DE TRASPATIO *Zea mays* L. (raza pepitilla) EN SUELOS EXPUESTO A JALES MINEROS, EN HUAUTLA, MORELOS: BASES PARA GENERAR UNA PROPUESTA DE MITIGACIÓN"** del alumno **Carlos Antonio Vergara Allende**, con número de matrícula **7920170901**, aspirante al grado de Maestro en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente,



Dra. Belinda Josefina Maldonado Almanza

C.i.p. – Archivo.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



CEIB
CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN BIOTECNOLOGÍA

Centro de Investigación en Biotecnología

"1919-2019: en memoria del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca Mor., a 20 de mayo del 2019

**Comisión de Seguimiento Académico
Maestría en Biología Integrativa de la
Biodiversidad y la Conservación
Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada "BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS Y DAÑO GENOTÓXICO EN CULTIVOS DE TRASPATIO *Zea mays* L. (raza pepitilla) EN SUELOS EXPUESTO A JALES MINEROS, EN HUAUTLA, MORELOS: BASES PARA GENERAR UNA PROPUESTA DE MITIGACIÓN" del alumno Carlos Antonio Vergara Allende, con número de matrícula 7920170901, aspirante al grado de Maestro en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una Universidad de Excelencia

Dra. Patricia Mussali Galante
Profesora Investigadora de Tiempo Completo
CEIB-UAEM



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



DGDS
DIRECCIÓN GENERAL DE
DESARROLLO SUSTENTABLE

COORDINACIÓN GENERAL DE PLANEACIÓN Y ADMINISTRACIÓN

"1919-2019: en memoria del General Emiliano Zapata Salazar"
DIRECCIÓN GENERAL DE DESARROLLO SUSTENTABLE

Cuernavaca Mor., 20 de mayo de 2019
Asunto: Voto aprobatorio
DGDS/227/2019

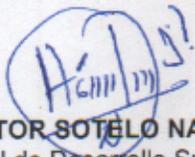
**COMISIÓN DE SEGUIMIENTO ACADÉMICO
MAESTRÍA EN BIOLOGÍA INTEGRATIVA DE LA
BIODIVERSIDAD Y LA CONSERVACIÓN
PRESENTE**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada "BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS Y DAÑO GENOTÓXICO EN CULTIVOS DE TRASPATIO *Zea mays* L. (raza pepitilla) EN SUELOS EXPUESTO A JALES MINEROS, EN HUAUTLA, MORELOS: BASES PARA GENERAR UNA PROPUESTA DE MITIGACIÓN" del alumno **Carlos Antonio Vergara Allende**, con número de matrícula 7920170901, aspirante al grado de Maestro en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una Universidad de Excelencia




DR. HÉCTOR SOTELO NAVA
Director General de Desarrollo Sustentable

c.c.p. Archivo.
HSN/MLCG

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209.
Tel. (777) 329 70 00 Ext. 3014, y 3901 / desarrollo.sustentable@uaem.mx

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



COORDINACIÓN GENERAL DE PLANEACIÓN Y ADMINISTRACIÓN

"1919-2019: en memoria del General Emiliano Zapata Salazar"
DIRECCIÓN GENERAL DE DESARROLLO SUSTENTABLE

Cuernavaca Mor., 20 de mayo de 2019
Asunto: Voto aprobatorio
DGDS/228/2019

**COMISIÓN DE SEGUIMIENTO ACADÉMICO
MAESTRÍA EN BIOLOGÍA INTEGRATIVA DE LA
BIODIVERSIDAD Y LA CONSERVACIÓN
P R E S E N T E**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada "BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS Y DAÑO GENOTÓXICO EN CULTIVOS DE TRASPATIO *Zea mays* L. (raza pepitilla) EN SUELOS EXPUESTO A JALES MINEROS, EN HUAUTLA, MORELOS: BASES PARA GENERAR UNA PROPUESTA DE MITIGACIÓN" del alumno **Carlos Antonio Vergara Allende**, con número de matrícula 7920170901, aspirante al grado de Maestro en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una Universidad de Excelencia



DRA. MA. LUISA CASTREJÓN GODÍNEZ
Jefa de Departamento de Educación Ambiental

c.c.p. Archivo.
HSN/MLCG