



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EVALUACIÓN DEL DAÑO GENOTÓXICO EN LA
LÍNEA CELULAR NL-20 PROVOCADO POR
EXTRACTOS DE MUSGOS EXPUESTOS A
CONTAMINANTES ATMOSFÉRICOS, EN CINCO
ZONAS DE LA CIUDAD DE MÉXICO Y ÁREA
METROPOLITANA**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

DANIELA ORTIZ DÍAZ



**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO
CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX, 2019**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. Datos del alumno
Ortiz
Díaz
Daniela
5521127105
Universidad Nacional Autónoma de
México
Facultad de Ciencias
Biología
311633544
2. Datos del tutor
Dra.
Sandra
Luz
Gómez
Arroyo
3. Datos del sinodal 1
Dr.
Luis Felipe
Jiménez
García
4. Datos del sinodal 2
Dra.
Rosario
Rodríguez
Arnaiz
5. Datos del sinodal 3
Dr.
Pedro Rafael
Valencia
Quintana
6. Datos del sinodal 4
Dra. Josefina
Cortés
Eslava
7. Datos del trabajo escrito
Evaluación del daño genotóxico en la línea celular NL-20 provocado por extractos de musgos expuestos a contaminantes atmosféricos, en cinco zonas de la Ciudad de México y área metropolitana.
77 p.
2019

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a mi tutora, la Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo, por su apoyo incondicional, asesoramiento y enseñanza que me brindo desde mi primer día en el CCA, sobre todo por la oportunidad que se me dio al participar en uno de sus proyectos.

A mis sinodales, por su tiempo, observaciones, consejos y aportaciones en la revisión de este trabajo.

Agradezco al Dr. Francisco Jesús Arenas Huertero por su asesoramiento en el manejo de la línea celular y por el uso de equipo para la realización de esta tesis. Asimismo, para todo el equipo de trabajo del Laboratorio de Patología Experimental del Hospital Infantil, por su compañerismo, orientación y capacitación a lo largo de mi estancia.

A la M. en C. Ana Rosa Flores Márquez por el apoyo técnico para el desarrollo de la presente tesis, así como por transmitir sus conocimientos, orientación en el manejo de células humanas, constancia y eficacia en el trabajo de laboratorio.

A la Dra. Josefina Cortés Eslava por iniciarme en el trabajo en laboratorio, apoyo y conocimientos.

Al Dr. Cesar Damián Alonso Murillo, por su apoyo en el desarrollo del musgo en esta investigación.

Agradezco al team musgo: Julio Alejandro Moreno, Biol. Paola Loza G. y Karla por sus consejos y tiempo invertidos en el proyecto. Y a los muchos otros en el laboratorio que apoyaron y colaboraron.

A la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Ciudad de México por la beca otorgada para la realización de la presente tesis a través del proyecto SECITI/056/2016.

Al Centro de Ciencias de la Atmósfera por permitirme el uso de sus instalaciones y a su equipo de trabajo que apoyo de diversas maneras en la realización de mi trabajo.

Dedicatoria

Este trabajo se lo quiero dedicar a mi familia, por el apoyo incondicional y la oportunidad que me brindan de seguir mis sueños. A mis padres por estar siempre presentes en todo lo que hago. A ti mamá, por inculcarme que el esfuerzo y la dedicación son necesarios en todo lo que hacemos, no siempre es fácil, pero siempre se logra alcanzar la meta. A ti papá, por enseñarme a dar siempre más de lo que puedes hacer, y así lograr marcar una diferencia. A mi hermana por las pláticas eternas, consejos y aliento de no rendirme. Gracias, son mi vida.

A mis tíos José Manuel Fernández y Claudia Chávez por siempre estar presentes en nuestras vidas y nunca rendirse, y a mis primos por dejarme vivir y sentir, el corazón y la entrega que le ponen a cada uno de sus proyectos, los amo.

A mis amigos, por escucharme, animarme, ayudarme, por los viajes, las risas y los chismes infinitos. Félix, Pablo, Sandra y Susana, creo que hoy puedo decir que serán unos grandes colegas en lo que nos queda de vida.

A mi mejor amiga Erika por siempre estar presente en mis derrotas, triunfos y locuras; y aunque antes no me caía bien, hoy puedo decir que es una de las personas más importantes en mi vida. Y por último a mi amigo Julio por el apoyo incondicional durante la realización de este proyecto, motivación y locura.

INDICE

RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN.....	3
II. ANTECEDENTES.....	5
1. Contaminación atmosférica	5
2. Contaminación en la Ciudad de México (CDMX)	5
3. Material particulado (PM)	7
3.1 Metales pesados (MP)	7
3.2 Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP´s).....	13
4. Musgos (<i>Hypnum amabile</i>).....	14
Bioacumulador	15
5. Células epiteliales bronquiales humanas NL-20.....	16
6. Evaluación del daño genotóxico (genotoxicidad).....	16
Ensayo cometa	17
III. JUSTIFICACIÓN	19
IV. HIPÓTESIS	20
V. OBJETIVOS.....	20
1. General.....	20
2. Particulares.....	20
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
1. Mantenimiento de musgos provenientes de Chignahuapan, Puebla.....	21
2. Obtención de extractos.....	22
3. Determinación de metales pesados con espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)	23
4. Determinación de HAP´s en los musgos con cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	24
5. Expansión y mantenimiento de línea celular NL-20.....	24
6. Tratamientos con extractos	25
7. Evaluación del daño genotóxico por la técnica de electroforesis unicelular alcalina en la línea celular NL-20	26
7.1. Aislamiento de núcleos	26
7.2. Electroforesis	27

7.3. Tinción	27
7.4. Observación.....	27
8. Análisis estadístico	28
VII. RESULTADOS	29
Extractos.....	29
Determinación de metales pesados.....	29
Determinación de HAP's	29
Genotoxicidad en NL-20	30
VIII. DISCUSIÓN.....	35
IX. CONCLUSIONES.....	44
X. RECOMENDACIONES.....	44
XI. REFERENCIAS	45
XII. ANEXOS	53
Anexo 1	54
Anexo 2.....	63
Anexo 3.....	72
Anexo 4.....	75

RESUMEN

El tema sobre la contaminación del aire ha tomado gran impacto en la sociedad durante los últimos años. Existen dos fuentes de emisión de contaminantes: antropogénicos (industrias automóbiles, etc.) y naturales (erupciones, incendios, etc.). Se ha demostrado la acción del material particulado y su repercusión en la salud humana, así como el daño que causan en diferentes frecuencias y momentos de exposición.

En el presente trabajo se evaluó la genotoxicidad inducida en la línea celular NL-20 por los contaminantes [metales pesados (MP) e hidrocarburos aromáticos policíclicos HAP's] acumulados y superficiales presentes en el musgo *Hypnum amabile* expuesto en 5 zonas de la Ciudad de México y área metropolitana; ubicadas en Coyoacán, Iztapalapa, La Merced, San Agustín y Tlalnepantla, con tiempos diferentes de exposición (mensual y acumulado de 8 meses) y en temporada de secas frías (noviembre, diciembre, 2016, enero, 2017) y secas calientes (febrero, marzo, abril, 2017), así como de lluvias (mayo y junio, 2017).

Cada mes se recolectó el musgo expuesto, una parte se lavó (para evaluar absorción) y la otra no (adsorción), se pesó, se obtuvo la fase acuosa (extractos) y se realizaron tratamientos de 24 horas en la línea celular bronquial NL-20 para evaluar el daño genotóxico mediante el ensayo cometa (electroforesis unicelular alcalina). Los núcleos se tiñeron con bromuro de etidio y se observaron con ayuda de un microscopio de fluorescencia, se analizaron con el programa Comet Assay IV, considerando el momento de la cauda como indicador de daño. Por otra parte, se realizó la determinación de MP presentes en los extractos por el método de espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) detectándose: Cr, Sb, Al, V, As, Co, Ni, Mo, Cd, Pb, Mn, Fe, Cu. Asimismo, para la determinación de HAP's se utilizó el método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, obteniendo: acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo[j]fluoranteno, benzo[a]antraceno, benzo[ghi]perileno, criseno, ciclopenta[c,d]pireno, trifenileno, tripticeno, fluoreno, fenantreno, fluoranteno, perileno, pireno, reteno, 9-metilantraceno, 2-metilantraceno, 1-metilantraceno, 4,5-

dimetilentenantino, 7,12-dimetilbenzo[a]antraceno, indeno[1,2,3-cd]pireno y naftaleno.

Se realizó un análisis de varianza y la prueba de Tukey con un 95% de confianza, para contrastar el daño al DNA de cada variable contra el testigo negativo (mantenido en el laboratorio en cámara con condiciones controladas). Los resultados mostraron que los extractos de los musgos expuestos en temporada de secas frías presentan mayor daño en el DNA en las zonas del norte, se observó una correspondencia con la concentración de MP y HAP's presentes en los extractos. En la temporada de secas calientes, el daño fue ocasionado por los metales y HAP's provenientes del tráfico vehicular (zonas sur y centro). Se evidenció que las mezclas de los contaminantes pueden provocar toxicidad.

El musgo logró acumular MP y HAP's, muchos de ellos dañinos para la salud. Se encontraron diferencias en la genotoxicidad entre zonas (por las actividades antropogénicas particulares), por temporada (el clima influye en la concentración, depósito y acumulación de contaminantes) y tratamientos (lavado y sin lavar).

I. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años ha aumentado la severidad con la que se tratan los temas como la contaminación y el cambio climático, por los riesgos que presentan. La contaminación del aire se ha convertido en un problema mundial (Rosales-Castillo et al., 2001). La contaminación atmosférica se puede definir como: la presencia en el aire de materia que implique riesgo o daño para personas y bienes de cualquier naturaleza (Aránguez et al., 1999).

En la Ciudad de México ha habido incremento en la contaminación del aire y con esto, de partículas menores a 10 micrómetros (PM_{10}) y de MP asociados a ellas (Machado et al., 2008), que pueden provocar daño en el sistema respiratorio, derivando en enfermedades (SEDEMA, 2015); ocasionada por el parque vehicular, constituido de aproximadamente 3 millones de automóviles (Miguel-Pérez et al., 2013), las industrias (Soto-Coloballes, 2017) y la presencia de diferentes agentes biológicos (Calderón-Ezquerro et al., 2018). Además, su topografía incluye importantes cadenas montañosas que impiden la libre circulación del aire, lo cual agrava estas condiciones ambientales (Téllez et al., 1997).

Las actividades antropogénicas están estrechamente ligadas con el aumento de las concentraciones de MP e hidrocarburos. El Pb, Cu, Ni, Cr, Cd y Fe de partículas suspendidas son atribuidos principalmente al tráfico vehicular (Fernández et al., 2000). El Zn y Cr están especialmente relacionados con emisiones en condiciones de altas temperaturas en actividades antropogénicas (industria y transporte) y biogénicas (emisiones volcánicas e incendios forestales) (Machado et al., 2008). Los HAP's son compuestos orgánicos con dos o más anillos de benceno fusionados (Huang et al., 2018), provenientes de la combustión incompleta de bosques, erupciones volcánicas, además de las actividades antropogénicas anteriormente mencionadas, entre otros. El daño que ocasionan estos contaminantes dependerá del tipo de exposición, del tiempo y de la vía de absorción (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011).

El uso de biomonitores en estudios de contaminación ambiental ha empezado a utilizarse ya que presentan varias ventajas. Los beneficios van desde

la simplicidad del muestreo, el grado de acumulación de contaminantes (por tener un alto ratio de superficie volumen) hasta el uso de equipo más económico (Bedregal et al., 2009). Las plantas al ser susceptibles a cambios en su ambiente han sido excelentes organismos para estos trabajos; diferentes especies son usadas para evaluar los efectos de diversos contaminantes ambientales.

En el desarrollo del presente estudio, se eligió el musgo (*Hypnum amabile*) ya que presenta características idóneas como biomonitor (Zechmeister et al., 2007) y bioacumulador, puesto que carece de una cutícula, sistema vascular y radicular bien desarrollado, por lo que, absorben la mayor parte de sus nutrientes, por vía atmosférica y no por el sustrato (Fernández et al., 1999). Desde hace tiempo, se empezaron a emplear en Europa para seguimiento de la contaminación como medida indirecta de depósito atmosférico de MP (Fernández et al., 1999).

Por otra parte, existen diferentes métodos para evaluar el daño genotóxico. La técnica de electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa), es utilizada para detectar rupturas de cadena sencilla, además de otras alteraciones como rupturas de cadena doble, sitios sensibles al alcalí y enlaces cruzados (Singh et al., 1988; Kumaravel y Jha, 2006). El DNA se caracteriza por ser una molécula con carga negativa; cuando las laminillas son observadas, se presenta algo semejante a un cometa, en donde, la cabeza es DNA no dañado y la cauda es DNA fragmentado que ha migrado hacia el ánodo (+). Esta prueba ha sido muy utilizada por su sensibilidad y por la rápida obtención de resultados (Rojas et al., 1999).

La línea celular bronquial humana (NL-20) se ha utilizado para diferentes estudios que impliquen algún agente que pueda estar provocando alteraciones, como es el caso del estudio realizado por Arteaga-Gómez et al. (2016), en el que evaluaron el daño causado por insecticidas organofosforados. Las células NL-20 se caracterizan por ser una línea celular inmortalizada, es decir crecen indefinidamente, sin perder sus características como morfología, funciones, etc. (Segretín, 2007) soportando alrededor de 138 pases, sin disminuir sus capacidades. Crecen rápido y en grandes cantidades por lo cual son excelentes para realizar

experimentos *in vitro* (Escobar et al., 2010) relacionados con agentes tóxicos al ser humano.

II. ANTECEDENTES

1. Contaminación atmosférica

Se puede definir como: la presencia en el aire de materia que implique riesgo o daño para personas y bienes de cualquier naturaleza (Aránguez et al., 1999).

Se pueden dividir en dos grandes grupos:

Los contaminantes primarios se definen como los que proceden directamente de la fuente de emisión [compuestos orgánicos (HAP's), metales pesados, dióxido de azufre (SO₂), monóxido de carbono (CO), dióxido de nitrógeno (NO₂), entre otros]. Los secundarios son aquellos que se producen como consecuencia de las transformaciones y reacciones químicas y físicas que sufren los contaminantes primarios en la atmósfera, por ejemplo: el ozono (O₃), metano, ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido nítrico (HNO₃), entre otros (Ballester, 2005).

2. Contaminación en la Ciudad de México (CDMX)

A pesar de que en la CDMX y área metropolitana se han hecho diversos esfuerzos para lograr una mejor calidad del aire y por consiguiente aumentar la esperanza de vida, en los últimos años las concentraciones de partículas menores a 10 µm (PM₁₀) y 2.5 µm (PM_{2.5}) continúan superado los niveles límites recomendados por la protección de salud pública (SEDEMA, 2018).

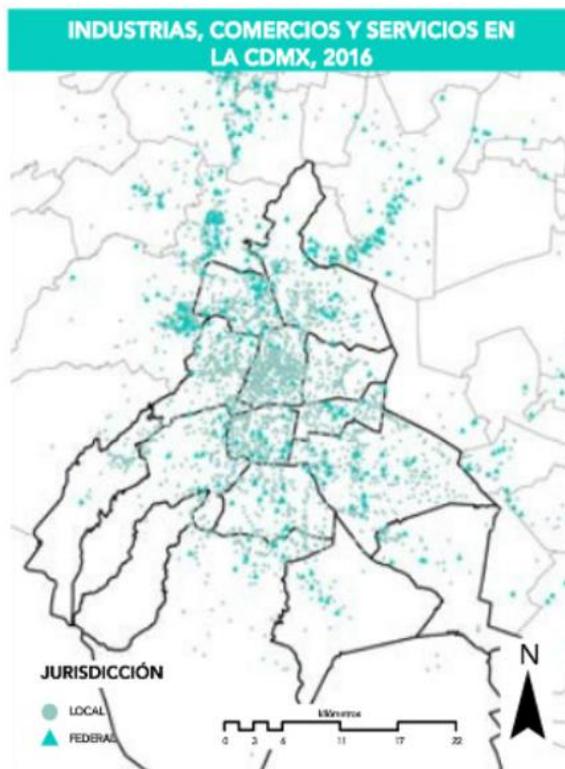


Figura 1. Se muestran las industrias, comercios y servicios encontrados en la CDMX. Imagen obtenida de SEDEMA (2016) el 12 de enero 2018.

Dividida en norte, sur, este y oeste, cada zona de la CDMX contribuye con diferente tráfico vehicular e industrialización. Transportes considerados particulares forman parte del 83% del total, mientras que el resto son de carga y servicio público (INEGI, 2016). Según SEDEMA (2016) existen más de 32,000 industrias en la CDMX (**Figura 1**), considerándose con mayor concentración industrial los municipios de Iztapalapa, Azcapotzalco y Gustavo A. Madero. Convirtiendo la zona norte y parte de la zona central en sitios altamente industrializados.

Es claro que se requieren mejoras en la calidad de la gasolina, ya que es cuestionable en relación con los estándares internacionales (Soto-Coloballes, 2017). Asimismo, parte de la alta emisión es derivada del desgaste de frenos y ruedas del parque vehicular, el cual ha causado los altos niveles de metales como cobre, antimonio, estaño, manganeso, zinc y bario (Querol, 2008).

3. Material particulado (PM)

El material particulado es una mezcla de partículas líquidas y sólidas suspendidas en el aire (USEPA, 2017), que poseen una diversidad de propiedades físicas (densidad, dimensión, forma) y composición química.

La fracción inhalable incluye partículas con un diámetro menor a 10 μm (PM₁₀) y menor a 2.5 μm (PM_{2.5}), es decir, solo las partículas menores a 10 μm son capaces de ingresar al sistema respiratorio. Estas partículas incluyen MP y HAP's. El material particulado menor a 2.5 μm , representa una mezcla compleja que puede contener compuestos tanto de origen natural como del producto de las actividades antropogénicas (Miguel-Pérez et al., 2013). Se ha descrito que conforme disminuye el tamaño de partícula aumenta su toxicidad, esto se debe a que las más pequeñas son capaces de penetrar más profundamente en las vías respiratorias y una vez dentro, éstas son capaces de acumularse en diferentes sitios (Rosales-Castillo et al., 2001).

Los efectos del material particulado en la salud humana están estrechamente relacionados con el tiempo de exposición (a corto o largo plazo), además va a depender del tamaño de las partículas (Di Palma et al., 2017). Estas partículas pueden causar estrés oxidante, apoptosis y citotoxicidad (Lag et al., 2016). Asimismo, se han realizado estudios con tejidos vegetales en donde se menciona que los metales presentes en las partículas afectan procesos tanto bioquímicos como físicos de las plantas (Prieto et al., 2009).

3.1 Metales pesados (MP)

El término "metales pesados" se refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una relativa alta densidad y sea tóxico o venenoso para la célula (Prieto et al., 2009). Dentro de este grupo existen otros elementos que, aunque son metales ligeros o no metales, se suelen englobar con ellos por su origen y comportamiento asociados; por ejemplo: As, B, Ba y Se (Navarro-Aviñó et al., 2007).

Estos contaminantes forman parte del material particulado existente en la atmósfera, originados de procesos de origen biogénico y antropogénico; se pueden acumular principalmente por inhalación e ingestión (Yuanyuan et al., 2014). Son importantes en los estudios nutricionales, fisiológicos y toxicológicos, puesto que actúan en las actividades enzimáticas, ya sea activándolas o bloqueándolas gracias a que compiten por los sitios activos de las enzimas (Boada et al., 2007).

La toxicidad de los MP depende de varios factores, entre ellos el tipo de exposición, la concentración, la forma química, el tiempo y la vía de absorción (Navarro-Aviñó et al., 2007; Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). Poseen una gran toxicidad, debido a la elevada tendencia a bioacumularse, además de una gran capacidad para unirse con moléculas orgánicas.

Los efectos ocasionados por los metales a nivel celular son muy diversos. Pueden causar alteraciones sobre el material genético de manera directa e indirecta, algunos como lo son el arsénico, cadmio, cobalto, cromo, cobre y níquel han sido relacionado con mecanismos que conducen a la carcinogenicidad (Hernández-Franco et al., 2009). Incluso se ha detectado que dañan específicamente sistemas completos, por ejemplo, el cadmio, plomo y arsénico afectan principalmente el sistema nervioso (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011).

Inducen daño a través de mecanismos similares: por unión a enzimas y sustitución de otros elementos (reacciones bioquímicas). Algunos pueden disminuir el funcionamiento de enzimas antioxidantes ocasionando incremento en el estrés oxidante celular (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). El estrés oxidante puede causar daño sobre el ADN, que redundo en: mutaciones, aberraciones cromosómicas, alteraciones en la síntesis y reparación de ácidos nucleicos (Navarro-Aviñó et al., 2007; Hernández-Franco et al., 2009). Los efectos de éstos pueden resultar muy ambiguos, dependiendo del sistema de prueba, del metal, del tiempo de exposición y de la concentración (Hernández-Franco et al., 2009); destacándose por su alta toxicidad y siendo los más estudiados el plomo, cadmio y arsénico (Ruíz Huerta y Armienta Hernández, 2012).

A continuación, se describirán los daños que causan algunos MP, así como otros datos de interés:

a) Aluminio (Al)

Es el elemento metálico más abundante en la corteza terrestre (Carreño y Chaparro-Giraldo, 2013). En varios estudios se ha observado que tiene efecto altamente mutagénico (en comparación a otros metales), además se ha visto que incrementa el riesgo de padecer desórdenes patogénicos como Alzheimer o Pákinson (Lima et al., 2011; Annangi et al., 2016).

Cuando el Al entra a la célula puede reaccionar junto con el hierro (Fe), y combinados generar especies reactivas de oxígeno (EROs) (Lima et al., 2011). Asimismo, a nivel celular puede causar disfunción mitocondrial, inhibición de la respiración celular y disminución del adenosin trifosfato (ATP) (Carreño y Chaparro-Giraldo, 2013).

b) Plomo (Pb)

Las principales vías de ingreso son la ingesta de comida y a través del aire (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). Este metal tiene la mayor adsorción extracelular, es decir, que tiene la mayor afinidad con grupos carboxilos en la membrana celular de todos los MP, casi de un 100% (Renaudin et al., 2018). La absorción es lenta, por lo tanto, la excreción lo es más, de manera que tiende a acumularse.

El Pb suele ingresar en el metabolismo del Ca para sustituirlo y dañar la célula (Navarro-Aviñó et al., 2007). Este metal se almacena principalmente en la mitocondria produciendo daños en su metabolismo energético (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). En plantas el plomo reduce la producción de clorofila (Franco-Hernández et al. 2010).

c) Arsénico (As)

Las principales rutas de exposición del arsénico son las vías oral y respiratoria; el contacto con este contaminante está dada por fábricas de artículos electrónicos, elaboración de pesticidas, entre otros (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011).

El As ha sido considerado como un carcinógeno, principalmente relacionado con cáncer de esófago, laringe, pulmón, riñón, vesícula y piel (ATSDR, 2007; Navarro-Aviñó et al., 2007); Sus metabolitos actúan por diferentes mecanismos, por ejemplo: el arseniato tiene una estructura similar al fosfato inorgánico de tal forma que compite con él en la producción de adenosín trifosfato (ATP) (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011), afectando la fosforilación oxidante; el arsenito, interactúa con los grupos tioles, bloqueando directamente los grupos sulfhidrilos de proteínas y enzimas, también se une a las proteínas de membranas de organelos, disminuyendo la señalización intracelular (Albores et al., 1997).

El arsénico es uno de los metales más estudiados, ya que es capaz de inducir la generación de especies reactivas de oxígeno (EROs), aunque todavía no es muy claro cuáles son los mecanismos (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). En plantas el arsénico interfiere con el proceso metabólico y disminuye la germinación de las semillas (Franco-Hernández et al., 2010).

d) Vanadio (V)

Las fuentes de emisión pueden ser la industria, la quema de material fósil, así como el uso de fertilizantes y pesticidas, ya que forma parte de la composición de algunos de éstos. Es usado para la producción de aleaciones metálicas, fabricación de baterías (Annangi et al., 2016), etc. La vía de exposición es por inhalación o por ingesta.

La IARC (2006) lo ha catalogado como posible carcinogénico. Estudios *in vitro* en células humanas muestran daños en el DNA (rupturas), causando

formación de aberraciones cromosómicas, aneuploidías y micronucleos (Rodríguez-Mercado et al., 2011). A nivel celular puede causar estrés oxidante, inhibición en la reparación del DNA e interferencia en la actividad de proteínas y cinasas (Annangi et al., 2016).

e) Cromo (Cr)

Este metal se puede encontrar en el aire, suelo y agua de manera natural o de procesos industriales químicos (metalúrgicas, refinerías e industrias químicas) (Annangi et al., 2016). La vía de exposición más común es la respiratoria.

Su toxicidad depende del estado de valencia; su estado hexavalente es considerado el más tóxico. Se ha registrado como posible carcinógeno (Carretero, 2005). A nivel celular se ha demostrado su acción como compuesto genotóxico: causando rupturas de hebras de DNA y aductos cromo-DNA, entre otros (Annangi et al., 2006), además de generar EROs provocando estrés oxidante.

f) Cadmio (Cd)

Las fuentes de contaminación pueden ser naturales y antropogénicas, dentro de estas últimas se incluyen emisiones industriales (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). La principal exposición es por vía respiratoria. Siendo una de las más importantes fuentes de emisión el humo de cigarro; la exposición e inhalación del humo de cigarro en fumadores activos y pasivos es considerado altamente peligroso ya que, se absorbe fácilmente en los pulmones (Saldívar et al., 1991; Carretero, 2005; Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). El pulmón es un órgano muy susceptible a la exposición a cadmio, la inhalación crónica, puede producir bronquitis con daño progresivo alveolar, fibrosis y enfisema (Ramírez, 2002).

A nivel molecular el cadmio es un conocido bloqueador del calcio en la membrana plasmática. Se sabe que desplaza al calcio en determinadas proteínas además de causar estrés oxidante (Navarro-Aviñó et al., 2007). El resultado de todo esto puede ser un daño importante en el ADN y en los lípidos.

g) Antimonio (Sb)

Sus fuentes de emisión son la industria y fabricación de productos químicos, así como en el tabaco. Las vías de exposición pueden ser 3: inhalación, ingestión y cutánea. Siendo la más importante la vía respiratoria por las partículas presentes en el aire (Nordberg, 1998).

Por sus propiedades químicas y metabólicas, se comporta muy parecido al arsénico. Puede inhibir enzimas, alterar el metabolismo de proteínas y de carbohidratos. Afecta seriamente al pulmón (fibrosis), puede generar alteraciones cardíacas y muerte (Nordberg, 1998).

h) Hierro (Fe)

Este metal es fundamental en el metabolismo de casi todos los seres vivos, por ejemplo, es esencial en las reacciones redox y el transporte de oxígeno por proteínas (Lima et al., 2011). Sin embargo, en grandes cantidades dentro del organismo puede ser tóxico en el tejido nervioso, generando desórdenes neurológicos.

La presencia simultánea (mezcla) de MP, puede tener efectos tóxicos tanto sinérgicos (la toxicidad aumenta al mezclarse) como antagónicos (la toxicidad se reduce al mezclarse); por tanto, existe cierta dificultad para predecir los efectos reales (Navarro-Aviñó et al., 2007).

3.2 Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's)

Estos compuestos forman parte del material particulado existente en la atmósfera, que naturalmente, proviene de la combustión incompleta de incendios en bosques (combustión incompleta de madera), etc. Adicionalmente, las actividades antropogénicas generan un aumento en estas partículas, que pueden originarse por la combustión incompleta de gasolinas en los vehículos, extracción de minerales, emisiones industriales, humo de cigarro, entre otras (Mancuiulea y Dumitrescu, 2017). Se caracterizan por ser compuestos orgánicos con dos o más anillos de benceno fusionados (Vives et al., 2001). Sus propiedades fisicoquímicas incluyen baja solubilidad en agua y el ser altamente lipofílicos (Huang et al., 2018), además de ser inestables fotoquímicamente (Vives et al., 2001). Las vías de exposición más conocidas son inhalación, ingestión y vía cutánea.

Presentan un problema a nivel salud ya que se ha demostrado su acción carcinogénica y mutagénica. Se ha demostrado que la genotoxicidad de estos contaminantes depende en gran medida de su estructura, es decir del tamaño y la composición de las partículas (Vives et al., 2001; Amador-Muñoz et al., 2010; Mancuiulea y Dumitrescu, 2017). La distribución y la concentración de éstos depende principalmente de los factores ambientales, por ejemplo, cuando la temperatura aumenta, la concentración de estos contaminantes incrementa; sin embargo, se ha visto que los HAP's se acumulan con mayor facilidad en la época de invierno (Huang et al., 2018), añadiendo a esto las actividades antropogénicas que varían dependiendo de la temporada (Amador-Muñoz et al., 2010).

En el estudio realizado por Amador-Muñoz et al. (2010) se menciona que la IARC y la Agencia de Protección Ambiental de los EUA (US-EPA), cataloga a 16 hidrocarburos como contaminantes prioritarios; de los cuales, 7 son considerados probables carcinógenos: benzo(a)antraceno (BaA), criseno (CHR), benzo(a)pireno (BaP), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(k)fluoranteno (BkF), dibenzo(a,h)antraceno (DBahA), indeno(123-cd)pireno (I123cdP). Entre los más peligrosos están aquellos que derivan del antraceno (presente en el alquitrán de hulla, en el humo del cigarro, en procesos de combustión de gas en las fábricas),

como el benzo [a] pireno, 6-, 7-, 8- y 12-metilbenzo(a)antraceno y algunos de sus derivados metilados (Caballero López y Alvarado Díaz, 2006). La exposición prolongada puede causar irritación en las vías aéreas. Se ha demostrado que los HAP's son previamente activados en el organismo antes de ejercer su efecto genotóxico (Vives et al., 2001; Caballero López y Alvarado Díaz 2006).

Para monitorear este tipo de contaminante se han utilizado plantas ya que son excelentes acumuladores de materia orgánica. Los HAP's se absorben por los estomas de la planta (Huang et al., 2018). Se pueden considerar dos mecanismos de acumulación: la adsorción y la absorción, esto dependerá de las fases de los HAP's lo que decidirá si éstos se van a absorber o se quedaran en la superficie. La adsorción es considerada un paso reversible, esto ocurre cuando los HAP's con cuatro o más anillos que pertenecen a la fase particulada, son añadidos por deposición seca (Huang et al. 2018). Son acumulados en la superficie de la planta, ayudados por las ceras presentes en ella. La absorción ocurre cuando estas partículas se introducen en las células de la planta por el intercambio de gases con la atmósfera. La fase vaporosa de HAP es absorbida por las estomas, se acumulan en las plantas por depósito seco o húmedo (Huang et al. 2018) y son almacenados en vacuolas dentro de las células.

4. Musgos (*Hypnum amabile*)

Los musgos son briophytas que se encuentran presentes en la mayoría de los ecosistemas terrestres (Zepeda-Gómez et al., 2014) y por ello su distribución es amplia, asimismo son organismos que logran soportar largos periodos de desecación (Vargas, 2011).

En particular *Hypnum amabile*, puede crecer sobre rocas, suelo o humus, en lugares expuestos o sombreados y secos, húmedos o mojados, a una altitud de 2650-3040 msnm, está principalmente distribuido en el Estado de México, Puebla y Tlaxcala (Cárdenas, 1999, Delgadillo-Moya, 2014).

Se ha comenzado a usar como biomonitor (Zechmeister et al., 2007); de hecho, son considerados excelentes, ya que obtienen la mayoría de sus nutrientes de precipitación y del depósito seco de partículas del aire (Berg y Steinnes, 1997; Fernández et al. 1999). Sus características (carecen de cutícula, sistema vascular y radicular bien desarrollados) son perfectas para capturar y absorber contaminantes atmosféricos como son los MP y los HAP's; ya que, así es como absorben la mayor parte de los nutrientes necesarios para su desarrollo (Fernández et al., 1999). Se ha considerado como una alternativa para monitorear cualitativamente y cuantitativamente el depósito de PM (Di Palma et al., 2017). Además, su lento ritmo de crecimiento supone una acumulación de contaminantes.

Bioacumulador

La bioacumulación se define como el aumento de la concentración de un agente químico en un organismo biológico en un cierto plazo, de forma que llega a ser superior a la encontrada en el ambiente (Soto-Coloballes, 2017; Navarro-Aviñó et al., 2007).

La eficiencia del musgo como bioacumulador proviene de su capacidad de intercambio catiónico, el cual se debe a la carga negativa de los constituyentes en las paredes de la célula (en su mayoría grupos ácidos carboxílicos) que pueden establecer enlaces iónicos con elementos catiónicos en forma soluble, la ausencia de la cutícula permite el acceso directo de los cationes a estos puntos de intercambio iónico (Fernández et al., 1999). Los elementos se pueden retener en espacios intracelulares o en superficies irregulares (Bedregal et al., 2009).

Los musgos tienen una elevada superficie específica, lo que les dota de una alta capacidad de retención de partículas (Fernández et al., 1999). Los HAP's adheridos a partículas son absorbidos de la misma forma que los MP (Huang et al., 2018), sin embargo, muestran una tendencia a acumular HAP's con un alto peso molecular. Asimismo, en condiciones naturales los musgos acumulan principalmente metales como: Al, Ni, Ca, Cr y Ni o Fe, Mn, Ti (Klos et

al., 2011). Son capaces de absorber y retener MP por precipitación y depósito seco (Berg y Steinnes, 1997). La bioacumulación es afectada por las características químicas de los compuestos, además de su afinidad a las estructuras de absorción de los musgos (Klos et al., 2011). Se ha descrito que existen diferencias tanto regionales como de tiempo en el depósito de MP (Berg y Steinnes, 1997).

5. Células epiteliales bronquiales humanas NL-20

Las células NL-20 son una línea celular bronquial epitelial, la cual es una línea inmortalizada (continua/tumoral). Se le insertó una secuencia de replicación por transfección (SVG40), con la finalidad de seguir manteniendo al máximo sus propiedades fisiológicas, bioquímicas y genéticas en más cultivos sucesivos de los que soportaría la línea celular primaria. Esta línea fue creada para tolerar 138 pases por expansión, sin cambiar su morfología y funciones (Segretín, 2007).

Han sido utilizadas para ensayos *in vitro*, ya que incluyen beneficios como rápido crecimiento en grandes cantidades, (Escobar et al., 2010). Estos estudios incluyen agentes que puedan estar provocando alteraciones en el DNA (rompimiento de cadena), como en el trabajo de Arteaga-Gómez et al. (2016) donde, evaluaron el efecto que causan los insecticidas organofosforados en el DNA, con ayuda del ensayo cometa. Asimismo, se han realizado estudios para modelar el daño causado por la contaminación del aire, usando filtros sintéticos (Miguel-Pérez et al., 2013).

6. Evaluación del daño genotóxico (genotoxicidad).

Existen diferentes técnicas para evaluar el daño genotóxico causado por diferentes agentes (químicos, físicos y biológicos), las cuales proporcionan facilidades a los investigadores para determinar tanto agentes genotóxicos como antígenotóxicos. Algunos ejemplos de éstas son: la prueba de micronúcleos, el ensayo de Ames,

aberraciones cromosómicas, hibridación fluorescente *in situ* (FISH) y el ensayo cometa o electroforesis unicelular (Zalacain et al., 2005; Villasana, 2008; Cuenca y Ramírez, 2004).

Ensayo cometa

La técnica de electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa), es utilizada para detectar daño en el DNA en células individuales. Se ha vuelto una metodología usada en el biomonitorio de exposición a agentes genotóxicos (Ayala et al., 2004; Collins et al., 2014). Asimismo, se ha aplicado en estudios de epidemiología molecular y ecotoxicología (Rodríguez-Rey et al., 2016).

Ostling y Johanson (1984) introdujeron la técnica de electroforesis unicelular utilizando un pH neutro la cual detectaba rompimientos de cadena doble, sin embargo, con el paso del tiempo ha sufrido modificaciones que permiten detectar diferentes tipos de daño en el DNA (Rodríguez-Rey et al., 2016). Singh et al. (1988) la modificaron para realizarla en condiciones alcalinas, para permitir detectar rupturas de cadena simple y sitios sensibles al álcali que se originan durante la reparación por escisión de bases y de nucleótidos (Ayala et al., 2004).

La técnica consiste en el aislamiento de las células que fueron expuestas previamente, las cuales son embebidas en agarosa para someterlas a una solución de lisis que contiene sales y detergentes. Se obtienen los núcleos los cuales se someten a una electroforesis alcalina (Rodríguez-Rey et al., 2016), permitiendo el rompimiento de puentes de hidrógeno entre los pares de bases. Los grupos fosfato al tener una carga negativa van a permitir su migración hacia el ánodo, si es que existe daño. Cuando las laminillas son observadas, se presenta algo semejante a un cometa, en donde, el centro pertenece al DNA no dañado y la cauda es DNA fragmentado, es decir la cantidad de DNA que migra hacia el ánodo es el daño resultante del agente al que se expuso (Rodríguez-Rey et al., 2016).

Para el análisis del daño genotóxico, se usan los siguientes parámetros (Kumaravel et al., 2009):

- Intensidad de la cabeza (%). Se refiere a la intensidad de la cabeza expresada como porcentaje de la intensidad total del cometa.
- Tamaño de la cabeza. Definido como la distancia horizontal entre el comienzo de la cabeza al final de ella.
- Intensidad de la cauda (%). Se expresa como un porcentaje de la intensidad total del cometa.
- Tamaño de la cauda. Es la distancia horizontal del centro de la cabeza (inicio de la cauda) al final de la cauda.
- Momento de la cauda Olive (OTM). Este parámetro fue calculado por Olive et al. (1990), incluye variaciones de la distribución del DNA en la cauda. Se ha visto que tanto este parámetro como el % de DNA en la cauda muestran excelentes correlaciones con el daño causado por agentes genotóxicos, sin embargo, el OTM es considerada la medida estadísticamente más significativa (Kumaravel y Jha, 2006). En concreto se refiere al producto de dos factores: el porcentaje de la intensidad de la cauda y la distancia entre el centro de la cabeza y la cauda del cometa (Kumaravel et al., 2009).

Esta técnica ha sido muy utilizada por sus diferentes ventajas (Rojas et al., 1999; Rodríguez-Rey et al., 2016):

- Sensibilidad al daño del DNA.
- La rápida obtención de resultados.
- Es de relativamente bajo costo.
- Puede usarse en diferentes tipos de células eucariontes.

III. JUSTIFICACIÓN

En la ciudad de México ha habido un incremento en la contaminación del aire, provocado principalmente por material particulado (PM) (Machado et al., 2008). Los MP y HAP's que forman parte de la fracción inhalable (PM₁₀ y PM_{2.5}) pueden provocar daño en el sistema respiratorio (SEDEMA, 2015), ocasionando ataques de asma, bronquitis crónica y susceptibilidad a infecciones respiratorias, también pueden causar arritmias, ataques de corazón y afectar al sistema nervioso central (Lima et al., 2011). Asimismo, pueden provocar daños en el sistema reproductivo e incluso causar cáncer propiciando muerte prematura (Cruz-Campas et al., 2013; Annangi et al., 2016).

La distribución, la concentración y la composición de estos contaminantes depende principalmente de los factores meteorológicos y las fuentes de emisión. Durante el año hay épocas en las cuales las concentraciones de partículas aumentan (SEDEMA, 2015), en parte provocado por las actividades antropogénicas que varían dependiendo de la temporada (Villalobos-Pietrini et al. 2006, Amador-Muñoz et al., 2010).

Por lo que es importante detectar el daño genotóxico que provocan los contaminantes acumulados por el musgo *Hypnum amabile* en sistemas como la línea celular bronquial NL-20, mediante la exposición a los extractos obtenidos del mismo. La mayoría de estos contaminantes tienen interacción directa con el DNA, por lo que se puede medir su genotoxicidad a través del ensayo cometa. Añadiendo a estos resultados, técnicas como la espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas que aportan datos, que pueden contribuir a obtener conclusiones importantes.

IV. HIPÓTESIS

Si los musgos expuestos en 5 sitios, acumulan diferentes contaminantes de la atmósfera, en su mayoría material particulado (MP y HAP's), entonces, se espera que dichos contaminantes actúen de manera diferencial en la inducción de daño genotóxico en las células NL-20, en la temporada de secas frías (noviembre, diciembre y enero) y secas calientes (febrero, marzo, abril) y de lluvias (mayo y junio) y que a su vez muestren daño diferencial con relación a los contaminantes adsorbidos y absorbidos por los musgos expuestos en las cinco estaciones de la Ciudad de México y zona metropolitana.

V. OBJETIVOS

1. General

Evaluación del efecto genotóxico en la línea celular NL-20 provocado por la acumulación de material particulado (adsorbido y absorbido) presente en extractos de musgo (*Hypnum amabile*) expuesto en cinco sitios de la Ciudad de México y zona metropolitana, correlacionándolo con el análisis químico de MP y HAP's.

2. Particulares

- Evaluar el daño genotóxico en la línea celular NL-20 provocado por el material particulado acumulado (absorbido y adsorbido) en el extracto mediante el ensayo cometa.
- Correlacionar el efecto genotóxico con los MP y HAP's encontrados (adsorbidos y absorbidos) por el método de espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) y por el método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, respectivamente.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Mantenimiento de musgos provenientes de Chignahuapan, Puebla.

Los especímenes fueron recolectados en el municipio de Chignahuapan en el estado de Puebla. Se transportaron en “tapetes” hasta el Centro de Ciencias de la Atmósfera para evitar que perdieran humedad. Se separaron en bolsas de malla y se mantuvieron durante una semana en una cámara de crecimiento con condiciones controladas para aclimatarlos (**Figura 2**).



Figura 2. Imagen de la bolsa de musgo antes de la exposición

Trascurrido este lapso se trasladaron a las 5 estaciones de monitoreo de la calidad del aire que integran el Sistema de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México y Área Metropolitana:

- 1 Coyoacán (Suroeste).
- 2 Iztapalapa (Sureste).
- 3 Merced, en la delegación Venustiano Carranza (centro).
- 4 San Agustín, en el municipio de Ecatepec de Morelos (Noreste).
- 5 Tlalnepantla, en el municipio Tlalnepantla de Baz (Noroeste).

Cada tercer día se regaron con ayuda de aspersores, para evitar pérdida de humedad. Se realizaron un total de 8 recolecciones cada una correspondiente a los meses de noviembre y diciembre del 2016; enero, febrero, marzo, abril, mayo y junio del 2017; añadiendo a éstos un grupo que no fue remplazado durante los 8 periodos y un testigo negativo que se conservó en condiciones controladas en el Centro de Ciencias de la Atmosfera (CCA). Cabe mencionar que cada periodo se recolectó y remplazó por bolsas que habían permanecido en la cámara de crecimiento en el CCA.

2. Obtención de extractos

Se hizo una separación previa del musgo y el sustrato para poder obtener únicamente los organismos de estudio. Se pesó un total de 20 g de musgo de cada estación. Se lavó la mitad (10 g) para eliminar contaminantes y partículas superficiales de los individuos, el resto no se lavó, ambos se almacenaron en un congelador, desde este paso fue importante cuidar que no se elevara la temperatura, para evitar la oxidación del extracto. Las muestras se homogeneizaron con ayuda de un mortero y un amortiguador de fosfatos de sodio (pH 7.4) en proporción 1/1 (peso/volumen). Con ayuda de un extractor se obtuvo la fase acuosa, se centrifugó a 11500 rpm durante 30 min a una temperatura de 4 °C, el sobrenadante se filtró en un campo estéril y se agregó en microtubos de 2 mL. Finalmente, fueron almacenados en un ultracongelador (REVCO) a una temperatura de -70 °C. Este procedimiento se realizó en cada periodo de muestreo.

3. Determinación de metales pesados con espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)

Usando 1 mL de los extractos obtenidos previamente se realizó el siguiente procedimiento: todas las mediciones se llevaron a cabo por el método espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente (por sus siglas en inglés ICP-MS), modelo iCAPQc de la marca ThermoScientific, en el Laboratorio ICP-MS del Instituto de Geofísica de la UNAM. El instrumento fue optimizado previamente al análisis de las muestras, con una solución certificada acuosa de la marca High PurityStandards (ICP-MS-B), la cual contiene un amplio intervalo de masas (Li, Co, In, Ba, Bi, Ce y U de 1 µg/L, respectivamente).

Para el análisis de metales, se realizó una curva de calibración con 16 puntos (0, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 25, 50, 75, 100, 250 y 500 µg L⁻¹), a partir de una solución "stock" multielemental (QCS-26).

Se utilizó un estándar interno de Indio (In de 10 µg/L). Los límites de detección se calcularon mediante la siguiente ecuación:

$$L.D. = \frac{3(SD \text{ int } BCO)(conc \text{ STD})}{(int \text{ STD} - prom \text{ int } BCO)}$$

Dónde:

SD int BCO – Desviación estándar de la intensidad del blanco

conc STD – Concentración de la solución estándar

int STD – Intensidad de la solución estándar

prom int BCO – Promedio de la intensidad del blanco

4. Determinación de HAP's en los musgos con cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Para la extracción de HAP en los musgos colectados, se llevaron a cabo tres extracciones: una de líquido-líquido para buscar HAP adsorbidos a la superficie de los musgos (musgos no lavados), una segunda extracción líquido-sólido de los musgos lavados para buscar HAP's absorbidos y una tercera extracción (líquido-sólido) del musgo completo. En todos los casos, se utilizaron 20.0 g de musgo fortificados con 16 HAP-d.

Para la primera extracción, se adicionaron 500 mL de agua a los musgos, se agitaron durante un minuto y se extrajeron con 25 mL de diclorometano en embudos de separación. Esto se repitió tres veces. El disolvente en exceso se eliminó en un rotaevaporador. El extracto orgánico se llevó a un volumen final de 1.0 mL.

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

5. Expansión y mantenimiento de línea celular NL-20

Toda esta experimentación se realizó en una campana de flujo laminar, en condiciones de esterilidad.

Expansión. Las células NL-20 que se utilizaron durante todas las exposiciones se descongelaron (1 mL) y se sembraron en un frasco para cultivo celular con 12 mL de medio HAM F-12 complementado (Tabla 1). Los cultivos se mantuvieron en una incubadora de CO₂ a 37 °C durante 24 horas ya que la adhesión al sustrato es indispensable para su proliferación.

Tabla 1. Medio HAM F-12 complementado. Para preparar 50 mL. Se lleva al volumen final con del Medio HAM F-12.

L-glutamina Mm	500 μ L
Aminoácidos no esenciales	500 μ L
Insulina	50 μ L
EGF 10 ng/mL	2 μ L
Hidrocortisona 500 ng/mL	4 μ L
Suero Fetal Bovino 10%	5 mL
Antibiótico	500 μ L

Transcurridas 24 horas se procedió a decantar el medio, se realizó un lavado con 3 mL de solución salina para eliminar los restos de medio que pudieran quedar en el cultivo. Para obtener las células individualmente, se agregaron 5 mL de solución salina y 500 μ L de tripsina-verseno, se incubaron durante 10 minutos, se dieron pequeños golpes al frasco para lograr un mejor resultado, ya que esto logra romper las interacciones de la matriz extracelular. Se decantaron en tubos de 15 mL y se centrifugaron durante 5 min a 2000 rpm. Concluido este tiempo, se desechó la fase acuosa y al botón obtenido se le agregó 1 mL de medio HAM F-12 complementado y se resuspendió (suspensión para el conteo); se trasplantó en un frasco para cultivo celular, agregando 500 μ L de la suspensión y 10 mL de medio HAM F-12 complementado. Este procedimiento se realizó para tener un cultivo constante.

6. Tratamientos con extractos

Conteo celular. Se hizo una alícuota en un tubo de 1.2 mL, a la cual se agregaron 40 μ L de medio más 10 μ L de suspensión (células con medio) y se resuspendió. Con ayuda de una cámara de Neubauer, se depositaron 10 μ L de la alícuota por ambos lados del cubreobjetos. Se contaron los 8 cuadrantes, y se calculó el número de células por mililitro dentro de la suspensión inicial.

Las células fueron cultivadas en placas de 96 pozos (16,000 células/pozo), con un volumen final de 100 μ L. Trascurridas 24 horas de adhesión/proliferación, las células fueron tratadas realizando 3 repeticiones de cada una, con las siguientes

condiciones por periodo: testigo negativo (células sin tratamiento, únicamente se les cambió el medio, por nuevo), periodo X musgo lavado (5 estaciones) (células tratadas en un volumen final de 100 μ L de medio al 10 % del extracto de los musgos lavados), periodo X seco (5 estaciones) (células tratadas en un volumen final de 100 μ L al 10 % del extracto de los musgos sin lavar); donde -periodo X- corresponde a cada mes de exposición y acumulado. A las 24 horas de tratamiento se procedió a despegar las células y hacer el análisis de electroforesis unicelular alcalina.

Despegado de las células de las placas. Se retiró el medio con el tratamiento con ayuda de una micropipeta. A cada pozo se le agregaron 100 μ L de una mezcla de tripsina y solución salina 1 a 9, se incubó durante 10 min. Trascurrido el tiempo se dieron pequeños golpecitos a la placa y se retiró el triplicado con mucho cuidado en un tubo de 1200 μ L, llevándolo a un volumen final de 300 μ L (tres pozos de la estación/periodo), se centrifugaron durante 5 minutos a 1500 rpm. Se retiró el sobrenadante y el botón se resuspendió en 300 μ L de medio.

7. Evaluación del daño genotóxico por la técnica de electroforesis unicelular alcalina en la línea celular NL-20

7.1. Aislamiento de núcleos

Se centrifugan los tubos con células y medio, durante 5 minutos a 2000 rpm. Durante el procedimiento, todos los tubos deben permanecer a una temperatura de 37 °C (incluyendo los tubos de las agarosas), esto se logró con un baño de agua controlando la temperatura. En todos los experimentos se realizaron testigos positivos de sangre y de las células NL-20, para asegurar que las condiciones durante el experimento fueran las correctas. Se retiró el sobrenadante, aproximadamente 240 μ L y se resuspendió el botón con el resto de medio. Se comenzó mezclando 10 μ L de la suspensión celular con 75 μ L de agarosa de bajo punto de fusión, se colocó en un cubreobjetos y se empalmó un portaobjetos precubierto con agarosa de punto de fusión normal, se colocaron en una charola fría para que solidificara la agarosa. Se retiró el cubreobjetos y se colocó otra capa

de agarosa (75 μ L). Ya solidificada la última capa, se retiró el cubreobjetos y las laminillas se introdujeron en solución de lisis (NaCl 2.5 M, EDTA 100mM, Tris 10mM, pH 10, DMSO 10% y Tritón X-100 1%) fría durante 1 hora (desde este momento se trabajó en oscuridad).

7.2. Electroforesis

Posteriormente, las preparaciones se acomodaron en una cámara de electroforesis con amortiguador de electroforesis frío (NaOH 10N, EDTA 200 mM y pH >13) y se dejó reposar por 18 minutos para inducir la desnaturalización del DNA. Finalizado este lapso se inició la electroforesis a 25 Volts y 300 mA durante 20 min a 4 °C. Para retirar el exceso de alcalinidad se utilizó un amortiguador neutro [TRIS 4M, pH=7.5], dando 3 lavados durante 5 min. Por último, se fijaron y deshidrataron con etanol al 100% frío en una caja Coplin por 15 minutos y se dejaron secar al aire.

7.3. Tinción

Las laminillas se tiñeron con 50 μ L de bromuro de etidio 1X (2 μ g/ml). Se colocaron en una caja humedecida con agua desionizada estéril y cubierta con papel aluminio para evitar que la fluorescencia del colorante decayera.

7.4. Observación

Los núcleos fueron observados en un microscopio de fluorescencia Axiostar (Zeiss) bajo un objetivo de 20X (**Figura 3**). Se analizaron 50 núcleos de 3 preparaciones por grupo, utilizando el programa Comet Assay IV. Se consideró el parámetro del momento de la cauda, ya que toma en cuenta tanto la longitud como la intensidad de la cauda del cometa, que es la cantidad de DNA fragmentado por el efecto genotóxico. Se utilizó este parámetro ya que se ha descrito como un buen indicador de daño genotóxico según Sunjog et al. (2013).

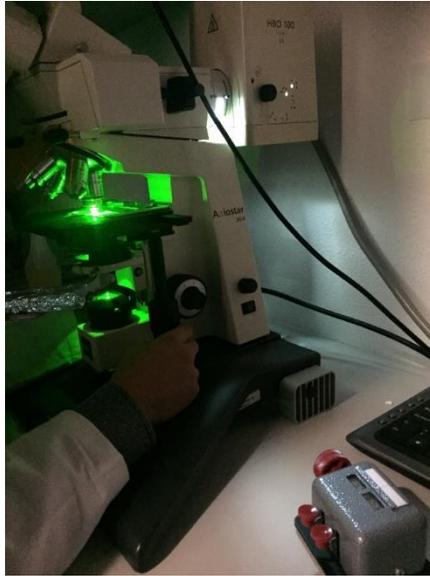


Figura 3. Observación de una laminilla con el microscopio de fluorescencia Axiostar (Zeiss).

8. Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se compararon las medias del momento de la cauda obtenidas en las distintas condiciones experimentales con respecto al testigo, utilizando una prueba de ANOVA (análisis de varianza) de una vía en el programa Statistica 8.0 Stat Soft, Inc. Tras encontrar diferencias significativas, se aplicó una prueba post hoc de Tukey con un 95% de confianza ($p < 0.05$) para lograr identificar las diferencias significativas entre los grupos.

Asimismo, se realizó una regresión múltiple ($p < 0.05$) para determinar si existe correlación entre los MP y los HAP's con el momento de la cauda usando el programa Statistica 8.0 Stat. Soft. Inc. (Anexo 3).

VII. RESULTADOS

Extractos

En el caso específico de la obtención de extractos, se identificaron cambios en la coloración; en las condiciones de musgo lavado y sin lavar (**Figura 4**).



Figura 4. Extractos de musgo sin lavar (izquierda) y lavado (derecha).

Determinación de metales pesados

La ICP-MS utilizada permitió determinar la concentración de 14 MP (Al, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Cd, Sb y Pb) presentes en los extractos obtenidos de los musgos expuestos en las diferentes zonas de monitoreo (Anexo 1).

Determinación de HAP's

Por medio de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se logró identificar la presencia de 36 HAP's (naftaleno (NA), acenaftileno (ACL), acenafteno (AC), fluoreno (FL), fenantreno (PHE), antraceno (AN), 2-metilantraceno

(2-MAN), 1-metilantraceno (1-MAN), 4,5-metilenfenantreno, 9-metilantraceno (9-MAN), 3,6-dimetilfenantreno (DMPH), fluoranteno (FA), 9,10-dimetilantraceno (DMAN), pireno (PY), reteno, tripticeno, benzo[a]fluoreno (BaFL), benzo[a]antraceno (BaA), trifenileno (TRI), criseno (CHR), ciclopenta[c,d]pireno (CPP), 5-metilcriseno (5-MCH), 7,12-dimetilbenzo[a]antraceno (DMBA), benzo[b]fluoranteno (BbFA), benzo[k]fluoranteno (BkFA), benzo[j]fluoranteno (BjFA), dibenzo[a,e]pireno (DBaeP), benzo[e]pireno (BeP), benzo[a]pireno (BaP), perileno (PE), dibenzo[a,h]pireno (DBahP), coroneno (COR), dibenzo[a,h]antraceno (DBahA), indeno[1,2,3-cd]pireno (IP), dibenzo[a,c]antraceno (DBacA), dibenzo[a,l]pireno (DBalP), benzo[ghi]perileno (BguiP)). Las concentraciones de cada HAP son presentadas en el Anexo 2.

Con la finalidad de simplificar las concentraciones obtenidas de metales e hidrocarburos, se realizó una tabla (ver Anexo 4) en la que se muestran las concentraciones más altas encontradas en las zonas con diferencias significativas arrojadas por el programa Statistica 8.0 de los extractos lavados y sin lavar.

Genotoxicidad en NL-20

De la observación de laminillas en el microscopio se obtuvo la **figura 5 y 6**, en ellas se pueden apreciar varios núcleos celulares. La imagen 5(A) muestra un núcleo intacto observado en el microscopio de fluorescencia; la 6(A) un núcleo dañado. Las mediciones realizadas por el programa Comet Assay IV son representadas en las imágenes B de ambas figuras; en ellas se puede observar el registro de dos núcleos, uno sin daño y otro con daño.

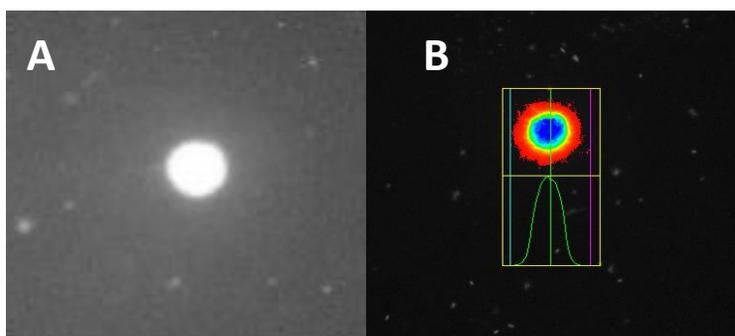


Figura 5. A) Núcleo sin daño. B) Núcleo sin daño marcado con el programa Comet Assay IV.

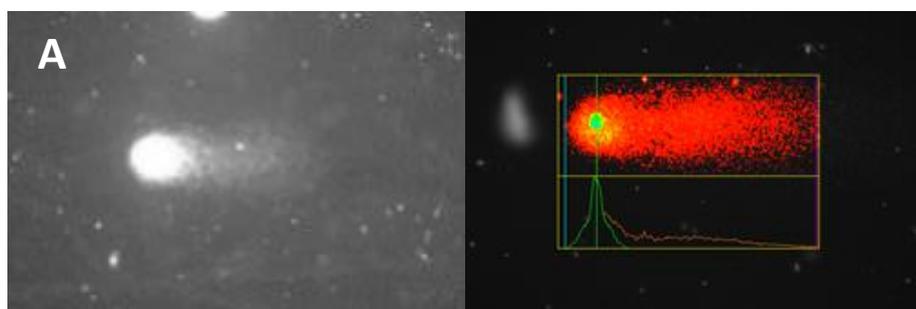


Figura 6. A) Núcleo con daño. B) Núcleo con daño marcado con el programa Comet Assay IV.

Los resultados de la genotoxicidad provocada por la exposición a los extractos de musgo por medio del ensayo cometa son presentados en las **Figuras 7 y 8**.

Como se muestra en éstas, durante la exposición del mes de noviembre, no hubo diferencias significativas en el momento de la cauda en ninguna estación, ni tratamiento (sin lavar y lavado).

En diciembre el daño genotóxico mostró diferencias significativas en los extractos de los musgos sin lavar en Coyoacán, San Agustín y Tlalnepantla (**Figura**

7); en Coyoacán y Tlalnepantla también se observaron diferencias en el tratamiento con extractos de musgo lavado (**Figura 8**).

Durante el mes de enero, en los tratamientos con los extractos de musgos sin lavar el momento de la cauda tuvo diferencias significativas en Coyoacán, Iztapalapa y San Agustín (**Figura 7**); con los extractos de musgos lavados fueron Coyoacán, San Agustín y Tlalnepantla (**Figura 8**).

Los resultados de febrero mostraron diferencias significativas en los extractos de musgos sin lavar en Coyoacán y San Agustín (con un aumento importante en el daño genético (**Figura 7**), solo los extractos de los musgos lavados de Tlalnepantla presentaron diferencias significativas, manteniéndose bastante constantes con el mes anterior (**Figura 8**).

Asimismo, en marzo se presentaron diferencias significativas con el tratamiento del extracto de musgo sin lavar en Coyoacán como se muestra en la **Figura 7**; en este mes las otras 4 zonas se mantuvieron cercanas al testigo. Mientras que, las zonas que presentaron diferencias significativas, en el tratamiento con los extractos de musgos lavados fueron San Agustín y Coyoacán (**Figura 8**).

Con el extracto de musgo sin lavar proveniente de Iztapalapa, en el mes de abril, se observaron diferencias significativas en el momento de la cauda (**Figura 7**); el extracto de musgo lavado proveniente de la Merced fue el que presentó diferencias significativas durante este mes.

En mayo se encontraron diferencias significativas en el daño causado por los extractos de musgos sin lavar de Coyoacán e Iztapalapa (**Figura 7**), mientras que en los tratamientos con los extractos de musgos lavados fueron Iztapalapa y San Agustín (**Figura 8**).

Los resultados obtenidos durante el mes de junio indicaron una diferencia significativa en el daño causado por los extractos de musgos sin lavar de Coyoacán; y en los tratamientos con los extractos de musgos lavados de Coyoacán, Iztapalapa, la Merced y San Agustín como se muestra en las **Figuras 7 y 8**, respectivamente.

El promedio del momento de la cauda en las células NL-20 provocado por el extracto de musgo acumulado mostró, diferencias significativas en el daño del DNA en Iztapalapa y Tlalnepantla con los extractos de musgos lavados; y únicamente en San Agustín en el tratamiento con los extractos de musgos sin lavar (**Figura 7 y 8**).

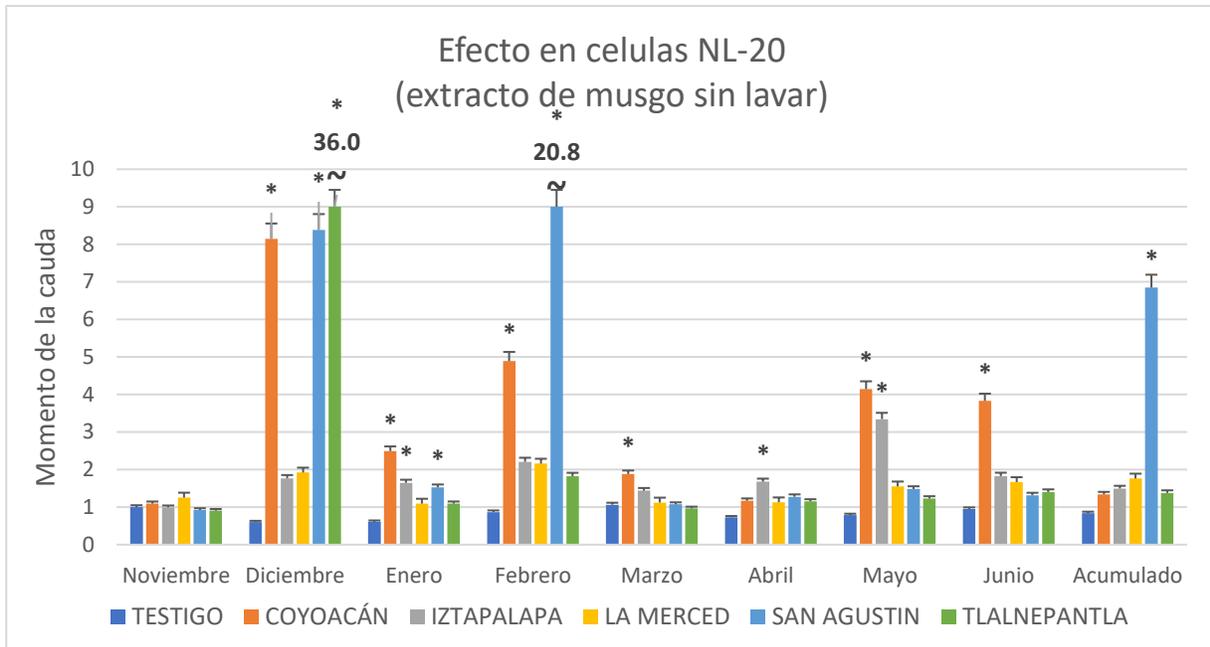


Figura 7. Promedios del momento de la cauda en las células NL-20 \pm error estándar, ocasionados por los extractos de musgo sin lavar; en 8 meses de exposición y acumulado (noviembre-junio). Testigo únicamente con medio. *Muestra las diferencias significativas entre zona y testigo, $p < 0.05$ ANOVA de una vía con prueba post hoc de Tukey.

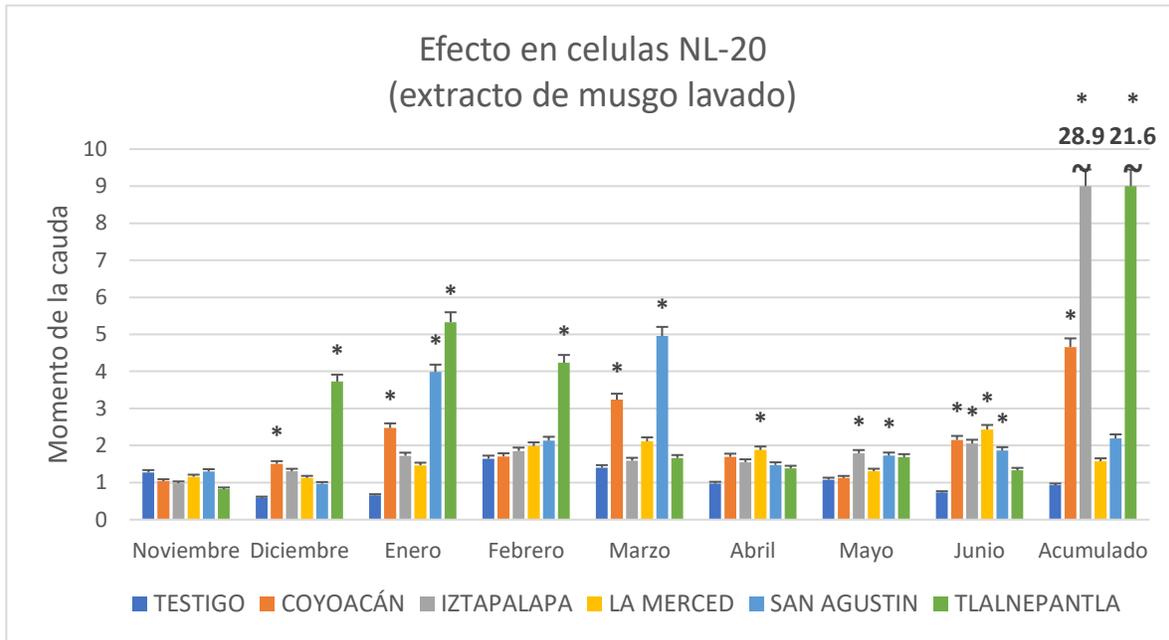


Figura 8. Promedios del momento de la cauda en las células NL-20 \pm error estándar, ocasionados por los extractos de musgo lavado; en 8 meses de exposición y acumulado (noviembre-junio). Testigo únicamente con medio. *Muestra las diferencias significativas entre zona y testigo, $p < 0.05$ ANOVA de una vía con prueba post hoc de Tukey.

Con el objetivo de obtener posibles correlaciones de las concentraciones de MP y HAP's con el promedio del daño genético encontrado en las células NL-20, se realizó una regresión múltiple; los resultados de esta, fueron integrados en las tablas 1 y 2 del Anexo 3. Estos resultados fueron utilizados para correlacionarse con las concentraciones más altas de los contaminantes en las zonas de exposición mostradas en el Anexo 4; esto, con el fin de realizar la discusión que se presenta a continuación.

VIII. DISCUSIÓN

Cada zona tiene características particulares con relación a las fuentes de emisión que hay en cada una de ellas.

El estudio realizado permitió la identificación de 35 HAP's; de los cuales 16 se encuentran ya catalogados de acuerdo a su carcinogenicidad según la IARC (2018). Asimismo, la determinación de metales permitió identificar 14; de los cuales 8 están catalogados de acuerdo a su carcinogenicidad según la IARC (2018) ver tabla 2.

Tabla 2. HAP's y MP, catalogados por la IARC (2018) y encontrados en los extractos de musgo, situados en sus respectivos grupos.

IARC (Grupo)	HAP's	Metales
1 (carcinogénico)	B[a]P	Al, As, Cr y Cd
2A (probable)	DB[a,h]A, CPP	-
2B (posible)	CHR, B[a]A, B[b]FA, I[1,2,3-cd]P, B[j]FA y NA, B[k]FA	V, Co, Ni y Pb
3 (no clasificable)	B[ghi]P, DB[a,e]P, PHE, AN, FA y PY	-

De los 35 HAP's determinados, los de mayor concentración, encontrados en las diferentes estaciones de monitoreo fueron: fenantreno, fluoranteno, pireno y acenafteno; señalando que, el musgo tiene afinidad por acumular estos HAP's. Específicamente el 9-Metilantraceno, únicamente se observó en los extractos de musgo sin lavar, lo que permitió inferir que este HAP solo se encuentra adsorbido en la especie de musgo utilizada.

Con respecto a los 14 metales encontrados, el Mn y Zn presentaron mayor concentración en las diferentes estaciones de monitoreo, indicando que, el musgo acumula fácilmente estos contaminantes.

El análisis estadístico realizado, mostró que la influencia de dibenzo{a,h}[a,c]antraceno, benzo[ghi]perieno (BghiP), fluoranteno (FA), pireno (PY), benzo[a]antraceno (BaA), criseno (CHR), trifenileno (TRI), benzo[e]pireno (BeP), perileno (PE) e indeno[1,2,3-cd]pireno (IP) contribuye de manera significativa en el daño genotóxico, en coincidencia con el estudio realizado por Villalobos-Pietrini et al. (2006) en donde se demostró que éstos, causan mutagenicidad en *Salmonella typhimurium*.

Particularmente, durante el mes de noviembre no hubo daño genotóxico significativo comparado con el testigo (**Figuras 7 y 8**), correlacionándose con los metales e hidrocarburos en baja concentración en este periodo. Este comportamiento se puede atribuir a que, los musgos no lograron acumular material particulado que pudiera causar daño al DNA, añadiendo a esto su capacidad de resistencia y reparación del mismo.

En los resultados obtenidos en el mes de diciembre se encontró benzo[a]antraceno (BaA) asociado con trifenileno (TRI) como posibles involucrados en el momento de la cauda (Anexo 3), resultado que concuerda con el obtenido por Caballero López y Alvarado Díaz (2006) los cuales consideran que el BaA se encuentra dentro de los 3 HAP's más potentes por su efecto carcinógeno, explicando así el daño generado en este mes. La concentración más alta se localizó en la zona norte (Tlanepantla) (Anexo 4), este resultado indica que el tipo de contaminación en esa zona, - tal como lo mencionan Caballero López y Alvarado Díaz (2006) los cuales encontraron que este HAP y sus derivados (ej. 7, 12-Dimetilbenzo[a]antraceno y Dibenzo[a,h]antraceno) - es generada principalmente por la combustión de gas en las fábricas.

En enero se observaron valores menores en el daño genético que en diciembre (**Figura 8**), lo que indica que durante este mes no hubo una acumulación de metales importante, sin embargo, existió acumulación suficiente de los HAP's fluoreno, fenantreno y antraceno (ver Anexo 3) que logro causar daño en el DNA; de acuerdo con Wei et al. (2016) los efectos de los HAP's son más evidentes que los provocados por MP.

En los meses de enero (San Agustín, con el extracto de musgo lavado) y junio (Coyoacán, con el extracto de musgo sin lavar) no se encontró correlación con ningún HAP (*Anexo 4*) por lo que, se puede atribuir totalmente el daño a los MP encontrados, por ejemplo: el Cr y Ni. Obteniendo el primero, en los 8 meses de exposición, en la mayoría de las zonas norte las cuales se caracterizan por la cantidad de industrias y tráfico automovilístico en ellas, tal como lo mencionan Machado et al. (2008) este metal se encuentra principalmente relacionado con emisiones en condiciones de altas temperaturas en actividades antrópicas (industria y transporte); asimismo, se ha demostrado su acción como agente genotóxico y posible cancerígeno en los estudios realizados por Annangi et al. (2006) y Carretero (2005), explicando así el daño significativo generado en la línea celular NL-20. El Ni por su parte, se determinó en concentraciones altas coincidiendo con los promedios más altos del momento de la cauda (*Anexo 4*), sobre todo en la temporada de secas-frías, tal como lo menciona Nordberg (1998) este metal podría causar daño genético, ya que se encuentra catalogado como posible carcinógeno por la IARC, llegando a producir cáncer pulmonar en seres humanos.

Con respecto al Antimonio (Sb) se encontró presente (*Anexo 3*) y en mayores concentraciones en las zonas sur durante la temporada de lluvias y en las zonas norte en temporada de secas-frías. Como lo menciona Nordberg (1998) este metal es capaz de inhibir enzimas, alterar el metabolismo de proteínas y de carbohidratos, lo que podría estar causando el daño en el DNA.

Metales como el Cr, Fe y Co se encontraron en el presente estudio, determinándose como posibles causantes de los efectos genotóxicos en las células, tal como lo menciona el estudio realizado por Annangi et al. (2006) donde determinan que pueden llegar a causar estrés oxidante (Navarro-Aviñó et al., 2007), infringiendo daño a la doble hélice del DNA.

La zona norte (Tlalnepantla) presentó mayor acumulación de hidrocarburos, por ejemplo, en temporada de secas frías (diciembre-enero-febrero) estuvo presente el CPP, como posible generador de daño (*Anexo 3*), ausentándose en las demás temporadas. También en esta temporada se encontró CHR en

concentraciones altas, asociadas al tipo de emisiones en esa zona, ya que, es considerado un indicador de contaminación generado por la combustión de gas natural y de aceite industrial según Caballero López y Alvarado Díaz (2006), es importante mencionar que este contaminante se detectó otra vez hasta el mes de mayo, en la zona sur (Coyoacán) indicando que la variación de contaminantes es dependiente del clima y sitio. Asimismo, se observó la asociación de FA y PY, que concuerda con los estudios realizados por Astoviza (2014) donde su presencia, indico aportes pirogénicos (producidos por la combustión parcial de compuestos orgánicos) dependientes de la zona estudiada, ya que en esta localidad además de estar rodeada de fábricas, existe tránsito constante de vehículos pesados.

El BghiP se encontró en concentraciones altas únicamente en el mes de febrero (San Agustín) y mayo (Coyoacán), lo que indica que hubo un incremento en las emisiones por tráfico vehicular; así como lo demuestran los estudios realizados por Quijano-Parra y Meléndez-Gélvez (2014) y Quijano et al. (2015) en donde, este se asocia a emisiones que involucran diésel y gasolina; además a sido considerado un indicador de HAP's emitidos por escapes de motores (Quijano et al., 2014), explicando su presencia en las determinaciones realizadas. El comportamiento de este hidrocarburo hace inferir que solo se encontraba adsorbido en el musgo, ya que únicamente se encontró en la determinación de los extractos de musgo sin lavar (ver Anexo 2; tabla febrero y mayo).

El análisis estadístico realizado mostró que la influencia de PHE es la que contribuye de manera significativa al daño genético (Anexo 3). Se encontró presente en la temporada secas-frías (enero, febrero) y secas-calientes (marzo y abril), en una zona con flujo vehicular constante como lo es La Merced (centro) y en una zona industrializada San Agustín (norte) (Anexo 4); resultados que concuerdan con dos estudios, el primero realizado por Quijano et al. (2015) en donde mencionan que la predominancia de compuestos de 3 anillos, especialmente el PHE, sus especies metiladas y los Naftalenos (NA) están asociados con fuentes de emisión de tráfico vehicular y el segundo, realizado por Mastrandea et al. (2005), en el cual reportan emisiones de este HAP, generadas por plantas de producción de aluminio.

En este estudio, específicamente en las zonas norte y sur (enero), se encontraron concentraciones importantes de CHR, BbFA y BkFA, mismas que son asociadas a las fuentes de emisión características de estas zonas (ver Anexo 2, enero); de manera similar a lo encontrado por Quijano-Parra et al. (2013) quienes reportaron la presencia de 5 hidrocarburos (Benzo[c]fluoreno, Criseno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno y Benzo[a]Pireno) exclusivos de fuentes móviles.

Temporadas y Zonas

En cuanto a temporadas, "durante el año hay épocas en donde las concentraciones de partículas aumentan" (SEDEMA, 2015). En este estudio, el mes con mayor daño genotóxico fue diciembre ocasionado por contaminantes adsorbidos y absorbidos (**Figura 8**), que coincide con época de frío-secas, mencionada como "la temporada en donde se acumulan con mayor facilidad los HAP" (Huang et al. 2018). Según las **Figuras 7 y 8**, en los tratamientos realizados en temporada de frío-secas (diciembre, enero y febrero) sin contar el mes de noviembre, se muestra mayor daño en las zonas localizadas al norte (San Agustín y Tlalnepantla) con contaminantes absorbidos. Esto indica que durante estos meses la probabilidad de que estas partículas lleguen a la población por el aire aumenta, penetrando en las células humanas, dañando el DNA y afectando seriamente la salud (García et al., 2006). Estos resultados concuerdan con los realizados por SEDEMA en el 2015, donde se observó un gradiente de contaminantes con concentraciones máximas en el norte que disminuía hacia el sur durante esta temporada; la dispersión de los contaminantes por el viento, pudo ser un factor importante; ya que la dirección del viento en las zonas norte tendió hacia el NE, en la zona centro al NW y en la zona sur al N (Dirección de Monitoreo Atmosférico, 2016; Dirección de Monitoreo Atmosférico, 2017), indicando un probable movimiento de MP y HAP's hacia las zonas norte, explicando así los contaminantes acumulados en el extracto musgo y por ende el daño detectado.

En la temporada de secas calientes (marzo y abril) la mayoría de zonas con daño fueron asociadas a las de tráfico vehicular (sur y centro) (**Figura 7 y 8**), sin embargo, hubo una zona industrial en el mes de marzo (San Agustín) que presentó el valor mayor del momento de la cauda provocada principalmente por la asociación de metales e hidrocarburos identificados. El Cr se encontró en mayor concentración en dichas zonas lo que explicaría el daño generado a las células, ya que, como lo menciona Di Palma et al. (2017) éste, se deriva de partículas de diésel y emisiones de desgaste de frenos. Además, la asociación de este metal junto con Fe, Mn y Ni es característico en zonas urbanas con tráfico vehicular. Los vientos durante esta temporada cambiaron de dirección en las zonas sur, dirigiéndose principalmente hacia el NE y SE (Dirección de Monitoreo Atmosférico, 2017), provocando probablemente, la acumulación de contaminantes en Iztapalapa.

Durante dos temporadas, secas calientes y de lluvias (marzo, abril, mayo y junio) se obtuvo mayor momento de la cauda en las zonas del Sur (**Figura 7 y 8**), atribuyéndole este daño al tráfico automovilístico que se encuentra en ellas. A pesar de que en la temporada de lluvias (mayo y junio) la zona de Coyoacán (**Figura 7**) permaneció con datos similares, al hacer la correlación con metales e hidrocarburos no se encontró similitud entre los dos meses (Anexo 3 y 4), lo que indica que las mezclas de los contaminantes pueden afectar su toxicidad (Navarro-Aviñó et al., 2007), esto mismo sucedió en la zona de Iztapalapa con los tratamientos de musgo lavado (**Figura 7**). Lo que ocurrió al tener daño parecido con agentes diferentes se le puede atribuir a la presencia simultánea (mezcla) de los MP o HAP's, ya que sus efectos pueden ser tanto tóxicamente sinérgicos o antagónicos, ocasionando cierta dificultad para predecir los efectos reales de los contaminantes en el medio. Como lo menciona Navarro-Aviñó et al. (2007) "los efectos de un compuesto o de la mezcla de ellos pueden ser inocuos, letales o subletales (no matan al individuo, pero producen daños a nivel genético o fisiológico".

Asimismo, en temporada de lluvias (mayo-junio) se encontraron valores de concentración relativamente mayores de CHR (Anexo 4), tanto en la zona norte

(Coyoacán) como en la sur (San Agustín); al ser considerado posible cancerígeno en el ser humano (IACR, 2018), podría explicar el daño generado en estas zonas.

En varios estudios se ha demostrado que personas que se encuentran en diferentes lugares experimentan distintos niveles de contaminación del aire (Chen et al., 2018, Zhao et al., 2016). Asimismo, los niveles también pueden variar durante las épocas del año (Yuanyuan et al., 2014), como se demostró en este trabajo.

En lo que respecta al tratamiento hecho con extracto de musgo acumulado se pudo observar que, Iztapalapa (sur) y Tlalnepantla (norte) presentan contaminación atribuida al tráfico vehicular (Anexo 4), asociada al daño encontrado en las células NL-20, por ejemplo: Al, Ni, Co y Cu (Anexo 3 y 4) de manera similar a lo mencionado por Fernández et al. (2000) "El Pb, Cu, Ni, Cr, Cd y Fe de partículas suspendidas son atribuidas principalmente al tráfico vehicular". Sin embargo, como se puede notar en la **Figura 7**, la zona sur presenta menores valores en el momento de la cauda a pesar de tener las concentraciones más altas de metales: Al, Cr, Co, Ni, Fe, entre otros (Anexo 4), esto puede indicar que algún agente está disminuyendo la genotoxicidad, como se explica en el trabajo realizado por Annangi et al. (2016) en donde, el Vanadio puede ser utilizado como antígenotóxico, disminuyendo los efectos genotóxicos de otros.

Se esperaba que el musgo que acumuló contaminantes durante las 3 temporadas, mostrara mayor daño, sin embargo, eso no ocurrió en todas las estaciones. Por ejemplo, la zona de Tlalnepantla y Coyoacán mostraron mayores momentos de la cauda, mientras que La Merced no tuvo cambios significativos en los valores obtenidos, con los extractos de musgos lavados. Por otro lado, en el tratamiento realizado con los extractos de musgo sin lavar, presentó valores elevados en San Agustín y el resto permaneció en valores similares a los obtenidos en el testigo. Estos resultados no se correlacionan con los valores de las concentraciones de metales e hidrocarburos encontrados en la experimentación realizada, por lo que el efecto de éstos no es evidente; fenómeno que podría estar indicando que el musgo *Hypnum amabile* únicamente puede acumular contaminantes en periodos cortos de tiempo. Es importante mencionar que el

musgo recolectado de este tratamiento mostró cambios físicos importantes como en la coloración y mal estado en general (ver **Figura 9**) comparado con los otros meses de exposición.



Figura 9. Musgo recolectado después de los 8 meses de exposición; note la pérdida en la coloración, así como un deterioro general.

Asimismo, se puede inferir que el daño en el DNA encontrado en las células NL-20 (causado presuntamente por los musgos expuestos durante los 8 meses de muestreo), puede ser asociado a otros parámetros adicionales a los medidos en este estudio. Para establecer el efecto específico de los contaminantes encontrados; se sugiere realizar el ingreso controlado de metales, hidrocarburos y algunas combinaciones de importancia, para evaluar de manera específica el efecto de cada uno de ellos en la línea celular NL-20.

Tratamientos

En cuanto a los tratamientos (**Figura 7 y 8**) se encontraron diferencias entre contaminantes absorbidos y adsorbidos/absorbidos. Se observan mayores momentos de la cauda en los extractos de musgos sin lavar, atribuyendo estos valores al efecto producido por los contaminantes que permanecen tanto adsorbidos como absorbidos. Resaltando el comportamiento de dos HAP's :9-Metilantraceno y benzo[ghi]perileno, los cuales se encontraron únicamente en los extractos de musgo sin lavar, indicando que estos contaminantes se encuentran adsorbidos; sin embargo, en los resultados de extractos de musgo lavado tienen un valor de cero, indicando que estos no pudieron ser absorbidos.

IX. CONCLUSIONES

- Existen diferencias en la genotoxicidad entre los lugares de exposición, ya que existen contrastes en la cantidad de contaminación industrial y vehicular durante los 8 meses.
- Las condiciones meteorológicas juegan un papel importante en la distribución, concentración y por consiguiente acumulación de contaminantes.
- La presencia y concentraciones de MP y HAP's se comportan diferente entre zonas y temporadas, dependiendo en su mayor parte de las actividades antropogénicas y el clima.
- El presente estudio con musgos provee información importante en el nivel de contaminación ambiental y de la dispersión de contaminantes.
- Se estableció que el musgo *Hypnum amabile* presenta características idóneas como bioacumulador para periodos cortos de tiempo. Además, se observó que esta especie logra acumular en mayor concentración de los metales pesados, Mn y Zn. Y de los HAP's, Fenatreno y Fluoranteno.
- Este trabajo contribuye a la identificación de las emisiones urbanas de depósito, acumulación y exposición de MP en la CDMX.
- Los musgos pueden ser utilizados como biofiltros, por su capacidad de captación y acumulación de contaminantes atmosféricos.

X. RECOMENDACIONES

- Los biofiltros podrían ser una solución para disminuir la concentración de material particulado. Sin embargo, nuestro conocimiento sobre los mecanismos biológicos es aún limitado, por lo que se deberían realizar más pruebas.
- Hacer pruebas con otros musgos permitiría comparar su capacidad de almacenar contaminantes.

XI. REFERENCIAS

- Albores Medina A., Quintanilla Vega B., del Razo L., Cebrián García M. 1997. Arsénico. En: Albert Palacios y Lilia América. Introducción a la toxicología ambiental. Metepec, ECO, pp.247-261.
- Amador-Muñoz O., Villalobos-Pietrini R., Agapito-Nadales C., Munive-Colín Z., Hernández-Mena L., Sánchez-Sandoval M., Gómez-Arroyo S., Bravo-Cabrera J. y Guzmán-Rincón J. 2010. Solvent extracted organic matter and polycyclic aromatic hydrocarbons distributed in size-segregated airborne particles in a zone of México City: Seasonal behavior and human exposure. *Atmospheric Environment*, 44: 122-130.
- Annangi B., Bonassi S. Marcos R. y Hernández A. 2016. Biomonitoring of humans exposed to arsenic, chromium, nickel, vanadium, and complex mixtures of metals by using the micronucleus test in lymphocytes. *Mutation Research*, 770: 140-161.
- Arteaga-Gómez E., Rodríguez-Levis A., Cortés-Eslava J., Arenas-Huertero F., Valencia-Quintana R., Gómez-Arroyo S. 2016. Cytogenotoxicity of selected organophosphate insecticides on HaCaT keratinocytes and NL-20 human bronchial cells. *Chemosphere*, 145: 174-184.
- ATSDR- Agency for Toxic Substance and Disease Registry. 2007. Toxicological profile for arsenic U.S. Department of Health and Humans Services, Public Health Service, Centers for Diseases Control, Atlanta, GA. En: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp2.pdf>>. Consultado el 22 de marzo de 2018.
- Aránguez E., Ordóñez J. M., Serrano J., Aragonés N., Fernández-Patier R., Gandarillas A. y Galán I. 1999. Contaminantes atmosféricos y su vigilancia. *Revista Española de Salud Pública*, 73: 123-132.
- Astoviza M. J. 2014. Evaluación de la distribución de contaminantes orgánicos persistentes (COPs) en aire en la zona de la cuenca del Plata mediante muestreadores pasivos artificiales. Tesis profesional de doctorado. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de la Plata, Argentina. En: <http://hdl.handle.net/10915/34729>. Consultado el 23 de junio 2018.
- Ayala C. M., Hernández G. Y., Piñeiro G. J. y González P. E. 2004. Uso del Ensayo Cometa para evaluar el efecto de la temperatura sobre la reparación del daño genético inducido por peróxido de hidrógeno y la Radiación Ultravioleta A en células sanguíneas humanas. *Acta Farm. Bonaerense*, 23: 277-284.
- Ballester F. 2005. Contaminación atmosférica, cambio climático y salud. *Revista Española de Salud Pública*, 79: 159-175.
- Bedregal P., Mendoza P., Ubillús M., Torres B., Hurtado J., Maza I. y Espinoza R. 2009. El uso de *Usnea sp.* Y *Tillandsia capillaris*, como biomonitores de la contaminación ambiental en la Ciudad de Lima, Perú. *Revista de la Sociedad Química Perú*, 75: 479-487.

- Berg T. y Steinnes E. 1997. Use of mosses (*Hylocomium splendens* and *Pleurozium schreber1*) as biomonitors of heavy metal deposition: from relative to absolute deposition values. *Environmental Pollution*, 98: 61-71.
- Boada M., Moreno M.A., Gil H., Marcano J. y Maza J. 2007. Metales pesados (cu+2, cd+2, pb+2, zn+2) en músculo y cefalotórax de camarones silvestres *Litopenaeusschmitti*, *Farfantepenaeussubtilis*, *F. notialis*. *Revista Científica*, 17: 186-192.
- Caballero López S.N. y Alvarado Díaz D. 2006. Análisis y determinación de la concentración de hidrocarburos aromático policíclicos (HAP's) contenidos en el material particulado respirable (pm10) en la localidad de puente Aranda de Bogotá en la zona de alta actividad industrial y alto flujo vehicular. Tesis profesional. Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Universidad de la Salle, Bogotá.
- Calderón-Ezquerro, M.C., Guerrero-Guerra, C., Galán, C., Serrano-Silva, N., Guidos-Fogelbach, G., Jiménez-Martínez, M.C., Larenas-Linnenian, D., y López-Espinosa, E.D. 2018. Pollen in the atmosphere of Mexico City and its impact on the health of the pediatric population. *Atmospheric Environment*, 186: 198-208.
- Cárdenas Á. S. 1999. Los Musgos Pleurocárpicos del Valle de México, México. *Tropical Bryology*, 16: 109-116.
- Carretero J. 2005. Carcinógenos y origen del cáncer de pulmón. En: Sánchez-Céspedes y Rosell R. Cáncer de Pulmón. Centro Nacional de Investigación Oncológicas, Madrid, pp. 40-44.
- Carreño A. Chaparro-Giraldo A. 2013. Tolerancia al aluminio en especies vegetales: mecanismos y genes. *Universitas Scientiarum*, 18: 283-310.
- Chen B, Song Y, Kwan M.P., Huang B, Xu B. 2018. How do people in different places experience different levels of air pollution? Using worldwide Chinese as a lens. *Environmental Pollution*, 238: 874-883.
- Collins A., Koppen G., Valdiglesias V., Dusiska M., Kruszewski M., Moller P., Rojas E., Dhawan A., Benzie I., Coskun E., Moretti M., Speit G. y Bonassi S. 2014. The comet assay as a tool for human biomonitoring studies: The ComNet Project. *Mutation Research*, 759: 27-39.
- Cruz-Campas M.E., Gómez-Álvarez A., Quintero-Núñez M. y Varela-Salazar J. 2013. Evaluación de la calidad del aire respecto de partículas suspendidas totales (PST) y metales pesados (Pb, Cd, Ni, Cu, Cr) en la Ciudad de Hermosillo, Sonora, México, durante un periodo anual. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29: 269-283.
- Cuenca P. y Ramírez V. 2004. Aberraciones cromosómicas en trabajadoras expuestas a plaguicidas. *Revista de Biología Tropical*, 52: 623-628.
- Delgadillo-Moya C. 2014. Biodiversidad de Bryophyta (musgos) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 100-105.

- Di Palma A., Capozzi F., Spagnuolo V., Giordano S. y Adamo P. 2017. Atmospheric particulate matter intercepted by moss-bags: Relations to moss trace element uptake and land use. *Chemosphere*, 176: 361-368.
- Dirección de Monitoreo Atmosférico. 2016. Datos; meteorología 2016, dirección del viento. Disponible en: <http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php?opc='aKBhnmE=&r=aHR0cDovLzE0OC4yNDMuMjMyLjExMjo4MDgwL29wZW5kYXRhL2FudWFsZXNfaG9yYXJpb3MvbWV0ZW9yb2xvZ8OtYV8yMDE2LmNzdg==>. Consultado el 14 de marzo de 2019.
- Dirección de Monitoreo Atmosférico. 2017. Datos; meteorología 2017, dirección del viento. Disponible en: <http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php?opc='aKBhnmE=&r=aHR0cDovLzE0OC4yNDMuMjMyLjExMjo4MDgwL29wZW5kYXRhL2FudWFsZXNfaG9yYXJpb3MvbWV0ZW9yb2xvZ8OtYV8yMDE3LmNzdg==>. Consultado el 14 de marzo de 2019.
- Escobar L., Rivera A., Aristizábal F. 2010. Estudio comparativo de los métodos de resazurina y mtt en estudios de citotoxicidad en líneas celulares tumorales humanas. *Revista De La Facultad De Química Farmacéutica*, 17: 67-74.
- Fernández J. A., Puche F., Gimeno C. y Carballeira A. 1999. Primeros datos sobre el biocontrol de la deposición atmosférica de metales pesados en las provincias de Valencia, Castellón y Teruel mediante musgos terrestres. *Ecología*, 13: 83-91.
- Fernández A., Ternero M., Barragán F. y Jiménez J. 2000. An approach to characterization of sources of urban airborne particles through heavy metal speciation. *Chemosphere Global Change Science*, 2: 123-136.
- Franco-Hernández M.O., Vásquez-Murrieta M.S., Patiño-Siciliano A., y Dendooven L. 2010. Heavy metals concentration in plants growing on mine tailings in Central Mexico. *Bioresource Technology*, 101: 3864-3869.
- García F.F., Agudelo R.A., Jiménez K.M. 2006. Distribución espacial y temporal de la concentración de material particulado en Santa Marta, Colombia. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, 24: 73-82.
- Hernández-Franco P., Valverde M. y Rojas E. 2009. Los metales como inhibidores del sistema de reparación del ADN. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 12: 75-82.
- IARC, International Agency for Research on Cancer. 2006. Vanadium pentoxide, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 86, Lyon, France. En: <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono86-10.pdf>. Consultado el 5 de diciembre de 2017.
- IARC, International Agency for Research on Cancer. 2018. Agents Classified by the IARC Monographs, 1–122. En: https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/07/List_of_Classifications.pdf. Consultado el 7 de marzo 2018.

- INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2016. Estadísticas de vehículos de motor registrados en circulación. México. En: <<http://www.inegi.org.mx/sistemas/olap/Proyectos/bd/continuas/transporte/vehiculos.asp?s=est?c=13158>>. Consultado en enero de 2018.
- Klos A., Rajfur M. y Sramek I. 2011. Use of lichen and moss in assessment of forest contamination with heavy metals in praded and glacensis euroregions (Poland and Czech Republic). *Water Air Soil Pollutution*, 222: 367-376.
- Kumaravel T.S. y Jha A.N. 2006. Reliable Comet assay measurements for detecting DNA damage induced by ionising radiation and chemicals. *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 605: 7-16.
- Kumaravel T.S., Vilhar B., Faux S.P. y Jha A.N. 2009. Comet Assay measurements: a perspective. *Cell Biology and Toxicology*, 25: 53-64.
- Lag M., Ovrevik J., Totlandsdal A., Lilleaas E., Thormodsaeter A., Holme J., Schwarze P. y Refsnes M. 2016. Air pollution-related metals induce differential cytokine responses in bronchial epithelial cells. *Toxicology in Vitro*, 36: 53-65.
- Lima P., Vasconcellos M.C., Montenegro R.C., Bahia M., Costa E., Antunes L. y Burbano R. 2011. Genotoxic effects of aluminum, iron and manganese in human cells and experimental systems: A review of the literature. *Human and Experimental Toxicology*, 30: 1435-1444.
- Machado A., García N., García C., Acosta L., Córdova A., Linares M., Giraldothy D. y Velásquez H. 2008. Contaminación por metales (Pb, Zn, Ni Y Cr) en aire, sedimentos viales y suelo en una zona de alto tráfico vehicular. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 24: 171-182.
- Mancuiulea I. y Dumitrescu L. 2017. Persisten Organic Pollutants: Polycyclic aromatic hydrocarbons. En: <http://moodle.toxoer.com/pluginfile.php/3553/mod_page/content/1/U5_PAH%20SPA.pdf>. Consultado el 16 de junio 2018.
- Mastandrea C., Chichizola C., Ludueña B., Sánchez H., Álvarez H. y Gutiérrez A. 2005. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 39: 27-36.
- Miguel-Pérez G., Maya G., Flores-Márquez A.R., Amador-Muñoz O., Villalobos-Pietrini R., Eguía-Aguilar P., Pérez Peña-Díaz M. y Arenas-Huertero F. 2013. Efectos de la contaminación del aire en células humanas de pulmón. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 70: 107-115.
- Navarro-Aviñó J.P., Aguilar-Alonso I. y López-Moya J.R. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, 16: 10-25.
- Nava-Ruíz C. y Méndez-Armenta M. 2011. Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Archivos de Neurociencias (Mex)*, 16: 140-147.

- Nordberg G. 1998. "Metales: Propiedades químicas y toxicidad productos químicos". En: Jeanne Mager Stellman (ed.). Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, Ginebra, pp. 2-51.
- Olive P.L., Banath J.P. y Durand R.E. 1990. Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the "Comet" assay. *Radiation Research*, 122: 86-94.
- Ostling O. y Johanson K. 1984. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 123: 291-298.
- Prieto Méndez J., González Ramírez C.A., Román Gutiérrez A.D. y Prieto García F. 2009. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10: 29-44.
- Querol X. 2008. Calidad del aire, partículas en suspensión y metales. *Revista Española de Salud Pública*, 82: 447-454.
- Quijano-Parra A., Quijano Vargas M.J. y Meléndez Gélvez I. 2013 Influencia de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y metales en la calidad del aire de Pamplona y sus efectos genotóxicos. *Revista Ambiental Agua, Aire y Suelo*, 4: 23-34.
- Quijano-Parra, A. y Meléndez-Gélvez, I. 2014. Identificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en el aire de Cúcuta-Colombia: efecto genotóxico. *Revista EIA*, 11: 79-87. [Online]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.14508/reia.2014.11.79-87>.
- Quijano M.J., Quijano, A. y Meléndez, I. 2014. Identificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en el PM2.5 del aire de Pamplona-Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 17: 25-33.
- Quijano Parra A., Quijano Vargas M.J., Quijano Vargas L.A. y Tomas Manzano S. 2015. Toxicidad del aire de la Ciudad de Villa del Rosario en muestras de material particulado-fracción respirable PM 2.5. *Revista Colombiana de Tecnologías de Avanzada*, 2: 121-127.
- Ramírez A. 2002. Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. *Anales de la Facultad de Medicina*, 63: 51-64.
- Renaudin M., Leblond S., Meyer C., Rose C. y Lequy E. 2018. The coastal environment affects lead and sodium uptake by the moss *Hypnum cupressiforme* used as an air pollution biomonitor. *Chemosphere*, 193: 506-513.
- Rodríguez-Mercado J.J., Mateos-Nava R.A. y Altamirano-Lozano M.A. 2011. DNA damage induction in human cells exposed to vanadium oxides *in vitro*. *Toxicology in Vitro*, 25: 1996-2002.
- Rodríguez-Rey A., Noris-García E. y Fundora Torres M. 2016. Principios y relevancia del ensayo cometa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédica*, 35: 184-194.

- Rojas E., López M.C. y Valverde M. 1999. Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 722: 225-254.
- Rosales-Castillo José A., Torres-Meza Víctor M, Olaiz-Fernández Gustavo y Borja-Aburto. 2001. Los efectos agudos de la contaminación del aire en la salud de la población: evidencias de estudios epidemiológicos. *Salud pública México*, 43: 544-555.
- Ruíz Huerta E.A. y Armienta Hernández M. A. 2012. Acumulación de arsénico y metales pesados en maíz en suelos cercanos a jales o residuos mineros. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 28: 103-117.
- Saldívar de R.L., Luna M., Reyes E., Soto R., Fortoul T. I. 1991. Cadmium determination in Mexican-Produced Tobacco. *Environmental Research*, 55: 91-96.
- SEDEMA – GDF, Secretaría de Medio ambiente del Gobierno del Distrito Federal. 2015. Informe Anual de la Calidad del Aire de la Zona Metropolitana del Valle de México. Disponible en: <<http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php?opc=Z6BhnmI>>. Consultado el 20 de noviembre de 2018.
- SEDEMA, Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México. Inventario de Emisiones de la Ciudad de México. 2016. Dirección General de Gestión de la Calidad del Aire, Dirección de Programas de Calidad del Aire e Inventario de Emisiones. Ciudad de México, pp.35-58.
- SEDEMA, Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México. 2018. Calidad del aire en la Ciudad de México, informe 2017. Dirección General de Gestión de la Calidad del Aire, Dirección de Monitoreo Atmosférico. Ciudad de México, pp. 7-20.
- Segretín M. E. 2007. Los cultivos celulares y sus aplicaciones I (cultivos de células animales). Disponible en: <<http://www.argenbio.org/adf/uploads/pdf/Cultivos%20celulares%201%20Euge.pdf>>. Consultado el 27 de febrero de 2018.
- Huang S., Dai C., Zhou Y., Peng H., Yi K., Qin P., Si L., Xiaoshan Z. 2018. Comparisons of three plant species in accumulating polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from the atmosphere: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 16548-16566.
- Singh N.P., McCoy M.T., Tice R.R. y Scheneider L.E. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175: 184-191.
- Soto-Coloballes N.V. 2017. El control de la contaminación atmosférica en México (1970-1980): tensiones y coincidencias entre el sector salud y los industriales. *Dynamis*, 37: 187-209.
- Sunjog, K., Kolarevic S., Heberger K., Gacic Z., Knezevic-Vukcevic J., Vulkovic Gacic B. y Lenhardt M. 2013. Comparison of comet assay parameters for estimation of

- genotoxicity by sum of ranking differences. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405: 4879-4885.
- Téllez M.M., Romieu I., Polo M., Ruiz S., Meneses F. y Hernández M. 1997. Efecto de la contaminación ambiental sobre las consultas por infecciones respiratorias en niños de la Ciudad de México. *Salud Pública de México*, 39: 1-10. Instituto Nacional de Salud Pública Cuernavaca, México.
- USEPA, United States Environmental Protection Agency. 2017. Particulate Matter (PM) Pollution. En: <<https://www.epa.gov/pm-pollution/particulate-matter-pm-basics#PM>>. Consultado el 15 de enero de 2018.
- Vargas R. G. 2011. Division Briophyta. En: Botánica General: Desde los musgos hasta los árboles. San José, Costa Rica, pp. 55-58.
- Villalobos-Pietrini R., Amador Muñoz O., Waliszewski S., Hernandez-Mena L., Munive-Colín Z., Gómez-Arroyo S., Bravo-Cabrera J.L. y Frías-Villegas A. 2006 Mutagenicity and polycyclic aromatic hydrocarbons associated with extractable organic matter from airborne particles $\leq 10\mu\text{m}$ in southwest Mexico City. *Atmospheric Environment*. 40: 5845-5857.
- Villasana, A.M. 2008. Ensayo de mutagenicidad con la bacteria *Salmonella typhimurim*. Prueba de Ames. En: Ecología, I. N. d. (ed.). Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México, pp. 319-344.
- Vives I., Grimalt J. y Guitart R. 2001. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos y la salud humana. *Apuntes de Ciencia y Tecnología*, 3: 45-51.
- Wei Y., Zhang J., Li Z., Gow A., Chung K., Hu M., Sun Z., Zeng L., Zhu T., Jia G., Li X., Duarte M. y Xiaoyan T. 2016. Chronic exposure to air pollution particles increases the risk of obesity and metabolic syndrome: findings from a natural experiment in Beijing. *The FASEB Journal*, 30: 2115-2122.
- Yuanyuan S., Xin H., Jichun W., Hongzhen L. y Yijun C. 2014. Fractionation and health risks of atmospheric particle-bound As and heavy metals in summer and winter. *Science of the Total Environment*, 493: 487-494.
- Zalacain M., Sierrasesumaga L. y Patiño A. 2005. El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 28: 227-236.
- Zechmeister H.G., Dirnbock T., Hulber K. y Mirtl M. 2007. Assessing air borne pollution effects on bryophytes – lessons learned through long-term integrated monitoring in Austria. *Environmental Pollution*, 147: 696-705.
- Zepeda-Gómez C., Ávila-Pérez P., Díaz-García U. S., Alanís-Martínez Y., Zarazúa-Ortega G. y Amaya-Chávez A. 2014. Diversidad de musgos epífitos de la zona metropolitana del valle de Toluca, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 108-124.
- Zhao S., Yu Y., Yin D., He J., Liu N., Qu J., Xiao J. 2016. Annual and diurnal variations of gaseous and particulate pollutants in 31 provincial capital cities based on in

situ air quality monitoring data from China National Environmental Monitoring Center. *Environment International*, 86: 92-106.

XII. ANEXOS

Anexo 1

A1. 1. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante noviembre de 2016 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	646,49	155,65	3709,91	339,47	989,98	189,22	2648,24	238,01	1209,56	207,27	964,48	159,15
V	0,059	2,40	1,85	8,84	2,98	4,32	2,31	5,59	2,14	7,19	2,12	4,73	2,61
Cr	0,065	2,09	0,98	8,61	1,36	3,72	1,34	4,24	1,06	5,67	1,70	2,27	1,31
Mn	0,029	7283,08	2643,09	30982,84	5388,99	14593,29	3310,50	28643,04	4730,89	16061,04	2933,97	17012,17	2831,70
Fe	0,649	315,14	102,40	2067,74	201,35	906,80	129,80	1505,28	176,90	1071,84	163,62	637,22	105,60
Co	0,015	3,12	1,29	39,37	4,26	4,92	1,50	26,59	3,57	6,25	1,69	8,36	2,17
Ni	0,113	6,44	4,83	30,71	8,87	14,54	20,31	16,37	6,23	17,63	5,93	9,52	9,71
Cu	0,119	105,40	194,22	423,48	3078,46	355,48	1380,86	122,64	546,52	185,39	330,41	130,10	231,01
Zn	0,276	1148,42	679,80	6215,26	1693,71	1677,35	2026,57	4593,76	937,29	2955,47	942,58	2152,84	921,41
As	0,806	6,27	6,00	15,38	8,20	21,99	9,21	11,58	10,50	20,39	6,61	14,56	6,36
Mo	0,365	4,30	2,19	10,83	4,09	9,47	4,20	4,86	2,44	5,28	16,20	5,05	4,81
Cd	0,003	2,63	1,12	22,33	4,20	6,95	1,77	22,59	1,97	9,61	1,28	8,13	1,44
Sb	0,063	6,98	4,41	12,88	7,06	11,62	7,39	11,30	5,17	10,46	6,85	8,63	6,04
Pb	0,004	27,53	22,96	159,18	57,91	32,30	50,92	112,18	26,11	54,42	30,94	44,15	29,48

A1. 2. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante diciembre de 2016 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1												
Al	6,047	214,16	165,30	19631,15	261,10	13004,96	341,61	11711,74	413,45	7841,71	370,70	9506,75	188,20
V	0,059	10,63	1,88	21,57	2,40	13,15	3,14	14,49	3,33	14,19	3,10	20,09	2,00
Cr	0,065	5,87	1,53	14,02	2,13	8,62	1,56	8,54	1,56	6,94	1,65	9,98	1,61
Mn	0,029	60688,31	5123,84	89277,51	5564,60	75415,09	9463,65	70969,44	14947,16	61954,92	8871,35	71112,50	5376,84
Fe	0,649	1265,91	67,23	3659,12	161,83	2048,37	224,31	3152,69	318,92	1487,93	248,01	2740,78	81,32
Co	0,015	17,54	0,93	36,54	2,89	24,83	3,49	27,39	6,09	21,57	2,72	32,74	1,72
Ni	0,113	20,99	3,68	42,39	8,57	32,73	9,66	30,54	10,01	24,79	4,99	41,51	4,02
Cu	0,119	470,29	180,92	1141,78	399,36	559,49	350,12	513,92	208,92	265,57	261,13	559,03	469,31
Zn	0,276	3588,21	423,08	6774,38	599,31	4348,62	1046,69	4282,48	1575,21	3744,40	875,68	5009,79	468,82
As	0,806	19,74	4,12	33,45	5,60	37,70	8,32	23,85	8,05	29,84	8,39	39,09	5,58
Mo	0,365	3,00	0,89	6,11	2,05	4,54	2,29	4,42	4,28	3,11	9,87	5,24	1,13
Cd	0,003	9,95	0,75	29,30	1,07	14,72	2,48	15,86	4,18	16,72	3,42	11,91	1,18
Sb	0,063	33,40	15,39	52,94	20,93	43,51	19,74	38,39	18,39	42,74	20,57	51,44	18,50
Pb	0,004	63,20	11,27	128,67	14,70	78,35	28,81	81,64	39,43	68,43	19,19	102,79	12,90

A1.3. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante enero de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	505,62	51,09	1497,85	65,50	614,01	146,83	1360,01	63,20	1965,72	71,21	1272,27	72,38
V	0,059	5,49	2,07	7,83	2,56	8,47	2,81	7,17	2,09	13,09	2,39	8,77	2,78
Cr	0,065	2,88	0,91	5,55	1,26	3,40	1,09	5,16	0,95	5,55	1,45	4,30	1,98
Mn	0,029	23455,24	3193,87	41550,45	5536,50	49850,83	13222,46	45301,01	9409,66	56095,40	8016,54	26544,92	3639,65
Fe	0,649	487,14	58,22	674,32	71,26	540,50	135,38	512,17	64,56	659,29	89,60	523,50	65,18
Co	0,015	6,49	1,13	15,49	1,90	13,94	6,58	9,25	1,52	13,49	2,04	8,07	2,49
Ni	0,113	12,83	2,08	24,39	4,99	25,50	7,08	17,56	3,09	257,87	5,18	15,75	11,13
Cu	0,119	91,35	157,03	575,89	401,29	442,49	622,68	228,84	338,66	701,19	254,59	119,60	196,69
Zn	0,276	1630,49	358,20	3046,67	388,29	2937,75	1136,46	1953,76	555,35	4893,63	548,18	2176,85	741,49
As	0,806	14,29	4,85	23,68	7,84	18,60	8,53	15,87	6,09	31,76	6,83	20,55	7,13
Mo	0,365	1,66	1,73	2,95	2,10	3,80	3,38	3,04	2,17	4,83	2,84	1,89	3,57
Cd	0,003	7,91	1,17	11,92	1,36	11,82	5,74	9,63	3,07	18,87	1,58	8,45	1,21
Sb	0,063	30,47	11,90	41,18	20,01	40,61	18,46	41,89	14,12	49,29	26,09	33,36	19,37
Pb	0,004	31,62	14,88	83,45	20,24	59,56	47,71	33,26	16,81	70,80	16,51	50,17	18,26

A1.4. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante febrero de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	194,77	30,02	272,22	42,68	1968,57	117,08	324,40	99,06	386,17	69,50	654,52	82,12
V	0,059	3,13	2,18	5,93	2,63	9,80	3,08	6,16	2,85	4,51	2,85	6,04	2,70
Cr	0,065	1,45	0,52	1,76	0,80	4,87	1,46	2,31	1,05	2,10	0,88	4,20	1,29
Mn	0,029	19551,87	5860,56	35287,63	6030,58	37833,74	7555,12	33631,79	8902,08	25002,55	9563,35	26972,39	7428,36
Fe	0,649	221,71	50,20	335,82	57,05	869,88	84,24	302,18	85,44	243,21	81,66	272,87	65,60
Co	0,015	5,80	2,27	13,58	2,75	12,25	2,91	8,75	3,68	6,45	2,61	8,20	2,80
Ni	0,113	12,18	5,84	22,50	6,07	21,30	5,47	22,01	10,35	13,45	6,57	16,93	5,81
Cu	0,119	316,86	270,03	527,77	447,18	1124,48	723,10	799,16	612,82	331,04	542,20	532,42	303,97
Zn	0,276	1054,90	512,41	2572,14	627,19	2886,62	686,64	2374,45	1079,07	1113,60	827,90	1861,04	826,45
As	0,806	12,54	5,28	16,26	6,64	30,04	6,86	17,50	7,79	14,68	7,18	21,18	8,05
Mo	0,365	1,37	1,14	4,64	1,76	12,70	1,40	3,38	2,31	1,60	2,11	3,00	2,21
Cd	0,003	3,65	1,48	9,63	1,99	11,80	1,90	8,88	3,39	5,65	2,75	7,28	2,39
Sb	0,063	31,72	17,07	45,74	20,57	55,95	22,30	45,87	21,54	33,27	24,02	40,26	23,56
Pb	0,004	23,40	20,15	56,99	24,21	73,29	24,86	83,17	42,23	26,72	23,19	51,81	23,91

A1.5. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante marzo de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	219,79	48,77	402,31	95,87	316,25	50,11	275,34	101,17	403,44	74,23	740,51	97,99
V	0,059	1,53	1,45	2,21	1,72	3,70	1,66	3,37	1,78	2,90	1,56	4,61	1,98
Cr	0,065	1,59	0,94	2,67	2,24	2,56	1,01	1,81	1,23	2,41	1,50	4,55	1,35
Mn	0,029	18906,43	5186,20	20633,14	11342,29	23227,31	5516,97	27643,80	13091,52	30163,72	7520,30	32549,45	9110,44
Fe	0,649	358,90	105,33	359,52	212,28	373,96	184,20	401,45	120,48	355,01	142,14	402,73	198,89
Co	0,015	3,20	1,39	5,22	6,02	4,27	1,83	5,55	2,98	4,07	1,88	5,61	2,85
Ni	0,113	9,14	4,30	13,12	7,92	10,53	4,90	14,32	6,08	10,15	8,58	19,57	7,54
Cu	0,119	205,29	238,50	226,35	336,71	384,16	505,44	261,25	302,20	315,32	615,56	464,89	933,47
Zn	0,276	1203,14	528,91	1779,80	1363,16	1308,98	536,75	1811,02	1550,91	1298,28	622,64	2917,53	1038,43
As	0,806	9,80	3,08	15,76	7,77	14,34	5,47	11,00	5,27	19,92	7,12	25,71	7,53
Mo	0,365	2,31	0,68	11,72	2,01	3,16	1,44	3,54	1,40	9,94	2,12	2,67	2,48
Cd	0,003	4,05	0,77	5,79	2,79	4,19	0,98	5,92	2,03	6,99	1,12	6,56	1,72
Sb	0,063	17,64	10,32	20,56	16,12	28,51	15,63	21,02	14,00	24,41	17,31	23,93	16,43
Pb	0,004	18,13	8,33	28,64	65,53	21,19	12,57	28,97	28,39	22,33	15,69	40,47	22,71

A1.6. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante abril de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	6,047	256,81	27,20	623,52	29,76	320,79	34,73	808,90	92,96	144,41	49,47	311,68
V	0,059	0,059	1,33	0,89	2,46	1,10	2,30	1,13	4,26	1,69	1,77	1,41	2,97
Cr	0,065	0,065	1,32	0,58	2,52	1,05	2,55	0,67	3,75	1,52	1,29	0,81	2,07
Mn	0,029	29222,77	4208,17	30561,10	4609,70	44678,01	11380,25	29885,55	7258,30	32592,73	11000,66	29911,47	10607,72
Fe	0,649	218,76	59,78	388,38	95,64	244,01	78,09	765,67	222,67	262,19	139,12	281,83	113,66
Co	0,015	3,07	0,49	5,01	1,32	5,31	2,28	7,55	2,36	4,92	2,05	17,48	10,96
Ni	0,113	6,25	2,14	11,43	3,97	21,14	11,93	10,99	8,80	8,30	4,39	9,03	4,72
Cu	0,119	181,97	240,49	318,29	275,56	199,41	439,79	223,14	407,77	198,07	597,33	224,61	633,76
Zn	0,276	1387,66	327,01	1800,03	364,43	2811,03	1135,65	2703,18	780,08	1638,22	974,00	2132,52	1768,80
As	0,806	7,30	3,50	11,65	4,61	26,00	4,88	13,13	5,42	9,32	6,05	17,90	7,01
Mo	0,365	0,87	0,51	1,78	2,20	1,40	6,84	2,07	1,39	1,42	1,05	3,16	1,35
Cd	0,003	4,06	0,94	8,86	1,28	18,75	2,02	7,60	1,89	7,42	2,01	7,86	3,81
Sb	0,063	19,63	14,59	28,75	15,32	25,90	15,30	26,84	17,58	22,14	17,99	27,45	17,60
Pb	0,004	30,15	9,72	33,47	11,84	51,68	30,87	42,98	21,13	31,32	29,68	40,86	56,05

A1.7. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante mayo de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	416,22	109,02	2144,63	361,19	3365,61	127,63	6920,72	263,01	1144,60	180,08	432,66	135,51
V	0,059	4,39	2,17	8,64	3,33	9,98	2,31	15,04	3,29	5,37	2,26	5,98	2,98
Cr	0,065	2,33	1,36	6,01	1,94	8,74	1,53	13,58	1,51	4,44	1,42	2,45	1,47
Mn	0,029	14079,23	5988,36	32577,54	7687,69	42648,30	9571,41	48550,60	9964,95	31831,20	6241,25	19534,99	7182,51
Fe	0,649	422,18	142,18	1581,63	273,29	2440,31	291,82	4205,08	251,93	772,03	159,74	822,43	418,66
Co	0,015	7,94	3,65	25,27	6,77	37,71	8,73	60,29	9,06	22,36	4,03	18,18	6,37
Ni	0,113	13,75	11,47	38,61	16,99	39,62	13,36	52,79	19,20	52,58	25,01	16,62	17,80
Cu	0,119	217,66	426,24	1106,59	560,92	768,44	456,55	951,52	683,17	437,25	773,89	233,49	829,30
Zn	0,276	1280,71	849,94	4170,75	1223,50	4770,02	1564,72	6767,94	1545,75	3787,51	1011,47	2253,11	1382,12
As	0,806	10,37	4,06	17,32	7,41	24,18	6,59	23,39	7,55	15,34	6,30	11,12	6,71
Mo	0,365	2,65	0,78	5,49	1,22	5,61	2,95	6,09	4,89	3,71	7,94	3,36	2,42
Cd	0,003	4,82	1,03	11,67	2,69	14,58	3,37	20,53	2,95	11,96	1,87	6,46	2,63
Sb	0,063	27,77	17,88	44,20	22,52	44,26	19,43	48,90	22,08	34,83	18,48	30,13	19,66
Pb	0,004	35,59	32,89	135,67	51,71	153,32	59,28	277,74	63,87	116,69	42,03	77,10	53,46

A1.8. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante junio de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	197,46	64,12	265,65	127,14	225,60	78,89	1646,86	164,56	204,01	122,45	525,63	171,72
V	0,059	2,06	1,51	6,26	1,84	2,83	1,70	7,36	2,29	2,55	1,82	5,03	2,40
Cr	0,065	1,67	1,22	2,65	1,42	2,27	1,38	5,86	1,26	1,78	1,51	3,01	1,51
Mn	0,029	10749,61	4492,37	31760,60	8236,80	13516,17	4688,99	25672,83	6864,27	12638,72	7424,20	32791,73	11512,15
Fe	0,649	233,69	88,42	360,91	108,82	265,11	100,72	1322,00	176,00	383,32	417,88	471,72	127,63
Co	0,015	5,78	2,76	12,99	4,32	7,85	3,42	30,57	6,37	7,73	4,69	19,97	6,58
Ni	0,113	6,20	9,31	31,35	11,15	14,40	10,00	91,00	28,81	7,76	14,10	34,06	15,86
Cu	0,119	120,60	249,23	1047,86	286,80	279,10	443,17	539,46	421,15	165,51	694,63	504,17	274,49
Zn	0,276	945,93	730,32	3238,58	1000,60	1114,09	852,67	5216,80	1650,42	1012,81	1104,28	4026,00	1986,82
As	0,806	4,61	4,79	17,03	6,45	7,16	6,18	13,79	5,72	5,12	6,34	20,56	7,89
Mo	0,365	0,82	1,43	5,54	2,30	2,47	2,02	4,25	2,61	1,15	2,79	5,14	3,82
Cd	0,003	1,92	0,19	7,04	1,83	2,42	1,10	13,32	2,40	2,66	2,17	11,06	3,76
Sb	0,063	23,75	14,17	41,83	21,22	32,65	20,12	43,14	17,65	29,50	20,22	39,70	24,34
Pb	0,004	27,07	25,42	99,89	32,10	31,53	29,23	142,74	76,49	32,42	48,29	118,49	65,06

A1.9. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante ocho meses a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	176,12	47,69	805,63	82,52	1078,13	150,08	180,75	50,18	329,06	94,04	212,99	162,62
V	0,059	2,40	0,50	5,74	2,03	5,50	2,18	3,78	1,16	4,28	2,31	4,63	4,26
Cr	0,065	0,45	0,42	2,93	0,82	3,04	0,97	1,73	0,78	2,20	0,86	1,84	1,07
Mn	0,029	12565,04	3520,63	32910,85	8264,23	27803,94	9012,74	16996,63	4514,00	15120,94	9897,25	17207,91	10914,70
Fe	0,649	104,14	45,605	522,19	68,52	709,14	135,00	172,76	76,12	217,59	105,18	264,41	162,49
Co	0,015	1,84	0,94	12,28	1,64	5,84	2,74	2,42	1,19	3,21	2,72	7,00	9,57
Ni	0,113	6,65	3,86	16,82	5,29	27,95	20,10	8,26	6,27	19,27	10,40	16,32	26,45
Cu	0,119	120,30	172,55	302,84	226,98	259,30	246,14	195,62	246,27	182,68	349,50	295,42	504,34
Zn	0,276	1147,89	679,39	4688,65	1309,33	2330,27	2071,85	1165,24	954,85	1483,33	1792,56	1754,90	2551,30
As	0,806	13,428	4,693	32,75	8,21	47,96	8,35	19,21	6,32	18,43	7,21	20,02	10,93
Mo	0,365	1,04	1,38	9,73	1,98	4,06	2,13	1,97	2,08	1,45	2,92	2,52	4,61
Cd	0,003	3,49	2,25	13,31	2,87	7,06	3,50	4,57	2,91	4,99	2,61	6,24	4,57
Sb	0,063	21,86	9,02	40,31	24,97	35,93	17,29	31,92	11,80	27,31	22,23	31,03	24,14
Pb	0,004	39,14	22,22	144,72	34,73	70,06	60,24	35,34	34,44	43,00	50,78	49,85	73,49

Anexo 2

A2.1. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante noviembre de 2016 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	1.47	0.99	0.92	0.55	1.23	0.63	3.92	1.54	1.57	1.07
Acenaftileno	0.00	0.00	0.00	0.18	0.00	0.00	0.64	0.25	0.74	0.38
Acenafteno	2.51	0.00	2.45	0.00	2.24	0.00	2.92	0.00	2.57	0.00
Fluoreno	0.57	0.00	0.00	0.00	0.00	0.16	1.21	0.00	1.22	0.00
Fenantreno	2.84	1.08	1.71	0.42	3.31	1.02	5.32	1.39	2.28	1.42
Antraceno	1.53	0.59	0.86	0.38	1.74	0.84	1.75	0.76	1.63	0.75
2-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	2.95	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4,5-Metilenfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.41	0.00	0.00
9-Metilantraceno	6.55	0.00	2.04	0.00	3.76	0.00	3.21	0.00	4.10	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.32	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	1.57	0.39	1.03	0.26	1.55	0.63	2.51	0.52	1.48	0.74
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.58	0.66	0.72	0.54	0.00	0.69
Pireno	1.96	0.46	1.28	0.12	1.64	0.77	2.21	0.54	1.64	0.90
Reteno	0.73	0.17	0.66	0.00	0.38	0.00	0.73	0.23	1.26	0.59
Tripticeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	2.18	0.34	1.38	0.00	1.16	0.00	3.10	0.46	0.00	0.30
Trifenileno	0.00	0.00	0.73	0.00	0.00	0.00	1.30	0.00	2.32	0.00
Criseno	0.00		1.43	0.00	1.09	0.00	2.34	0.44	2.41	0.58
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Coroneno	0.00	0.00	1.06	0.00	0.00	0.00	1.71	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	2.92	2.02	0.94	0.00	1.40	1.29	1.93	3.95	0.00	1.58
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,l]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	1.26	0.00	0.76	0.00	0.85	0.00	1.03	0.00	0.00	0.00

A2.2. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante diciembre de 2016 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	1.39	1.57	1.52	1.29	1.60	1.12	2.44	0.86	2.48	1.00
Acenaftileno	0.58	0.00	0.55	0.00	0.49	0.00	0.51	0.00	0.32	0.00
Acenafteno	1.53	0.00	1.22	0.00	2.14	0.00	1.53	0.00	0.93	0.00
Fluoreno	0.58	0.00	0.58	0.90	0.92	0.00	0.85	0.00	0.77	0.00
Fenantreno	1.88	1.59	2.12	1.08	1.71	0.78	1.93	1.00	2.15	0.60
Antraceno	0.88	0.00	1.14	0.00	1.93	0.57	1.56	0.00	0.00	0.71
2-Metilantraceno	0.00	0.00	1.44	0.00	3.32	0.00	0.85	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	1.77	0.93	3.98	0.58	3.44	1.02	0.00	0.00	1.72	0.53
4,5-Metilenfenantreno	1.22	0.00	0.00	1.05	0.00	0.00	0.00	0.72	1.02	0.00
9-Metilantraceno	2.94	0.00	1.70	0.00	1.88	0.00	1.45	0.00	1.50	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.61	0.00	2.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.69	0.66	0.00
Fluoranteno	7.13	1.70	1.70	0.75	2.45	0.86	10.51	1.03	3.46	0.00
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	2.45	0.00	0.00	0.00	0.00	0.78	0.00	0.00
Pireno	2.02	1.90	1.22	0.77	1.58	0.00	3.46	0.55	2.81	0.48
Reteno	1.56	0.55	2.10	0.47	1.56	0.48	1.12	0.80	1.77	0.00
Tripticeno	1.63	0.00	0.77	0.33	1.80	0.41	0.90	0.00	1.04	0.00
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.00	1.26	1.70	1.28	4.41	1.40	1.25	1.02	1.88	0.00
Trifenileno	0.00	0.00	0.69	0.00	0.00	0.00	0.69	0.00	0.76	0.00
Criseno	1.85	0.89	0.71	1.13	3.20	0.00	1.24	0.00	1.46	0.00
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	1.41	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	0.00	0.00	1.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.88	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	1.70	0.00	4.75	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Coroneno	0.73	0.00	0.74	0.00	0.93	0.00	1.23	0.00	0.56	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.00	4.06	1.87	4.94	1.68	0.00	6.28	5.99	2.28	15.13
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,l]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

A2.3. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante enero de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	0.37	0.31	0.65	0.32	0.72	0.15	0.45	0.19	0.41	0.47
Acenaftileno	4.34	0.00	1.13	0.00	3.09	0.00	5.94	0.22	1.11	0.00
Acenafteno	1.02	0.00	0.68	0.00	3.15	0.00	1.01	0.00	0.00	0.56
Fluoreno	0.00	0.00	0.75	2.32	1.31	0.00	1.30	0.00	0.00	2.23
Fenantreno	0.53	0.29	1.19	1.07	2.03	0.24	2.53	0.31	0.70	2.09
Antraceno	0.74	0.38	1.62	0.93	1.80	0.18	1.53	0.37	1.03	1.79
2-Metilantraceno	0.00	0.22	1.01	0.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.93	0.00	1.15	0.00	0.65	0.44	0.00	0.26
4,5-Metilenfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.34	0.00	0.00
9-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	2.15	0.00	0.41	0.00	0.83	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	0.59	0.08	0.58	0.23	1.53	0.88	1.28	1.26	1.30	0.10
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pireno	0.42	0.22	0.77	0.00	1.48	1.20	1.67	2.16	1.17	1.32
Reteno	0.00	0.00	5.63	0.00	4.65	1.61	4.94	3.51	4.96	4.60
Tripticeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.55	0.00	0.85	0.39	1.33	3.52	1.41	4.14	1.11	0.00
Trifenileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.76	0.00	0.36	0.00	0.49
Criseno	0.00	0.00	0.98	0.00	1.38	0.98	1.69	0.66	1.29	1.76
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.48	0.00	3.14	0.00	2.24
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.27	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.67	0.00	1.89	0.00	6.63
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.02	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	1.22	0.00	0.00	0.00	1.08	0.00

A2.4. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante febrero de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	1.19	0.42	0.50	0.19	0.76	0.37	0.28	0.50	0.61	0.25
Acenaftileno	0.81	0.00	1.81	0.28	2.25	0.00	1.26	0.57	0.63	0.00
Acenafteno	1.65	0.00	0.71	0.54	2.22	2.23	1.29	0.00	1.37	0.00
Fluoreno	2.13	0.74	0.67	0.68	2.30	2.14	0.75	1.69	1.23	0.29
Fenantreno	5.50	0.85	0.95	0.82	2.38	0.85	0.69	0.55	1.79	0.68
Antraceno	1.40	0.85	1.30	0.74	2.35	0.87	0.77	0.58	1.32	0.55
2-Metilantraceno	0.00	0.04	0.00	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.61	0.00	0.00	0.00	0.00
4,5-Metilenfenantreno	0.69	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.43	0.00	0.00
9-Metilantraceno	3.46	0.00	1.44	0.00	1.57	0.00	1.66	0.00	0.76	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	1.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	1.87	0.29	1.32	0.65	0.96	0.68	1.16	0.36	0.65	0.35
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pireno	3.08	0.20	0.79	0.25	1.29	0.45	0.49	0.09	0.73	0.38
Reteno	1.01	0.00	1.07	0.00	0.34	0.00	1.28	0.00	1.34	0.00
Tripticeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	2.37	0.00	1.94	0.32	1.93	0.85	1.60	0.35	1.18	0.00
Trifenileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Criseno	2.42	0.00	0.89	0.00	1.30	0.00	0.91	0.00	1.82	0.00
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.80	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	1.38	0.00	0.70	0.00	0.79	0.00	0.64	0.00	0.85	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.99	0.00	0.51	0.00	0.81	0.00	0.80	0.00	0.98	0.00

A2.5. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante marzo de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	0.36	0.89	0.60	0.90	0.78	0.47	0.45	0.76	0.46	1.02
Acenaftileno	0.40	0.32	0.71	0.46	0.78	0.29	0.70	0.33	0.65	0.43
Acenafteno	2.00	0.00	1.14	2.34	2.52	1.19	1.93	2.28	1.46	1.46
Fluoreno	0.87	3.75	1.10	1.44	1.27	2.94	0.90	1.97	2.42	3.12
Fenantreno	1.70	2.79	1.25	1.29	3.25	0.76	2.60	0.41	1.16	0.96
Antraceno	0.99	3.34	1.18	1.48	1.85	2.19	1.38	3.03	0.92	0.67
2-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4,5-Metilenfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9-Metilantraceno	0.75	0.00	0.11	0.00	1.77	0.00	1.16	0.00	0.54	0.21
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	1.06	0.46	1.26	0.52	2.10	0.49	2.84	0.69	1.09	0.65
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pireno	1.27	1.08	1.08	0.78	2.18	0.64	2.43	0.57	1.01	1.20
Reteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Triptíceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.00	0.48	0.72	0.24	1.35	0.50	1.21	0.00	1.20	0.44
Trifenileno	0.51	0.71	0.94	0.47	0.00	0.57	0.00	0.00	0.00	0.00
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Criseno	0.00	0.00	1.77	0.00	2.10	0.00	1.54	0.00	1.24	0.00
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	1.17	0.00	0.00	0.95	0.00	0.00
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

A2.6. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante abril de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	1.52	0.68	0.52	0.61	1.60	1.17	0.91	1.09	1.55	0.58
Acenaftileno	1.60	0.46	1.31	0.62	6.29	0.88	0.71	0.61	1.03	0.37
Acenafteno	3.00	1.70	2.95	0.54	6.40	2.57	2.50	1.68	3.17	1.47
Fluoreno	4.12	1.71	1.37	1.49	5.61	2.61	1.59	2.21	2.17	1.20
Fenantreno	4.81	1.80	1.16	2.32	3.79	2.90	1.07	3.02	1.91	1.65
Antraceno	3.40	2.64	1.80	3.01	8.01	3.75	1.97	3.00	2.16	2.39
2-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4,5-Metilenfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9-Metilantraceno	4.24	0.00	1.84	0.24	1.54	0.00	2.90	0.00	2.01	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	3.01	0.43	1.69	0.60	2.38	0.70	1.46	0.69	1.04	0.85
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pireno	5.02	0.48	1.87	0.78	9.67	1.12	0.94	1.10	1.26	0.88
Reteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tripticeno	3.98	0.00	2.25	1.81	1.50	2.39	3.09	1.68	1.24	0.00
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Trifenileno	4.98	0.00	2.24	0.00	8.63	0.00	1.76	0.00	3.29	0.00
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Criseno	4.32	0.45	1.96	1.13	7.48	0.62	4.77	0.93	2.79	0.50
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	1.29	0.00	1.07	0.00	1.01	0.00	1.01	0.00	1.26
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

A2.7. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante mayo de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	1.43	0.52	0.85	0.42	2.13	0.98	0.88	0.19	1.11	0.26
Acenaftileno	1.17	1.67	0.85	0.53	1.02	1.76	0.63	0.22	1.43	0.38
Acenafteno	1.29	0.00	3.68	0.00	3.35	0.00	2.36	0.00	3.73	0.00
Fluoreno	3.63	3.49	4.66	1.20	3.03	2.39	2.60	0.88	3.88	1.64
Fenantreno	3.68	3.53	4.86	2.62	2.18	1.22	2.53	0.31	3.37	2.11
Antraceno	0.00	0.00	4.31	0.00	4.61	0.00	2.42	0.00	4.19	0.00
2-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4,5-Metilenfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9-Metilantraceno	2.04	0.00	2.30	0.00	3.15	0.00	3.53	0.00	2.03	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	1.52	0.00	1.61	0.38	1.69	0.55	2.86	1.26	3.37	0.38
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pireno	3.49	0.00	1.58	0.00	1.89	0.00	1.54	0.00	3.62	0.00
Reteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tripticeno	2.10	1.78	1.04	1.80	1.69	2.00	2.61	1.75	3.68	1.24
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Trifenileno	1.61	0.00	1.90	0.00	1.42	0.00	2.09	0.00	2.89	0.00
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Criseno	1.32	0.00	1.40	0.00	1.13	0.00	2.00	0.00	2.63	0.00
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	2.61	0.00	2.77	1.83	1.31	1.24	3.35	0.00	1.23	0.55
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.96	0.00	0.61	0.00	0.36	0.00	0.34	0.00	0.89	0.00

A2.8. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante junio de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	4.23	4.33	5.78	1.44	4.00	1.46	5.50	3.15	5.85	4.38
Acenaftileno	2.28	3.51	7.93	1.48	4.00	1.32	3.95	1.51	3.37	3.26
Acenafteno	5.54	3.28	6.93	0.00	2.78	1.94	5.94	4.00	6.91	3.63
Fluoreno	4.95	2.83	3.51	6.04	6.88	0.00	9.62	3.52	6.07	4.69
Fenantreno	4.26	2.91	12.39	0.66	2.89	0.77	11.56	1.98	7.48	2.02
Antraceno	3.86	1.75	6.20	0.57	4.24	1.07	13.79	1.46	5.85	3.66
2-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4,5-Metilenfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9-Metilantraceno	3.91	0.00	6.38	0.00	9.25	0.00	12.22	0.00	7.67	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	5.35	0.00	14.86	0.00	4.76	0.00	4.43	1.03	5.95	0.98
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pireno	4.10	3.18	10.23	4.11	8.08	0.67	4.67	2.02	6.44	0.73
Reteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tripticeno	5.57	0.00	3.60	0.00	5.29	0.00	7.43	0.00	0.00	1.69
Benzo[a]fluoreno	7.88	0.00	0.00	0.00	3.20	0.00	4.33	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Trifenileno	10.27	4.24	4.09	0.87	10.06	2.47	6.90	0.00	6.34	1.51
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Criseno	7.98	4.05	3.41	1.02	7.51	1.61	8.52	0.00	5.19	1.69
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	6.26	0.00	3.39	1.14	6.61	0.80	11.57	0.00	4.45	2.42
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.49	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.76	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

A2.9. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en los musgos *Hypnum amabile* expuestos durante ocho meses a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	1.50	1.21	1.42	0.72	1.60	0.79	1.85	1.04	1.76	1.13
Acenaftileno	1.60	0.75	1.79	0.44	2.24	0.53	1.79	0.46	1.16	0.60
Acenafteno	2.29	0.62	2.47	0.43	3.10	0.99	2.43	0.99	2.52	0.89
Fluoreno	2.32	1.56	1.58	1.76	2.66	1.28	2.35	1.28	2.22	1.65
Fenantreno	3.20	1.86	3.20	1.28	2.69	1.07	3.53	1.12	2.61	1.44
Antraceno	1.61	1.19	2.30	0.89	3.32	1.18	3.15	1.15	2.14	1.31
2-Metilantraceno	0.00	0.03	0.31	0.07	0.42	0.00	0.11	0.00	0.00	0.03
1-Metilantraceno	0.25	0.12	0.61	0.07	0.94	0.20	0.08	0.05	0.21	0.10
4,5-Metilenfenantreno	0.27	0.02	0.00	0.13	0.00	0.00	0.00	0.24	0.13	0.00
9-Metilantraceno	2.48	0.45	1.98	0.29	3.13	0.26	3.32	0.48	2.43	0.30
3,6-Dimetilfenantreno	0.09	0.00	0.25	0.14	0.00	0.00	0.04	0.09	0.08	0.00
Fluoranteno	2.93	0.42	3.01	0.42	2.18	0.60	3.38	0.86	2.29	0.51
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.31	0.00	0.07	0.08	0.09	0.16	0.00	0.09
Pireno	2.77	0.94	2.35	0.85	3.48	0.60	2.18	0.88	2.33	0.74
Reteno	0.37	0.09	1.18	0.06	0.87	0.26	1.01	0.57	1.17	0.65
Tripticeno	1.90	0.22	0.96	0.49	1.29	0.60	1.75	0.43	0.75	0.37
Benzo[a]fluoreno	1.13	0.00	0.00	0.00	0.40	0.00	0.54	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.42	0.26	0.82	0.28	1.27	0.78	1.07	0.75	0.67	0.09
Trifenileno	2.48	0.62	1.32	0.17	2.51	0.39	1.59	0.00	1.95	0.19
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.18	0.00	0.00	0.22	0.00	0.04	0.00	0.06
Criseno	2.56	0.67	1.57	0.41	3.15	0.40	2.87	0.25	2.36	0.57
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	1.27	0.00	0.92	0.37	0.99	0.26	1.87	0.00	0.71	0.37
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.31	0.00	0.39	0.00	0.28
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.02	0.00	0.00	0.06	0.21	0.00	0.24	0.00	0.83
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.36	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.21	0.00	0.59	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.16	0.10	0.13	0.15	0.13	0.50	0.24	0.00	0.16
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.20	0.76	0.44	0.61	0.49	0.16	1.10	1.72	0.39	2.09
Benzo[ghi]perileno	0.28	0.00	0.24	0.00	0.41	0.00	0.27	0.00	0.37	0.00

Anexo 3

Tabla 1. Posibles metales y HAP's involucrados en el daño generado en la línea celular NL-20 por consecuencia de los extractos de musgo lavado. Obtenidos de una regresión múltiple ($p < 0.05$) con respecto al momento de la cauda.

LAVADO		
MES	METALES	HAP's
Noviembre	V en presencia de Al ($R^2=0.83$)	-
Diciembre	Cu en presencia de Cr ($R^2= 0.82$)	Pireno ($R^2=0.86$)
Enero	Cr ($R^2=0.95$) Ni ($R^2=0.66$)	-
Febrero	Zn en presencia de Cu y Ni ($R^2=0.91$)	Acenafteno ($R^2=0.90$) Naftaleno en presencia de Acenafteno y Acenaftileno ($R^2=0.99$) 1-Metilantraceno ($R^2=0.97$) Fluoranteno en presencia de 3,6-Dimetilfenantreno ($R^2=0.92$)
Marzo	Ni y V ($R^2=0.93$) Ni en presencia de Zn y Cu ($R^2=0.92$)	Naftaleno en presencia de Acenafteno y Acenaftileno ($R^2=0.99$) Acenafteno en presencia de Naftaleno ($R^2=0.92$)
Abril	Cr ($R^2=0.89$)	Fenantreno ($R^2=0.93$) Antraceno ($R^2=0.93$)
Mayo	-	-
Junio	-	Naftaleno, Acenafteno y Acenaftileno ($R^2=0.99$) Fluoranteno y Pireno ($R^2=0.99$)
Acumulado	Al y Cu en presencia de Ni ($R^2=0.98$)	Naftaleno en presencia de Fenantreno ($R^2=0.98$)

Tabla 2. Posibles metales y Hap's involucrados en el daño generado en la línea celular NL-20 por consecuencia de los extractos de musgo sin lavar. Obtenidos de una regresión múltiple ($p < 0.05$) con respecto al momento de la cauda.

SIN LAVAR		
MES	METALES	HAP's
Noviembre	-	Fluoranteno, 9,10-Dimetilantraceno y Pireno ($R^2=0.99$) Benzo[a]antraceno y Trifenileno ($R^2=0.96$)
Diciembre	Co en presencia de Mn ($R^2=0.70$)	Naftaleno, Acenaftileno y Acenafteno ($R^2=0.99$) Tripticeno y Benzo[a]antraceno en presencia de Trifenileno ($R^2=0.99$) Benzo[a]antraceno y Trifenileno ($R^2=0.97$) Criseno en presencia de Ciclopenta[c,d]pireno ($R^2=0.97$)
Enero	Pb ($R^2=0.80$) Fe ($R^2=0.70$) Co ($R^2=0.85$)	Fluoreno, Fenantreno y Antraceno ($R^2=0.99$)
Febrero	-	Fenantreno ($R^2=0.87$) Fluoreno y Antraceno ($R^2=0.99$) 4,5-Metilenfenantreno ($R^2=0.99$) Pireno ($R^2=0.97$) Reteno y Pireno ($R^2=0.99$)
Marzo	-	Fluoreno y Antraceno 4,5-Metilenfenantreno ($R^2=0.99$)
Abril	Cd, Ni, As, Cd ($R^2=0.84$)	-
Mayo	Sb y Pb ($R^2=0.95$)	Trifenileno y Criseno ($R^2=0.99$)

SIN LAVAR (continuación tabla 2)		
MES	METALES	HAP's
Junio	Cu, Pb, Co en presencia de y Cr ($R^2=0.99$) Sb en presencia de Cd ($R^2=0.80$) Cd y Pb ($R^2=0.91$) Cu ($R^2=0.82$) Zn en presencia de Cu ($R^2=0.96$)	-
Acumulado	-	Benzo[a]fluoreno en presencia de Benzo[a]antraceno ($R^2=0.97$)

Anexo 4

Tabla 1. Se muestran las mayores concentraciones de HAP y metales pesados encontrados en las zonas con diferencias significativas en cada mes.

Noviembre (no se encontraron diferencias significativas en el momento de la cauda)		
Diciembre		
	Lavado	Sin lavar
Coyoacán	indeno[1,2,3-cd]pireno Cr	naftaleno fenantreno Sb
Iztapalapa	-	-
La Merced	-	-
San Agustín	-	fluoranteno 9-metilantraceno Sb
Tlanepantla	1 metilantraceno Cr	benzo[a]antraceno criseno acenafteno Sb
Enero		
Coyoacán	benzo [j] fluoranteno criseno As	benzo[ghi]perileno Cr, Fe y Co
Iztapalapa	-	reteno
La Merced	-	-
San Agustín	Sb	Cr, Cd, As, Ni y Sb
Tlanepantla	ciclopenta[c,d]pireno Al, V y Cr	-
Febrero		
Coyoacán	-	Co y Ni

Iztapalapa	-	-
La Merced	-	-
San Agustín	-	benzo[ghi]perileno fenantreno indeno[1, 2, 3cd]pireno fluoreno
Tlanepantla	fluoreno benzo[a]antraceno As	-
Marzo		
Coyoacán	pireno naftaleno Cr y As	Co y Mo
Iztapalapa	-	-
La Merced	-	-
San Agustín	antraceno fenantreno Ni, Mo, Sb y Cu	-
Tlanepantla	-	-
Abril		
Coyoacán	-	-
Iztapalapa	-	Ni, As, Cd y Pb
La Merced	Fenantreno 9metilantraceno Cr	-
San Agustín	-	-
Tlanepantla	-	-
Mayo		
Coyoacán	-	fluoranteno

		criseno benzo[ghi]perileno
Iztapalapa	7, 12 –Dimetilbenzo [a] antraceno Cd y Pb	fluoreno fenantreno V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, As, Sb y Pb.
La Merced	-	-
San Agustín	fenantreno Ni y Mo	-
Tlanepantla	-	-
Junio		
Coyoacán	naftaleno As	V, As, Cu, Cd y Sb
Iztapalapa	Pireno, fluoreno	-
La Merced	acenafteno indeno[1, 2, 3cd]pireno Co, Ni y Pb	-
San Agustín	Fenantreno, criseno Cr	-
Tlanepantla	-	-
Acumulado		
Coyoacán	-	-
Iztapalapa	Benzo[a]antraceno Al, V, Cr, Co, Ni, As, Cd, Pb, Fe	-
La Merced	-	-
San Agustín	-	-
Tlanepantla	Fluoreno Al, Cr, Co, Ni, As, Cd, Pb y Fe	-

1. Datos del alumno
Ortiz
Díaz
Daniela
5521127105
Universidad Nacional Autónoma de
México
Facultad de Ciencias
Biología
311633544
2. Datos del tutor
Dra.
Sandra
Luz
Gómez
Arroyo
3. Datos del sinodal 1
Dr.
Luis Felipe
Jiménez
García
4. Datos del sinodal 2
Dra.
Rosario
Rodríguez
Arnaiz
5. Datos del sinodal 3
Dr.
Pedro Rafael
Valencia
Quintana
6. Datos del sinodal 4
Dra. Josefina
Cortés
Eslava
7. Datos del trabajo escrito
Evaluación del daño genotóxico en la línea celular NL-20 provocado por extractos de musgos expuestos a contaminantes atmosféricos, en cinco zonas de la Ciudad de México y área metropolitana.
77 p.
2019

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a mi tutora, la Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo, por su apoyo incondicional, asesoramiento y enseñanza que me brindo desde mi primer día en el CCA, sobre todo por la oportunidad que se me dio al participar en uno de sus proyectos.

A mis sinodales, por su tiempo, observaciones, consejos y aportaciones en la revisión de este trabajo.

Agradezco al Dr. Francisco Jesús Arenas Huertero por su asesoramiento en el manejo de la línea celular y por el uso de equipo para la realización de esta tesis. Asimismo, para todo el equipo de trabajo del Laboratorio de Patología Experimental del Hospital Infantil, por su compañerismo, orientación y capacitación a lo largo de mi estancia.

A la M. en C. Ana Rosa Flores Márquez por el apoyo técnico para el desarrollo de la presente tesis, así como por transmitir sus conocimientos, orientación en el manejo de células humanas, constancia y eficacia en el trabajo de laboratorio.

A la Dra. Josefina Cortés Eslava por iniciarme en el trabajo en laboratorio, apoyo y conocimientos.

Al Dr. Cesar Damián Alonso Murillo, por su apoyo en el desarrollo del musgo en esta investigación.

Agradezco al team musgo: Julio Alejandro Moreno, Biol. Paola Loza G. y Karla por sus consejos y tiempo invertidos en el proyecto. Y a los muchos otros en el laboratorio que apoyaron y colaboraron.

A la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Ciudad de México por la beca otorgada para la realización de la presente tesis a través del proyecto SECITI/056/2016.

Al Centro de Ciencias de la Atmósfera por permitirme el uso de sus instalaciones y a su equipo de trabajo que apoyo de diversas maneras en la realización de mi trabajo.

Dedicatoria

Este trabajo se lo quiero dedicar a mi familia, por el apoyo incondicional y la oportunidad que me brindan de seguir mis sueños. A mis padres por estar siempre presentes en todo lo que hago. A ti mamá, por inculcarme que el esfuerzo y la dedicación son necesarios en todo lo que hacemos, no siempre es fácil, pero siempre se logra alcanzar la meta. A ti papá, por enseñarme a dar siempre más de lo que puedes hacer, y así lograr marcar una diferencia. A mi hermana por las pláticas eternas, consejos y aliento de no rendirme. Gracias, son mi vida.

A mis tíos José Manuel Fernández y Claudia Chávez por siempre estar presentes en nuestras vidas y nunca rendirse, y a mis primos por dejarme vivir y sentir, el corazón y la entrega que le ponen a cada uno de sus proyectos, los amo.

A mis amigos, por escucharme, animarme, ayudarme, por los viajes, las risas y los chismes infinitos. Félix, Pablo, Sandra y Susana, creo que hoy puedo decir que serán unos grandes colegas en lo que nos queda de vida.

A mi mejor amiga Erika por siempre estar presente en mis derrotas, triunfos y locuras; y aunque antes no me caía bien, hoy puedo decir que es una de las personas más importantes en mi vida. Y por último a mi amigo Julio por el apoyo incondicional durante la realización de este proyecto, motivación y locura.

INDICE

RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN.....	3
II. ANTECEDENTES.....	5
1. Contaminación atmosférica	5
2. Contaminación en la Ciudad de México (CDMX)	5
3. Material particulado (PM)	7
3.1 Metales pesados (MP)	7
3.2 Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP´s).....	13
4. Musgos (<i>Hypnum amabile</i>).....	14
Bioacumulador	15
5. Células epiteliales bronquiales humanas NL-20.....	16
6. Evaluación del daño genotóxico (genotoxicidad).....	16
Ensayo cometa	17
III. JUSTIFICACIÓN	19
IV. HIPÓTESIS	20
V. OBJETIVOS.....	20
1. General.....	20
2. Particulares.....	20
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
1. Mantenimiento de musgos provenientes de Chignahuapan, Puebla.....	21
2. Obtención de extractos.....	22
3. Determinación de metales pesados con espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)	23
4. Determinación de HAP´s en los musgos con cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	24
5. Expansión y mantenimiento de línea celular NL-20.....	24
6. Tratamientos con extractos	25
7. Evaluación del daño genotóxico por la técnica de electroforesis unicelular alcalina en la línea celular NL-20	26
7.1. Aislamiento de núcleos	26
7.2. Electroforesis	27

7.3. Tinción	27
7.4. Observación.....	27
8. Análisis estadístico	28
VII. RESULTADOS	29
Extractos.....	29
Determinación de metales pesados.....	29
Determinación de HAP's	29
Genotoxicidad en NL-20	30
VIII. DISCUSIÓN.....	35
IX. CONCLUSIONES.....	44
X. RECOMENDACIONES.....	44
XI. REFERENCIAS	45
XII. ANEXOS	53
Anexo 1	54
Anexo 2.....	63
Anexo 3.....	72
Anexo 4.....	75

RESUMEN

El tema sobre la contaminación del aire ha tomado gran impacto en la sociedad durante los últimos años. Existen dos fuentes de emisión de contaminantes: antropogénicos (industrias automóviles, etc.) y naturales (erupciones, incendios, etc.). Se ha demostrado la acción del material particulado y su repercusión en la salud humana, así como el daño que causan en diferentes frecuencias y momentos de exposición.

En el presente trabajo se evaluó la genotoxicidad inducida en la línea celular NL-20 por los contaminantes [metales pesados (MP) e hidrocarburos aromáticos policíclicos HAP's] acumulados y superficiales presentes en el musgo *Hypnum amabile* expuesto en 5 zonas de la Ciudad de México y área metropolitana; ubicadas en Coyoacán, Iztapalapa, La Merced, San Agustín y Tlalnepantla, con tiempos diferentes de exposición (mensual y acumulado de 8 meses) y en temporada de secas frías (noviembre, diciembre, 2016, enero, 2017) y secas calientes (febrero, marzo, abril, 2017), así como de lluvias (mayo y junio, 2017).

Cada mes se recolectó el musgo expuesto, una parte se lavó (para evaluar absorción) y la otra no (adsorción), se pesó, se obtuvo la fase acuosa (extractos) y se realizaron tratamientos de 24 horas en la línea celular bronquial NL-20 para evaluar el daño genotóxico mediante el ensayo cometa (electroforesis unicelular alcalina). Los núcleos se tiñeron con bromuro de etidio y se observaron con ayuda de un microscopio de fluorescencia, se analizaron con el programa Comet Assay IV, considerando el momento de la cauda como indicador de daño. Por otra parte, se realizó la determinación de MP presentes en los extractos por el método de espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) detectándose: Cr, Sb, Al, V, As, Co, Ni, Mo, Cd, Pb, Mn, Fe, Cu. Asimismo, para la determinación de HAP's se utilizó el método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, obteniendo: acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo[j]fluoranteno, benzo[a]antraceno, benzo[ghi]perileno, criseno, ciclopenta[c,d]pireno, trifenileno, tripticeno, fluoreno, fenantreno, fluoranteno, perileno, pireno, reteno, 9-metilantraceno, 2-metilantraceno, 1-metilantraceno, 4,5-

dimetilentenantino, 7,12-dimetilbenzo[a]antraceno, indeno[1,2,3-cd]pireno y naftaleno.

Se realizó un análisis de varianza y la prueba de Tukey con un 95% de confianza, para contrastar el daño al DNA de cada variable contra el testigo negativo (mantenido en el laboratorio en cámara con condiciones controladas). Los resultados mostraron que los extractos de los musgos expuestos en temporada de secas frías presentan mayor daño en el DNA en las zonas del norte, se observó una correspondencia con la concentración de MP y HAP's presentes en los extractos. En la temporada de secas calientes, el daño fue ocasionado por los metales y HAP's provenientes del tráfico vehicular (zonas sur y centro). Se evidenció que las mezclas de los contaminantes pueden provocar toxicidad.

El musgo logró acumular MP y HAP's, muchos de ellos dañinos para la salud. Se encontraron diferencias en la genotoxicidad entre zonas (por las actividades antropogénicas particulares), por temporada (el clima influye en la concentración, depósito y acumulación de contaminantes) y tratamientos (lavado y sin lavar).

I. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años ha aumentado la severidad con la que se tratan los temas como la contaminación y el cambio climático, por los riesgos que presentan. La contaminación del aire se ha convertido en un problema mundial (Rosales-Castillo et al., 2001). La contaminación atmosférica se puede definir como: la presencia en el aire de materia que implique riesgo o daño para personas y bienes de cualquier naturaleza (Aránguez et al., 1999).

En la Ciudad de México ha habido incremento en la contaminación del aire y con esto, de partículas menores a 10 micrómetros (PM_{10}) y de MP asociados a ellas (Machado et al., 2008), que pueden provocar daño en el sistema respiratorio, derivando en enfermedades (SEDEMA, 2015); ocasionada por el parque vehicular, constituido de aproximadamente 3 millones de automóviles (Miguel-Pérez et al., 2013), las industrias (Soto-Coloballes, 2017) y la presencia de diferentes agentes biológicos (Calderón-Ezquerro et al., 2018). Además, su topografía incluye importantes cadenas montañosas que impiden la libre circulación del aire, lo cual agrava estas condiciones ambientales (Téllez et al., 1997).

Las actividades antropogénicas están estrechamente ligadas con el aumento de las concentraciones de MP e hidrocarburos. El Pb, Cu, Ni, Cr, Cd y Fe de partículas suspendidas son atribuidos principalmente al tráfico vehicular (Fernández et al., 2000). El Zn y Cr están especialmente relacionados con emisiones en condiciones de altas temperaturas en actividades antropogénicas (industria y transporte) y biogénicas (emisiones volcánicas e incendios forestales) (Machado et al., 2008). Los HAP's son compuestos orgánicos con dos o más anillos de benceno fusionados (Huang et al., 2018), provenientes de la combustión incompleta de bosques, erupciones volcánicas, además de las actividades antropogénicas anteriormente mencionadas, entre otros. El daño que ocasionan estos contaminantes dependerá del tipo de exposición, del tiempo y de la vía de absorción (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011).

El uso de biomonitores en estudios de contaminación ambiental ha empezado a utilizarse ya que presentan varias ventajas. Los beneficios van desde

la simplicidad del muestreo, el grado de acumulación de contaminantes (por tener un alto radio de superficie volumen) hasta el uso de equipo más económico (Bedregal et al., 2009). Las plantas al ser susceptibles a cambios en su ambiente han sido excelentes organismos para estos trabajos; diferentes especies son usadas para evaluar los efectos de diversos contaminantes ambientales.

En el desarrollo del presente estudio, se eligió el musgo (*Hypnum amabile*) ya que presenta características idóneas como biomonitor (Zechmeister et al., 2007) y bioacumulador, puesto que carece de una cutícula, sistema vascular y radicular bien desarrollado, por lo que, absorben la mayor parte de sus nutrientes, por vía atmosférica y no por el sustrato (Fernández et al., 1999). Desde hace tiempo, se empezaron a emplear en Europa para seguimiento de la contaminación como medida indirecta de depósito atmosférico de MP (Fernández et al., 1999).

Por otra parte, existen diferentes métodos para evaluar el daño genotóxico. La técnica de electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa), es utilizada para detectar rupturas de cadena sencilla, además de otras alteraciones como rupturas de cadena doble, sitios sensibles al alcalí y enlaces cruzados (Singh et al., 1988; Kumaravel y Jha, 2006). El DNA se caracteriza por ser una molécula con carga negativa; cuando las laminillas son observadas, se presenta algo semejante a un cometa, en donde, la cabeza es DNA no dañado y la cauda es DNA fragmentado que ha migrado hacia el ánodo (+). Esta prueba ha sido muy utilizada por su sensibilidad y por la rápida obtención de resultados (Rojas et al., 1999).

La línea celular bronquial humana (NL-20) se ha utilizado para diferentes estudios que impliquen algún agente que pueda estar provocando alteraciones, como es el caso del estudio realizado por Arteaga-Gómez et al. (2016), en el que evaluaron el daño causado por insecticidas organofosforados. Las células NL-20 se caracterizan por ser una línea celular inmortalizada, es decir crecen indefinidamente, sin perder sus características como morfología, funciones, etc. (Segretín, 2007) soportando alrededor de 138 pases, sin disminuir sus capacidades. Crecen rápido y en grandes cantidades por lo cual son excelentes para realizar

experimentos *in vitro* (Escobar et al., 2010) relacionados con agentes tóxicos al ser humano.

II. ANTECEDENTES

1. Contaminación atmosférica

Se puede definir como: la presencia en el aire de materia que implique riesgo o daño para personas y bienes de cualquier naturaleza (Aránguez et al., 1999).

Se pueden dividir en dos grandes grupos:

Los contaminantes primarios se definen como los que proceden directamente de la fuente de emisión [compuestos orgánicos (HAP's), metales pesados, dióxido de azufre (SO₂), monóxido de carbono (CO), dióxido de nitrógeno (NO₂), entre otros]. Los secundarios son aquellos que se producen como consecuencia de las transformaciones y reacciones químicas y físicas que sufren los contaminantes primarios en la atmósfera, por ejemplo: el ozono (O₃), metano, ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido nítrico (HNO₃), entre otros (Ballester, 2005).

2. Contaminación en la Ciudad de México (CDMX)

A pesar de que en la CDMX y área metropolitana se han hecho diversos esfuerzos para lograr una mejor calidad del aire y por consiguiente aumentar la esperanza de vida, en los últimos años las concentraciones de partículas menores a 10 µm (PM₁₀) y 2.5 µm (PM_{2.5}) continúan superado los niveles límites recomendados por la protección de salud pública (SEDEMA, 2018).

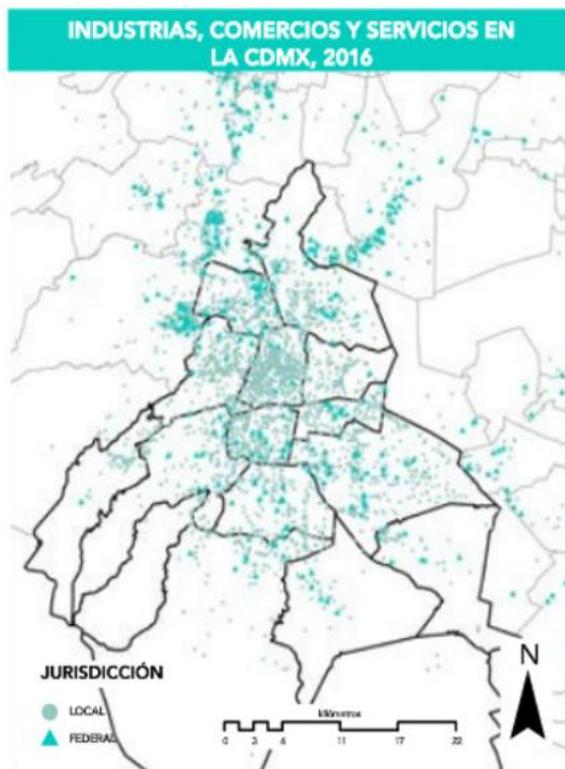


Figura 1. Se muestran las industrias, comercios y servicios encontrados en la CDMX. Imagen obtenida de SEDEMA (2016) el 12 de enero 2018.

Dividida en norte, sur, este y oeste, cada zona de la CDMX contribuye con diferente tráfico vehicular e industrialización. Transportes considerados particulares forman parte del 83% del total, mientras que el resto son de carga y servicio público (INEGI, 2016). Según SEDEMA (2016) existen más de 32,000 industrias en la CDMX (**Figura 1**), considerándose con mayor concentración industrial los municipios de Iztapalapa, Azcapotzalco y Gustavo A. Madero. Convirtiendo la zona norte y parte de la zona central en sitios altamente industrializados.

Es claro que se requieren mejoras en la calidad de la gasolina, ya que es cuestionable en relación con los estándares internacionales (Soto-Coloballes, 2017). Asimismo, parte de la alta emisión es derivada del desgaste de frenos y ruedas del parque vehicular, el cual ha causado los altos niveles de metales como cobre, antimonio, estaño, manganeso, zinc y bario (Querol, 2008).

3. Material particulado (PM)

El material particulado es una mezcla de partículas líquidas y sólidas suspendidas en el aire (USEPA, 2017), que poseen una diversidad de propiedades físicas (densidad, dimensión, forma) y composición química.

La fracción inhalable incluye partículas con un diámetro menor a 10 μm (PM₁₀) y menor a 2.5 μm (PM_{2.5}), es decir, solo las partículas menores a 10 μm son capaces de ingresar al sistema respiratorio. Estas partículas incluyen MP y HAP's. El material particulado menor a 2.5 μm , representa una mezcla compleja que puede contener compuestos tanto de origen natural como del producto de las actividades antropogénicas (Miguel-Pérez et al., 2013). Se ha descrito que conforme disminuye el tamaño de partícula aumenta su toxicidad, esto se debe a que las más pequeñas son capaces de penetrar más profundamente en las vías respiratorias y una vez dentro, éstas son capaces de acumularse en diferentes sitios (Rosales-Castillo et al., 2001).

Los efectos del material particulado en la salud humana están estrechamente relacionados con el tiempo de exposición (a corto o largo plazo), además va a depender del tamaño de las partículas (Di Palma et al., 2017). Estas partículas pueden causar estrés oxidante, apoptosis y citotoxicidad (Lag et al., 2016). Asimismo, se han realizado estudios con tejidos vegetales en donde se menciona que los metales presentes en las partículas afectan procesos tanto bioquímicos como físicos de las plantas (Prieto et al., 2009).

3.1 Metales pesados (MP)

El término "metales pesados" se refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una relativa alta densidad y sea tóxico o venenoso para la célula (Prieto et al., 2009). Dentro de este grupo existen otros elementos que, aunque son metales ligeros o no metales, se suelen englobar con ellos por su origen y comportamiento asociados; por ejemplo: As, B, Ba y Se (Navarro-Aviñó et al., 2007).

Estos contaminantes forman parte del material particulado existente en la atmósfera, originados de procesos de origen biogénico y antropogénico; se pueden acumular principalmente por inhalación e ingestión (Yuanyuan et al., 2014). Son importantes en los estudios nutricionales, fisiológicos y toxicológicos, puesto que actúan en las actividades enzimáticas, ya sea activándolas o bloqueándolas gracias a que compiten por los sitios activos de las enzimas (Boada et al., 2007).

La toxicidad de los MP depende de varios factores, entre ellos el tipo de exposición, la concentración, la forma química, el tiempo y la vía de absorción (Navarro-Aviñó et al., 2007; Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). Poseen una gran toxicidad, debido a la elevada tendencia a bioacumularse, además de una gran capacidad para unirse con moléculas orgánicas.

Los efectos ocasionados por los metales a nivel celular son muy diversos. Pueden causar alteraciones sobre el material genético de manera directa e indirecta, algunos como lo son el arsénico, cadmio, cobalto, cromo, cobre y níquel han sido relacionado con mecanismos que conducen a la carcinogenicidad (Hernández-Franco et al., 2009). Incluso se ha detectado que dañan específicamente sistemas completos, por ejemplo, el cadmio, plomo y arsénico afectan principalmente el sistema nervioso (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011).

Inducen daño a través de mecanismos similares: por unión a enzimas y sustitución de otros elementos (reacciones bioquímicas). Algunos pueden disminuir el funcionamiento de enzimas antioxidantes ocasionando incremento en el estrés oxidante celular (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). El estrés oxidante puede causar daño sobre el ADN, que redundará en: mutaciones, aberraciones cromosómicas, alteraciones en la síntesis y reparación de ácidos nucleicos (Navarro-Aviñó et al., 2007; Hernández-Franco et al., 2009). Los efectos de éstos pueden resultar muy ambiguos, dependiendo del sistema de prueba, del metal, del tiempo de exposición y de la concentración (Hernández-Franco et al., 2009); destacándose por su alta toxicidad y siendo los más estudiados el plomo, cadmio y arsénico (Ruíz Huerta y Armienta Hernández, 2012).

A continuación, se describirán los daños que causan algunos MP, así como otros datos de interés:

a) Aluminio (Al)

Es el elemento metálico más abundante en la corteza terrestre (Carreño y Chaparro-Giraldo, 2013). En varios estudios se ha observado que tiene efecto altamente mutagénico (en comparación a otros metales), además se ha visto que incrementa el riesgo de padecer desórdenes patogénicos como Alzheimer o Pákinson (Lima et al., 2011; Annangi et al., 2016).

Cuando el Al entra a la célula puede reaccionar junto con el hierro (Fe), y combinados generar especies reactivas de oxígeno (EROs) (Lima et al., 2011). Asimismo, a nivel celular puede causar disfunción mitocondrial, inhibición de la respiración celular y disminución del adenosin trifosfato (ATP) (Carreño y Chaparro-Giraldo, 2013).

b) Plomo (Pb)

Las principales vías de ingreso son la ingesta de comida y a través del aire (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). Este metal tiene la mayor adsorción extracelular, es decir, que tiene la mayor afinidad con grupos carboxilos en la membrana celular de todos los MP, casi de un 100% (Renaudin et al., 2018). La absorción es lenta, por lo tanto, la excreción lo es más, de manera que tiende a acumularse.

El Pb suele ingresar en el metabolismo del Ca para sustituirlo y dañar la célula (Navarro-Aviñó et al., 2007). Este metal se almacena principalmente en la mitocondria produciendo daños en su metabolismo energético (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). En plantas el plomo reduce la producción de clorofila (Franco-Hernández et al. 2010).

c) Arsénico (As)

Las principales rutas de exposición del arsénico son las vías oral y respiratoria; el contacto con este contaminante está dada por fábricas de artículos electrónicos, elaboración de pesticidas, entre otros (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011).

El As ha sido considerado como un carcinógeno, principalmente relacionado con cáncer de esófago, laringe, pulmón, riñón, vesícula y piel (ATSDR, 2007; Navarro-Aviñó et al., 2007); Sus metabolitos actúan por diferentes mecanismos, por ejemplo: el arseniato tiene una estructura similar al fosfato inorgánico de tal forma que compite con él en la producción de adenosín trifosfato (ATP) (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011), afectando la fosforilación oxidante; el arsenito, interactúa con los grupos tioles, bloqueando directamente los grupos sulfhidrilos de proteínas y enzimas, también se une a las proteínas de membranas de organelos, disminuyendo la señalización intracelular (Albores et al., 1997).

El arsénico es uno de los metales más estudiados, ya que es capaz de inducir la generación de especies reactivas de oxígeno (EROs), aunque todavía no es muy claro cuáles son los mecanismos (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). En plantas el arsénico interfiere con el proceso metabólico y disminuye la germinación de las semillas (Franco-Hernández et al., 2010).

d) Vanadio (V)

Las fuentes de emisión pueden ser la industria, la quema de material fósil, así como el uso de fertilizantes y pesticidas, ya que forma parte de la composición de algunos de éstos. Es usado para la producción de aleaciones metálicas, fabricación de baterías (Annangi et al., 2016), etc. La vía de exposición es por inhalación o por ingesta.

La IARC (2006) lo ha catalogado como posible carcinogénico. Estudios *in vitro* en células humanas muestran daños en el DNA (rupturas), causando

formación de aberraciones cromosómicas, aneuploidías y micronucleos (Rodríguez-Mercado et al., 2011). A nivel celular puede causar estrés oxidante, inhibición en la reparación del DNA e interferencia en la actividad de proteínas y cinasas (Annangi et al., 2016).

e) Cromo (Cr)

Este metal se puede encontrar en el aire, suelo y agua de manera natural o de procesos industriales químicos (metalúrgicas, refinerías e industrias químicas) (Annangi et al., 2016). La vía de exposición más común es la respiratoria.

Su toxicidad depende del estado de valencia; su estado hexavalente es considerado el más tóxico. Se ha registrado como posible carcinógeno (Carretero, 2005). A nivel celular se ha demostrado su acción como compuesto genotóxico: causando rupturas de hebras de DNA y aductos cromo-DNA, entre otros (Annangi et al., 2006), además de generar EROs provocando estrés oxidante.

f) Cadmio (Cd)

Las fuentes de contaminación pueden ser naturales y antropogénicas, dentro de estas últimas se incluyen emisiones industriales (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). La principal exposición es por vía respiratoria. Siendo una de las más importantes fuentes de emisión el humo de cigarro; la exposición e inhalación del humo de cigarro en fumadores activos y pasivos es considerado altamente peligroso ya que, se absorbe fácilmente en los pulmones (Saldívar et al., 1991; Carretero, 2005; Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011). El pulmón es un órgano muy susceptible a la exposición a cadmio, la inhalación crónica, puede producir bronquitis con daño progresivo alveolar, fibrosis y enfisema (Ramírez, 2002).

A nivel molecular el cadmio es un conocido bloqueador del calcio en la membrana plasmática. Se sabe que desplaza al calcio en determinadas proteínas además de causar estrés oxidante (Navarro-Aviñó et al., 2007). El resultado de todo esto puede ser un daño importante en el ADN y en los lípidos.

g) Antimonio (Sb)

Sus fuentes de emisión son la industria y fabricación de productos químicos, así como en el tabaco. Las vías de exposición pueden ser 3: inhalación, ingestión y cutánea. Siendo la más importante la vía respiratoria por las partículas presentes en el aire (Nordberg, 1998).

Por sus propiedades químicas y metabólicas, se comporta muy parecido al arsénico. Puede inhibir enzimas, alterar el metabolismo de proteínas y de carbohidratos. Afecta seriamente al pulmón (fibrosis), puede generar alteraciones cardíacas y muerte (Nordberg, 1998).

h) Hierro (Fe)

Este metal es fundamental en el metabolismo de casi todos los seres vivos, por ejemplo, es esencial en las reacciones redox y el transporte de oxígeno por proteínas (Lima et al., 2011). Sin embargo, en grandes cantidades dentro del organismo puede ser tóxico en el tejido nervioso, generando desórdenes neurológicos.

La presencia simultánea (mezcla) de MP, puede tener efectos tóxicos tanto sinérgicos (la toxicidad aumenta al mezclarse) como antagónicos (la toxicidad se reduce al mezclarse); por tanto, existe cierta dificultad para predecir los efectos reales (Navarro-Aviñó et al., 2007).

3.2 Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's)

Estos compuestos forman parte del material particulado existente en la atmósfera, que naturalmente, proviene de la combustión incompleta de incendios en bosques (combustión incompleta de madera), etc. Adicionalmente, las actividades antropogénicas generan un aumento en estas partículas, que pueden originarse por la combustión incompleta de gasolinas en los vehículos, extracción de minerales, emisiones industriales, humo de cigarro, entre otras (Mancuiulea y Dumitrescu, 2017). Se caracterizan por ser compuestos orgánicos con dos o más anillos de benceno fusionados (Vives et al., 2001). Sus propiedades fisicoquímicas incluyen baja solubilidad en agua y el ser altamente lipofílicos (Huang et al., 2018), además de ser inestables fotoquímicamente (Vives et al., 2001). Las vías de exposición más conocidas son inhalación, ingestión y vía cutánea.

Presentan un problema a nivel salud ya que se ha demostrado su acción carcinogénica y mutagénica. Se ha demostrado que la genotoxicidad de estos contaminantes depende en gran medida de su estructura, es decir del tamaño y la composición de las partículas (Vives et al., 2001; Amador-Muñoz et al., 2010; Mancuiulea y Dumitrescu, 2017). La distribución y la concentración de éstos depende principalmente de los factores ambientales, por ejemplo, cuando la temperatura aumenta, la concentración de estos contaminantes incrementa; sin embargo, se ha visto que los HAP's se acumulan con mayor facilidad en la época de invierno (Huang et al., 2018), añadiendo a esto las actividades antropogénicas que varían dependiendo de la temporada (Amador-Muñoz et al., 2010).

En el estudio realizado por Amador-Muñoz et al. (2010) se menciona que la IARC y la Agencia de Protección Ambiental de los EUA (US-EPA), cataloga a 16 hidrocarburos como contaminantes prioritarios; de los cuales, 7 son considerados probables carcinógenos: benzo(a)antraceno (BaA), criseno (CHR), benzo(a)pireno (BaP), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(k)fluoranteno (BkF), dibenzo(a,h)antraceno (DBahA), indeno(123-cd)pireno (I123cdP). Entre los más peligrosos están aquellos que derivan del antraceno (presente en el alquitrán de hulla, en el humo del cigarro, en procesos de combustión de gas en las fábricas),

como el benzo [a] pireno, 6-, 7-, 8- y 12-metilbenzo(a)antraceno y algunos de sus derivados metilados (Caballero López y Alvarado Díaz, 2006). La exposición prolongada puede causar irritación en las vías aéreas. Se ha demostrado que los HAP's son previamente activados en el organismo antes de ejercer su efecto genotóxico (Vives et al., 2001; Caballero López y Alvarado Díaz 2006).

Para monitorear este tipo de contaminante se han utilizado plantas ya que son excelentes acumuladores de materia orgánica. Los HAP's se absorben por los estomas de la planta (Huang et al., 2018). Se pueden considerar dos mecanismos de acumulación: la adsorción y la absorción, esto dependerá de las fases de los HAP's lo que decidirá si éstos se van a absorber o se quedaran en la superficie. La adsorción es considerada un paso reversible, esto ocurre cuando los HAP's con cuatro o más anillos que pertenecen a la fase particulada, son añadidos por deposición seca (Huang et al. 2018). Son acumulados en la superficie de la planta, ayudados por las ceras presentes en ella. La absorción ocurre cuando estas partículas se introducen en las células de la planta por el intercambio de gases con la atmósfera. La fase vaporosa de HAP es absorbida por las estomas, se acumulan en las plantas por depósito seco o húmedo (Huang et al. 2018) y son almacenados en vacuolas dentro de las células.

4. Musgos (*Hypnum amabile*)

Los musgos son briophytas que se encuentran presentes en la mayoría de los ecosistemas terrestres (Zepeda-Gómez et al., 2014) y por ello su distribución es amplia, asimismo son organismos que logran soportar largos periodos de desecación (Vargas, 2011).

En particular *Hypnum amabile*, puede crecer sobre rocas, suelo o humus, en lugares expuestos o sombreados y secos, húmedos o mojados, a una altitud de 2650-3040 msnm, está principalmente distribuido en el Estado de México, Puebla y Tlaxcala (Cárdenas, 1999, Delgadillo-Moya, 2014).

Se ha comenzado a usar como biomonitor (Zechmeister et al., 2007); de hecho, son considerados excelentes, ya que obtienen la mayoría de sus nutrientes de precipitación y del depósito seco de partículas del aire (Berg y Steinnes, 1997; Fernández et al. 1999). Sus características (carecen de cutícula, sistema vascular y radicular bien desarrollados) son perfectas para capturar y absorber contaminantes atmosféricos como son los MP y los HAP's; ya que, así es como absorben la mayor parte de los nutrientes necesarios para su desarrollo (Fernández et al., 1999). Se ha considerado como una alternativa para monitorear cualitativamente y cuantitativamente el depósito de PM (Di Palma et al., 2017). Además, su lento ritmo de crecimiento supone una acumulación de contaminantes.

Bioacumulador

La bioacumulación se define como el aumento de la concentración de un agente químico en un organismo biológico en un cierto plazo, de forma que llega a ser superior a la encontrada en el ambiente (Soto-Coloballes, 2017; Navarro-Aviñó et al., 2007).

La eficiencia del musgo como bioacumulador proviene de su capacidad de intercambio catiónico, el cual se debe a la carga negativa de los constituyentes en las paredes de la célula (en su mayoría grupos ácidos carboxílicos) que pueden establecer enlaces iónicos con elementos catiónicos en forma soluble, la ausencia de la cutícula permite el acceso directo de los cationes a estos puntos de intercambio iónico (Fernández et al., 1999). Los elementos se pueden retener en espacios intracelulares o en superficies irregulares (Bedregal et al., 2009).

Los musgos tienen una elevada superficie específica, lo que les dota de una alta capacidad de retención de partículas (Fernández et al., 1999). Los HAP's adheridos a partículas son absorbidos de la misma forma que los MP (Huang et al., 2018), sin embargo, muestran una tendencia a acumular HAP's con un alto peso molecular. Asimismo, en condiciones naturales los musgos acumulan principalmente metales como: Al, Ni, Ca, Cr y Ni o Fe, Mn, Ti (Klos et

al., 2011). Son capaces de absorber y retener MP por precipitación y depósito seco (Berg y Steinnes, 1997). La bioacumulación es afectada por las características químicas de los compuestos, además de su afinidad a las estructuras de absorción de los musgos (Klos et al., 2011). Se ha descrito que existen diferencias tanto regionales como de tiempo en el depósito de MP (Berg y Steinnes, 1997).

5. Células epiteliales bronquiales humanas NL-20

Las células NL-20 son una línea celular bronquial epitelial, la cual es una línea inmortalizada (continua/tumoral). Se le insertó una secuencia de replicación por transfección (SVG40), con la finalidad de seguir manteniendo al máximo sus propiedades fisiológicas, bioquímicas y genéticas en más cultivos sucesivos de los que soportaría la línea celular primaria. Esta línea fue creada para tolerar 138 pases por expansión, sin cambiar su morfología y funciones (Segretín, 2007).

Han sido utilizadas para ensayos *in vitro*, ya que incluyen beneficios como rápido crecimiento en grandes cantidades, (Escobar et al., 2010). Estos estudios incluyen agentes que puedan estar provocando alteraciones en el DNA (rompimiento de cadena), como en el trabajo de Arteaga-Gómez et al. (2016) donde, evaluaron el efecto que causan los insecticidas organofosforados en el DNA, con ayuda del ensayo cometa. Asimismo, se han realizado estudios para modelar el daño causado por la contaminación del aire, usando filtros sintéticos (Miguel-Pérez et al., 2013).

6. Evaluación del daño genotóxico (genotoxicidad).

Existen diferentes técnicas para evaluar el daño genotóxico causado por diferentes agentes (químicos, físicos y biológicos), las cuales proporcionan facilidades a los investigadores para determinar tanto agentes genotóxicos como antígenotóxicos. Algunos ejemplos de éstas son: la prueba de micronúcleos, el ensayo de Ames,

aberraciones cromosómicas, hibridación fluorescente *in situ* (FISH) y el ensayo cometa o electroforesis unicelular (Zalacain et al., 2005; Villasana, 2008; Cuenca y Ramírez, 2004).

Ensayo cometa

La técnica de electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa), es utilizada para detectar daño en el DNA en células individuales. Se ha vuelto una metodología usada en el biomonitorio de exposición a agentes genotóxicos (Ayala et al., 2004; Collins et al., 2014). Asimismo, se ha aplicado en estudios de epidemiología molecular y ecotoxicología (Rodríguez-Rey et al., 2016).

Ostling y Johanson (1984) introdujeron la técnica de electroforesis unicelular utilizando un pH neutro la cual detectaba rompimientos de cadena doble, sin embargo, con el paso del tiempo ha sufrido modificaciones que permiten detectar diferentes tipos de daño en el DNA (Rodríguez-Rey et al., 2016). Singh et al. (1988) la modificaron para realizarla en condiciones alcalinas, para permitir detectar rupturas de cadena simple y sitios sensibles al álcali que se originan durante la reparación por escisión de bases y de nucleótidos (Ayala et al., 2004).

La técnica consiste en el aislamiento de las células que fueron expuestas previamente, las cuales son embebidas en agarosa para someterlas a una solución de lisis que contiene sales y detergentes. Se obtienen los núcleos los cuales se someten a una electroforesis alcalina (Rodríguez-Rey et al., 2016), permitiendo el rompimiento de puentes de hidrógeno entre los pares de bases. Los grupos fosfato al tener una carga negativa van a permitir su migración hacia el ánodo, si es que existe daño. Cuando las laminillas son observadas, se presenta algo semejante a un cometa, en donde, el centro pertenece al DNA no dañado y la cauda es DNA fragmentado, es decir la cantidad de DNA que migra hacia el ánodo es el daño resultante del agente al que se expuso (Rodríguez-Rey et al., 2016).

Para el análisis del daño genotóxico, se usan los siguientes parámetros (Kumaravel et al., 2009):

- Intensidad de la cabeza (%). Se refiere a la intensidad de la cabeza expresada como porcentaje de la intensidad total del cometa.
- Tamaño de la cabeza. Definido como la distancia horizontal entre el comienzo de la cabeza al final de ella.
- Intensidad de la cauda (%). Se expresa como un porcentaje de la intensidad total del cometa.
- Tamaño de la cauda. Es la distancia horizontal del centro de la cabeza (inicio de la cauda) al final de la cauda.
- Momento de la cauda Olive (OTM). Este parámetro fue calculado por Olive et al. (1990), incluye variaciones de la distribución del DNA en la cauda. Se ha visto que tanto este parámetro como el % de DNA en la cauda muestran excelentes correlaciones con el daño causado por agentes genotóxicos, sin embargo, el OTM es considerada la medida estadísticamente más significativa (Kumaravel y Jha, 2006). En concreto se refiere al producto de dos factores: el porcentaje de la intensidad de la cauda y la distancia entre el centro de la cabeza y la cauda del cometa (Kumaravel et al., 2009).

Esta técnica ha sido muy utilizada por sus diferentes ventajas (Rojas et al., 1999; Rodríguez-Rey et al., 2016):

- Sensibilidad al daño del DNA.
- La rápida obtención de resultados.
- Es de relativamente bajo costo.
- Puede usarse en diferentes tipos de células eucariontes.

III. JUSTIFICACIÓN

En la ciudad de México ha habido un incremento en la contaminación del aire, provocado principalmente por material particulado (PM) (Machado et al., 2008). Los MP y HAP's que forman parte de la fracción inhalable (PM₁₀ y PM_{2.5}) pueden provocar daño en el sistema respiratorio (SEDEMA, 2015), ocasionando ataques de asma, bronquitis crónica y susceptibilidad a infecciones respiratorias, también pueden causar arritmias, ataques de corazón y afectar al sistema nervioso central (Lima et al., 2011). Asimismo, pueden provocar daños en el sistema reproductivo e incluso causar cáncer propiciando muerte prematura (Cruz-Campas et al., 2013; Annangi et al., 2016).

La distribución, la concentración y la composición de estos contaminantes depende principalmente de los factores meteorológicos y las fuentes de emisión. Durante el año hay épocas en las cuales las concentraciones de partículas aumentan (SEDEMA, 2015), en parte provocado por las actividades antropogénicas que varían dependiendo de la temporada (Villalobos-Pietrini et al. 2006, Amador-Muñoz et al., 2010).

Por lo que es importante detectar el daño genotóxico que provocan los contaminantes acumulados por el musgo *Hypnum amabile* en sistemas como la línea celular bronquial NL-20, mediante la exposición a los extractos obtenidos del mismo. La mayoría de estos contaminantes tienen interacción directa con el DNA, por lo que se puede medir su genotoxicidad a través del ensayo cometa. Añadiendo a estos resultados, técnicas como la espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas que aportan datos, que pueden contribuir a obtener conclusiones importantes.

IV. HIPÓTESIS

Si los musgos expuestos en 5 sitios, acumulan diferentes contaminantes de la atmósfera, en su mayoría material particulado (MP y HAP's), entonces, se espera que dichos contaminantes actúen de manera diferencial en la inducción de daño genotóxico en las células NL-20, en la temporada de secas frías (noviembre, diciembre y enero) y secas calientes (febrero, marzo, abril) y de lluvias (mayo y junio) y que a su vez muestren daño diferencial con relación a los contaminantes adsorbidos y absorbidos por los musgos expuestos en las cinco estaciones de la Ciudad de México y zona metropolitana.

V. OBJETIVOS

1. General

Evaluación del efecto genotóxico en la línea celular NL-20 provocado por la acumulación de material particulado (adsorbido y absorbido) presente en extractos de musgo (*Hypnum amabile*) expuesto en cinco sitios de la Ciudad de México y zona metropolitana, correlacionándolo con el análisis químico de MP y HAP's.

2. Particulares

- Evaluar el daño genotóxico en la línea celular NL-20 provocado por el material particulado acumulado (adsorbido y absorbido) en el extracto mediante el ensayo cometa.
- Correlacionar el efecto genotóxico con los MP y HAP's encontrados (adsorbidos y absorbidos) por el método de espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) y por el método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, respectivamente.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Mantenimiento de musgos provenientes de Chignahuapan, Puebla.

Los especímenes fueron recolectados en el municipio de Chignahuapan en el estado de Puebla. Se transportaron en “tapetes” hasta el Centro de Ciencias de la Atmósfera para evitar que perdieran humedad. Se separaron en bolsas de malla y se mantuvieron durante una semana en una cámara de crecimiento con condiciones controladas para aclimatarlos (**Figura 2**).



Figura 2. Imagen de la bolsa de musgo antes de la exposición

Trascurrido este lapso se trasladaron a las 5 estaciones de monitoreo de la calidad del aire que integran el Sistema de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México y Área Metropolitana:

- 1 Coyoacán (Suroeste).
- 2 Iztapalapa (Sureste).
- 3 Merced, en la delegación Venustiano Carranza (centro).
- 4 San Agustín, en el municipio de Ecatepec de Morelos (Noreste).
- 5 Tlalnepantla, en el municipio Tlalnepantla de Baz (Noroeste).

Cada tercer día se regaron con ayuda de aspersores, para evitar pérdida de humedad. Se realizaron un total de 8 recolecciones cada una correspondiente a los meses de noviembre y diciembre del 2016; enero, febrero, marzo, abril, mayo y junio del 2017; añadiendo a éstos un grupo que no fue remplazado durante los 8 periodos y un testigo negativo que se conservó en condiciones controladas en el Centro de Ciencias de la Atmosfera (CCA). Cabe mencionar que cada periodo se recolectó y remplazó por bolsas que habían permanecido en la cámara de crecimiento en el CCA.

2. Obtención de extractos

Se hizo una separación previa del musgo y el sustrato para poder obtener únicamente los organismos de estudio. Se pesó un total de 20 g de musgo de cada estación. Se lavó la mitad (10 g) para eliminar contaminantes y partículas superficiales de los individuos, el resto no se lavó, ambos se almacenaron en un congelador, desde este paso fue importante cuidar que no se elevara la temperatura, para evitar la oxidación del extracto. Las muestras se homogeneizaron con ayuda de un mortero y un amortiguador de fosfatos de sodio (pH 7.4) en proporción 1/1 (peso/volumen). Con ayuda de un extractor se obtuvo la fase acuosa, se centrifugó a 11500 rpm durante 30 min a una temperatura de 4 °C, el sobrenadante se filtró en un campo estéril y se agregó en microtubos de 2 mL. Finalmente, fueron almacenados en un ultracongelador (REVCO) a una temperatura de -70 °C. Este procedimiento se realizó en cada periodo de muestreo.

3. Determinación de metales pesados con espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)

Usando 1 mL de los extractos obtenidos previamente se realizó el siguiente procedimiento: todas las mediciones se llevaron a cabo por el método espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente (por sus siglas en inglés ICP-MS), modelo iCAPQc de la marca ThermoScientific, en el Laboratorio ICP-MS del Instituto de Geofísica de la UNAM. El instrumento fue optimizado previamente al análisis de las muestras, con una solución certificada acuosa de la marca High PurityStandards (ICP-MS-B), la cual contiene un amplio intervalo de masas (Li, Co, In, Ba, Bi, Ce y U de 1 µg/L, respectivamente).

Para el análisis de metales, se realizó una curva de calibración con 16 puntos (0, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 25, 50, 75, 100, 250 y 500 µg L⁻¹), a partir de una solución "stock" multielemental (QCS-26).

Se utilizó un estándar interno de Indio (In de 10 µg/L). Los límites de detección se calcularon mediante la siguiente ecuación:

$$L.D. = \frac{3(SD \text{ int } BCO)(conc \text{ STD})}{(int \text{ STD} - prom \text{ int } BCO)}$$

Dónde:

SD int BCO – Desviación estándar de la intensidad del blanco

conc STD – Concentración de la solución estándar

int STD – Intensidad de la solución estándar

prom int BCO – Promedio de la intensidad del blanco

4. Determinación de HAP's en los musgos con cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Para la extracción de HAP en los musgos colectados, se llevaron a cabo tres extracciones: una de líquido-líquido para buscar HAP adsorbidos a la superficie de los musgos (musgos no lavados), una segunda extracción líquido-sólido de los musgos lavados para buscar HAP's absorbidos y una tercera extracción (líquido-sólido) del musgo completo. En todos los casos, se utilizaron 20.0 g de musgo fortificados con 16 HAP-d.

Para la primera extracción, se adicionaron 500 mL de agua a los musgos, se agitaron durante un minuto y se extrajeron con 25 mL de diclorometano en embudos de separación. Esto se repitió tres veces. El disolvente en exceso se eliminó en un rotaevaporador. El extracto orgánico se llevó a un volumen final de 1.0 mL.

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

5. Expansión y mantenimiento de línea celular NL-20

Toda esta experimentación se realizó en una campana de flujo laminar, en condiciones de esterilidad.

Expansión. Las células NL-20 que se utilizaron durante todas las exposiciones se descongelaron (1 mL) y se sembraron en un frasco para cultivo celular con 12 mL de medio HAM F-12 complementado (Tabla 1). Los cultivos se mantuvieron en una incubadora de CO₂ a 37 °C durante 24 horas ya que la adhesión al sustrato es indispensable para su proliferación.

Tabla 1. Medio HAM F-12 complementado. Para preparar 50 mL. Se lleva al volumen final con del Medio HAM F-12.

L-glutamina Mm	500 μ L
Aminoácidos no esenciales	500 μ L
Insulina	50 μ L
EGF 10 ng/mL	2 μ L
Hidrocortisona 500 ng/mL	4 μ L
Suero Fetal Bovino 10%	5 mL
Antibiótico	500 μ L

Transcurridas 24 horas se procedió a decantar el medio, se realizó un lavado con 3 mL de solución salina para eliminar los restos de medio que pudieran quedar en el cultivo. Para obtener las células individualmente, se agregaron 5 mL de solución salina y 500 μ L de tripsina-verseno, se incubaron durante 10 minutos, se dieron pequeños golpes al frasco para lograr un mejor resultado, ya que esto logra romper las interacciones de la matriz extracelular. Se decantaron en tubos de 15 mL y se centrifugaron durante 5 min a 2000 rpm. Concluido este tiempo, se desechó la fase acuosa y al botón obtenido se le agregó 1 mL de medio HAM F-12 complementado y se resuspendió (suspensión para el conteo); se trasplantó en un frasco para cultivo celular, agregando 500 μ L de la suspensión y 10 mL de medio HAM F-12 complementado. Este procedimiento se realizó para tener un cultivo constante.

6. Tratamientos con extractos

Conteo celular. Se hizo una alícuota en un tubo de 1.2 mL, a la cual se agregaron 40 μ L de medio más 10 μ L de suspensión (células con medio) y se resuspendió. Con ayuda de una cámara de Neubauer, se depositaron 10 μ L de la alícuota por ambos lados del cubreobjetos. Se contaron los 8 cuadrantes, y se calculó el número de células por mililitro dentro de la suspensión inicial.

Las células fueron cultivadas en placas de 96 pozos (16,000 células/pozo), con un volumen final de 100 μ L. Trascurridas 24 horas de adhesión/proliferación, las células fueron tratadas realizando 3 repeticiones de cada una, con las siguientes

condiciones por periodo: testigo negativo (células sin tratamiento, únicamente se les cambió el medio, por nuevo), periodo X musgo lavado (5 estaciones) (células tratadas en un volumen final de 100 μ L de medio al 10 % del extracto de los musgos lavados), periodo X seco (5 estaciones) (células tratadas en un volumen final de 100 μ L al 10 % del extracto de los musgos sin lavar); donde -periodo X- corresponde a cada mes de exposición y acumulado. A las 24 horas de tratamiento se procedió a despegar las células y hacer el análisis de electroforesis unicelular alcalina.

Despegado de las células de las placas. Se retiró el medio con el tratamiento con ayuda de una micropipeta. A cada pozo se le agregaron 100 μ L de una mezcla de tripsina y solución salina 1 a 9, se incubó durante 10 min. Trascurrido el tiempo se dieron pequeños golpecitos a la placa y se retiró el triplicado con mucho cuidado en un tubo de 1200 μ L, llevándolo a un volumen final de 300 μ L (tres pozos de la estación/periodo), se centrifugaron durante 5 minutos a 1500 rpm. Se retiró el sobrenadante y el botón se resuspendió en 300 μ L de medio.

7. Evaluación del daño genotóxico por la técnica de electroforesis unicelular alcalina en la línea celular NL-20

7.1. Aislamiento de núcleos

Se centrifugan los tubos con células y medio, durante 5 minutos a 2000 rpm. Durante el procedimiento, todos los tubos deben permanecer a una temperatura de 37 °C (incluyendo los tubos de las agarosas), esto se logró con un baño de agua controlando la temperatura. En todos los experimentos se realizaron testigos positivos de sangre y de las células NL-20, para asegurar que las condiciones durante el experimento fueran las correctas. Se retiró el sobrenadante, aproximadamente 240 μ L y se resuspendió el botón con el resto de medio. Se comenzó mezclando 10 μ L de la suspensión celular con 75 μ L de agarosa de bajo punto de fusión, se colocó en un cubreobjetos y se empalmó un portaobjetos precubierto con agarosa de punto de fusión normal, se colocaron en una charola fría para que solidificara la agarosa. Se retiró el cubreobjetos y se colocó otra capa

de agarosa (75 μ L). Ya solidificada la última capa, se retiró el cubreobjetos y las laminillas se introdujeron en solución de lisis (NaCl 2.5 M, EDTA 100mM, Tris 10mM, pH 10, DMSO 10% y Tritón X-100 1%) fría durante 1 hora (desde este momento se trabajó en oscuridad).

7.2. Electroforesis

Posteriormente, las preparaciones se acomodaron en una cámara de electroforesis con amortiguador de electroforesis frío (NaOH 10N, EDTA 200 mM y pH >13) y se dejó reposar por 18 minutos para inducir la desnaturalización del DNA. Finalizado este lapso se inició la electroforesis a 25 Volts y 300 mA durante 20 min a 4 °C. Para retirar el exceso de alcalinidad se utilizó un amortiguador neutro [TRIS 4M, pH=7.5], dando 3 lavados durante 5 min. Por último, se fijaron y deshidrataron con etanol al 100% frío en una caja Coplin por 15 minutos y se dejaron secar al aire.

7.3. Tinción

Las laminillas se tiñeron con 50 μ L de bromuro de etidio 1X (2 μ g/ml). Se colocaron en una caja humedecida con agua desionizada estéril y cubierta con papel aluminio para evitar que la fluorescencia del colorante decayera.

7.4. Observación

Los núcleos fueron observados en un microscopio de fluorescencia Axiostar (Zeiss) bajo un objetivo de 20X (**Figura 3**). Se analizaron 50 núcleos de 3 preparaciones por grupo, utilizando el programa Comet Assay IV. Se consideró el parámetro del momento de la cauda, ya que toma en cuenta tanto la longitud como la intensidad de la cauda del cometa, que es la cantidad de DNA fragmentado por el efecto genotóxico. Se utilizó este parámetro ya que se ha descrito como un buen indicador de daño genotóxico según Sunjog et al. (2013).

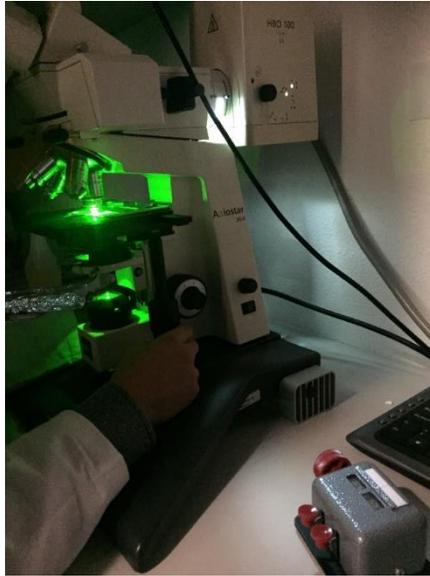


Figura 3. Observación de una laminilla con el microscopio de fluorescencia Axiostar (Zeiss).

8. Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se compararon las medias del momento de la cauda obtenidas en las distintas condiciones experimentales con respecto al testigo, utilizando una prueba de ANOVA (análisis de varianza) de una vía en el programa Statistica 8.0 Stat Soft, Inc. Tras encontrar diferencias significativas, se aplicó una prueba post hoc de Tukey con un 95% de confianza ($p < 0.05$) para lograr identificar las diferencias significativas entre los grupos.

Asimismo, se realizó una regresión múltiple ($p < 0.05$) para determinar si existe correlación entre los MP y los HAP's con el momento de la cauda usando el programa Statistica 8.0 Stat. Soft. Inc. (Anexo 3).

VII. RESULTADOS

Extractos

En el caso específico de la obtención de extractos, se identificaron cambios en la coloración; en las condiciones de musgo lavado y sin lavar (**Figura 4**).

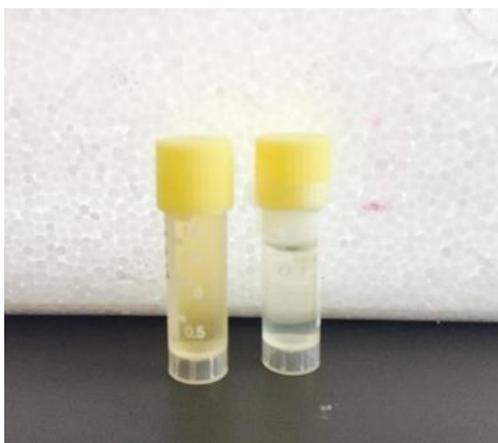


Figura 4. Extractos de musgo sin lavar (izquierda) y lavado (derecha).

Determinación de metales pesados

La ICP-MS utilizada permitió determinar la concentración de 14 MP (Al, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Cd, Sb y Pb) presentes en los extractos obtenidos de los musgos expuestos en las diferentes zonas de monitoreo (Anexo 1).

Determinación de HAP's

Por medio de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se logró identificar la presencia de 36 HAP's (naftaleno (NA), acenaftileno (ACL), acenafteno (AC), fluoreno (FL), fenantreno (PHE), antraceno (AN), 2-metilantraceno

(2-MAN), 1-metilantraceno (1-MAN), 4,5-metilenfenantreno, 9-metilantraceno (9-MAN), 3,6-dimetilfenantreno (DMPH), fluoranteno (FA), 9,10-dimetilantraceno (DMAN), pireno (PY), reteno, tripticeno, benzo[a]fluoreno (BaFL), benzo[a]antraceno (BaA), trifenileno (TRI), criseno (CHR), ciclopenta[c,d]pireno (CPP), 5-metilcriseno (5-MCH), 7,12-dimetilbenzo[a]antraceno (DMBA), benzo[b]fluoranteno (BbFA), benzo[k]fluoranteno (BkFA), benzo[j]fluoranteno (BjFA), dibenzo[a,e]pireno (DBaeP), benzo[e]pireno (BeP), benzo[a]pireno (BaP), perileno (PE), dibenzo[a,h]pireno (DBahP), coroneno (COR), dibenzo[a,h]antraceno (DBahA), indeno[1,2,3-cd]pireno (IP), dibenzo[a,c]antraceno (DBacA), dibenzo[a,l]pireno (DBalP), benzo[ghi]perileno (BguiP)). Las concentraciones de cada HAP son presentadas en el Anexo 2.

Con la finalidad de simplificar las concentraciones obtenidas de metales e hidrocarburos, se realizó una tabla (ver Anexo 4) en la que se muestran las concentraciones más altas encontradas en las zonas con diferencias significativas arrojadas por el programa Statistica 8.0 de los extractos lavados y sin lavar.

Genotoxicidad en NL-20

De la observación de laminillas en el microscopio se obtuvo la **figura 5 y 6**, en ellas se pueden apreciar varios núcleos celulares. La imagen 5(A) muestra un núcleo intacto observado en el microscopio de fluorescencia; la 6(A) un núcleo dañado. Las mediciones realizadas por el programa Comet Assay IV son representadas en las imágenes B de ambas figuras; en ellas se puede observar el registro de dos núcleos, uno sin daño y otro con daño.

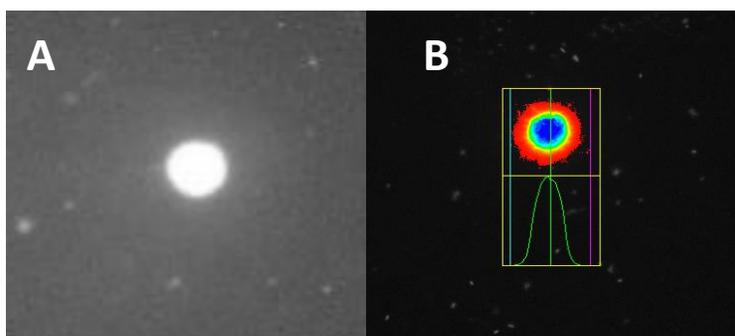


Figura 5. A) Núcleo sin daño. B) Núcleo sin daño marcado con el programa Comet Assay IV.

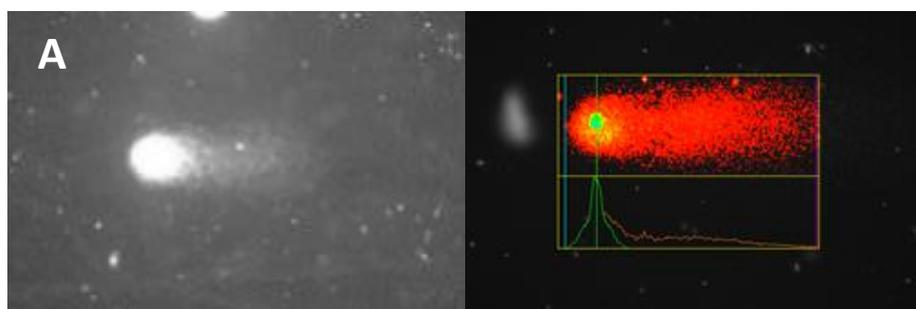


Figura 6. A) Núcleo con daño. B) Núcleo con daño marcado con el programa Comet Assay IV.

Los resultados de la genotoxicidad provocada por la exposición a los extractos de musgo por medio del ensayo cometa son presentados en las **Figuras 7 y 8**.

Como se muestra en éstas, durante la exposición del mes de noviembre, no hubo diferencias significativas en el momento de la cauda en ninguna estación, ni tratamiento (sin lavar y lavado).

En diciembre el daño genotóxico mostró diferencias significativas en los extractos de los musgos sin lavar en Coyoacán, San Agustín y Tlalnepantla (**Figura**

7); en Coyoacán y Tlalnepantla también se observaron diferencias en el tratamiento con extractos de musgo lavado (**Figura 8**).

Durante el mes de enero, en los tratamientos con los extractos de musgos sin lavar el momento de la cauda tuvo diferencias significativas en Coyoacán, Iztapalapa y San Agustín (**Figura 7**); con los extractos de musgos lavados fueron Coyoacán, San Agustín y Tlalnepantla (**Figura 8**).

Los resultados de febrero mostraron diferencias significativas en los extractos de musgos sin lavar en Coyoacán y San Agustín (con un aumento importante en el daño genético (**Figura 7**), solo los extractos de los musgos lavados de Tlalnepantla presentaron diferencias significativas, manteniéndose bastante constantes con el mes anterior (**Figura 8**).

Asimismo, en marzo se presentaron diferencias significativas con el tratamiento del extracto de musgo sin lavar en Coyoacán como se muestra en la **Figura 7**; en este mes las otras 4 zonas se mantuvieron cercanas al testigo. Mientras que, las zonas que presentaron diferencias significativas, en el tratamiento con los extractos de musgos lavados fueron San Agustín y Coyoacán (**Figura 8**).

Con el extracto de musgo sin lavar proveniente de Iztapalapa, en el mes de abril, se observaron diferencias significativas en el momento de la cauda (**Figura 7**); el extracto de musgo lavado proveniente de la Merced fue el que presentó diferencias significativas durante este mes.

En mayo se encontraron diferencias significativas en el daño causado por los extractos de musgos sin lavar de Coyoacán e Iztapalapa (**Figura 7**), mientras que en los tratamientos con los extractos de musgos lavados fueron Iztapalapa y San Agustín (**Figura 8**).

Los resultados obtenidos durante el mes de junio indicaron una diferencia significativa en el daño causado por los extractos de musgos sin lavar de Coyoacán; y en los tratamientos con los extractos de musgos lavados de Coyoacán, Iztapalapa, la Merced y San Agustín como se muestra en las **Figuras 7 y 8**, respectivamente.

El promedio del momento de la cauda en las células NL-20 provocado por el extracto de musgo acumulado mostró, diferencias significativas en el daño del DNA en Iztapalapa y Tlalnepantla con los extractos de musgos lavados; y únicamente en San Agustín en el tratamiento con los extractos de musgos sin lavar (**Figura 7 y 8**).

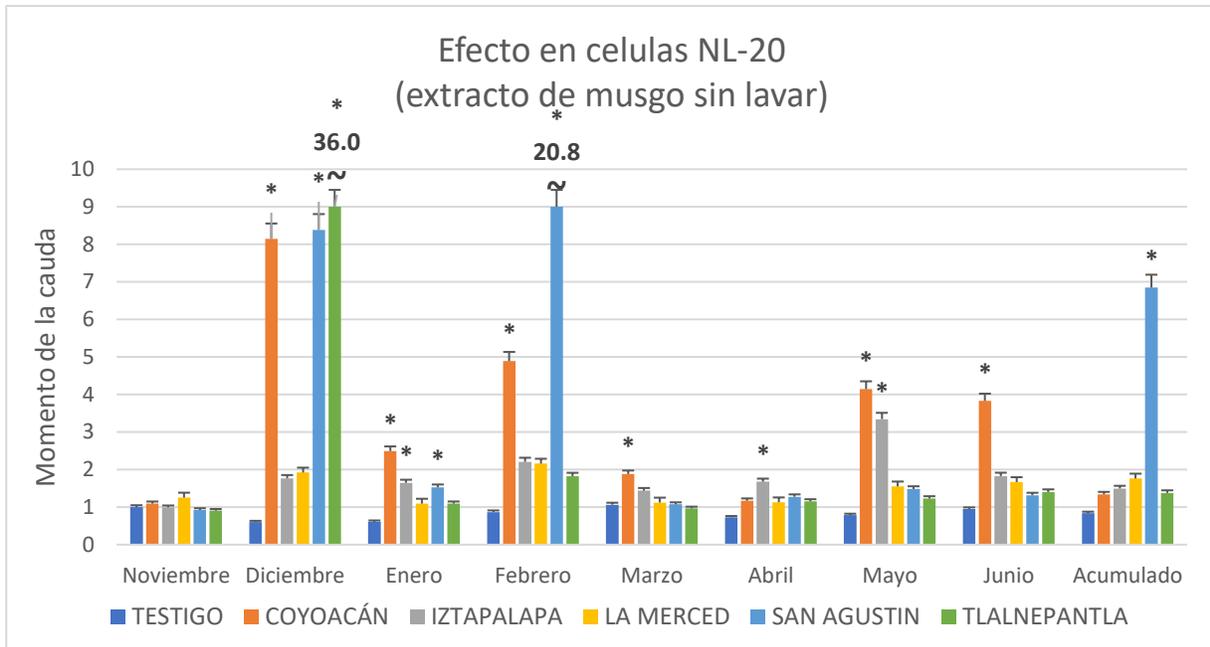


Figura 7. Promedios del momento de la cauda en las células NL-20 \pm error estándar, ocasionados por los extractos de musgo sin lavar; en 8 meses de exposición y acumulado (noviembre-junio). Testigo únicamente con medio. *Muestra las diferencias significativas entre zona y testigo, $p < 0.05$ ANOVA de una vía con prueba post hoc de Tukey.

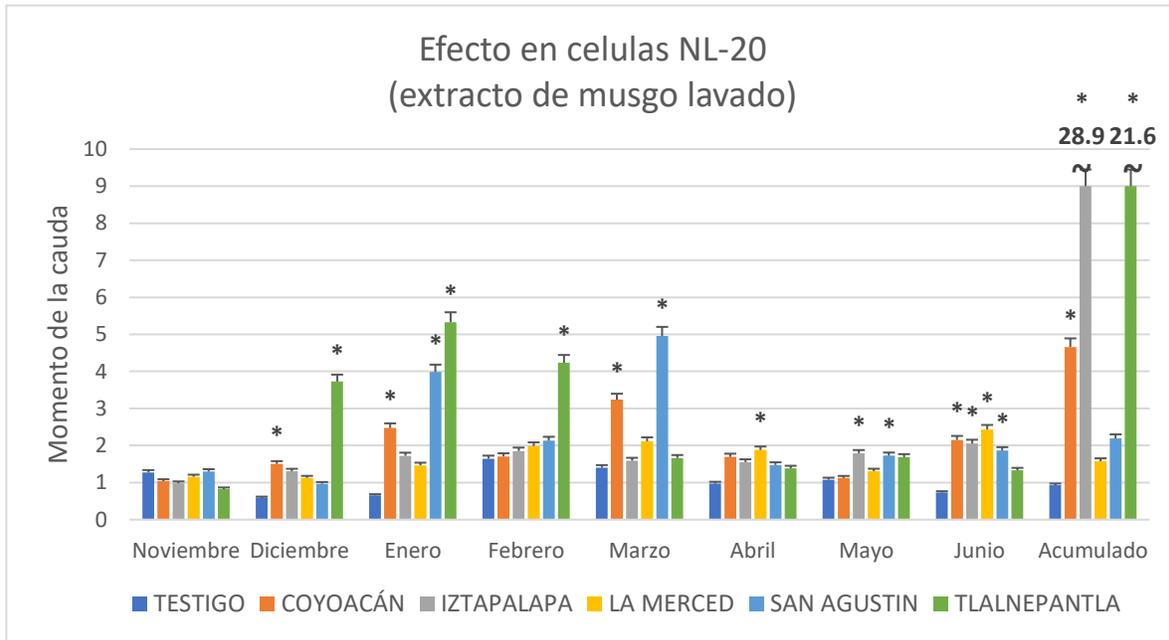


Figura 8. Promedios del momento de la cauda en las células NL-20 \pm error estándar, ocasionados por los extractos de musgo lavado; en 8 meses de exposición y acumulado (noviembre-junio). Testigo únicamente con medio. *Muestra las diferencias significativas entre zona y testigo, $p < 0.05$ ANOVA de una vía con prueba post hoc de Tukey.

Con el objetivo de obtener posibles correlaciones de las concentraciones de MP y HAP's con el promedio del daño genético encontrado en las células NL-20, se realizó una regresión múltiple; los resultados de esta, fueron integrados en las tablas 1 y 2 del Anexo 3. Estos resultados fueron utilizados para correlacionarse con las concentraciones más altas de los contaminantes en las zonas de exposición mostradas en el Anexo 4; esto, con el fin de realizar la discusión que se presenta a continuación.

VIII. DISCUSIÓN

Cada zona tiene características particulares con relación a las fuentes de emisión que hay en cada una de ellas.

El estudio realizado permitió la identificación de 35 HAP's; de los cuales 16 se encuentran ya catalogados de acuerdo a su carcinogenicidad según la IARC (2018). Asimismo, la determinación de metales permitió identificar 14; de los cuales 8 están catalogados de acuerdo a su carcinogenicidad según la IARC (2018) ver tabla 2.

Tabla 2. HAP's y MP, catalogados por la IARC (2018) y encontrados en los extractos de musgo, situados en sus respectivos grupos.

IARC (Grupo)	HAP's	Metales
1 (carcinogénico)	B[a]P	Al, As, Cr y Cd
2A (probable)	DB[a,h]A, CPP	-
2B (posible)	CHR, B[a]A, B[b]FA, I[1,2,3-cd]P, B[j]FA y NA, B[k]FA	V, Co, Ni y Pb
3 (no clasificable)	B[ghi]P, DB[a,e]P, PHE, AN, FA y PY	-

De los 35 HAP's determinados, los de mayor concentración, encontrados en las diferentes estaciones de monitoreo fueron: fenantreno, fluoranteno, pireno y acenafteno; señalando que, el musgo tiene afinidad por acumular estos HAP's. Específicamente el 9-Metilantraceno, únicamente se observó en los extractos de musgo sin lavar, lo que permitió inferir que este HAP solo se encuentra adsorbido en la especie de musgo utilizada.

Con respecto a los 14 metales encontrados, el Mn y Zn presentaron mayor concentración en las diferentes estaciones de monitoreo, indicando que, el musgo acumula fácilmente estos contaminantes.

El análisis estadístico realizado, mostró que la influencia de dibenzo{a,h}[a,c]antraceno, benzo[ghi]perieno (BghiP), fluoranteno (FA), pireno (PY), benzo[a]antraceno (BaA), criseno (CHR), trifenileno (TRI), benzo[e]pireno (BeP), perileno (PE) e indeno[1,2,3-cd]pireno (IP) contribuye de manera significativa en el daño genotóxico, en coincidencia con el estudio realizado por Villalobos-Pietrini et al. (2006) en donde se demostró que éstos, causan mutagenicidad en *Salmonella typhimurium*.

Particularmente, durante el mes de noviembre no hubo daño genotóxico significativo comparado con el testigo (**Figuras 7 y 8**), correlacionándose con los metales e hidrocarburos en baja concentración en este periodo. Este comportamiento se puede atribuir a que, los musgos no lograron acumular material particulado que pudiera causar daño al DNA, añadiendo a esto su capacidad de resistencia y reparación del mismo.

En los resultados obtenidos en el mes de diciembre se encontró benzo[a]antraceno (BaA) asociado con trifenileno (TRI) como posibles involucrados en el momento de la cauda (Anexo 3), resultado que concuerda con el obtenido por Caballero López y Alvarado Díaz (2006) los cuales consideran que el BaA se encuentra dentro de los 3 HAP's más potentes por su efecto carcinógeno, explicando así el daño generado en este mes. La concentración más alta se localizó en la zona norte (Tlanepantla) (Anexo 4), este resultado indica que el tipo de contaminación en esa zona, - tal como lo mencionan Caballero López y Alvarado Díaz (2006) los cuales encontraron que este HAP y sus derivados (ej. 7, 12-Dimetilbenzo[a]antraceno y Dibenzo[a,h]antraceno) - es generada principalmente por la combustión de gas en las fábricas.

En enero se observaron valores menores en el daño genético que en diciembre (**Figura 8**), lo que indica que durante este mes no hubo una acumulación de metales importante, sin embargo, existió acumulación suficiente de los HAP's fluoreno, fenantreno y antraceno (ver Anexo 3) que logro causar daño en el DNA; de acuerdo con Wei et al. (2016) los efectos de los HAP's son más evidentes que los provocados por MP.

En los meses de enero (San Agustín, con el extracto de musgo lavado) y junio (Coyoacán, con el extracto de musgo sin lavar) no se encontró correlación con ningún HAP (*Anexo 4*) por lo que, se puede atribuir totalmente el daño a los MP encontrados, por ejemplo: el Cr y Ni. Obteniendo el primero, en los 8 meses de exposición, en la mayoría de las zonas norte las cuales se caracterizan por la cantidad de industrias y tráfico automovilístico en ellas, tal como lo mencionan Machado et al. (2008) este metal se encuentra principalmente relacionado con emisiones en condiciones de altas temperaturas en actividades antrópicas (industria y transporte); asimismo, se ha demostrado su acción como agente genotóxico y posible cancerígeno en los estudios realizados por Annangi et al. (2006) y Carretero (2005), explicando así el daño significativo generado en la línea celular NL-20. El Ni por su parte, se determinó en concentraciones altas coincidiendo con los promedios más altos del momento de la cauda (*Anexo 4*), sobre todo en la temporada de secas-frías, tal como lo menciona Nordberg (1998) este metal podría causar daño genético, ya que se encuentra catalogado como posible carcinógeno por la IARC, llegando a producir cáncer pulmonar en seres humanos.

Con respecto al Antimonio (Sb) se encontró presente (*Anexo 3*) y en mayores concentraciones en las zonas sur durante la temporada de lluvias y en las zonas norte en temporada de secas-frías. Como lo menciona Nordberg (1998) este metal es capaz de inhibir enzimas, alterar el metabolismo de proteínas y de carbohidratos, lo que podría estar causando el daño en el DNA.

Metales como el Cr, Fe y Co se encontraron en el presente estudio, determinándose como posibles causantes de los efectos genotóxicos en las células, tal como lo menciona el estudio realizado por Annangi et al. (2006) donde determinan que pueden llegar a causar estrés oxidante (Navarro-Aviñó et al., 2007), infringiendo daño a la doble hélice del DNA.

La zona norte (Tlalnepantla) presentó mayor acumulación de hidrocarburos, por ejemplo, en temporada de secas frías (diciembre-enero-febrero) estuvo presente el CPP, como posible generador de daño (*Anexo 3*), ausentándose en las demás temporadas. También en esta temporada se encontró CHR en

concentraciones altas, asociadas al tipo de emisiones en esa zona, ya que, es considerado un indicador de contaminación generado por la combustión de gas natural y de aceite industrial según Caballero López y Alvarado Díaz (2006), es importante mencionar que este contaminante se detectó otra vez hasta el mes de mayo, en la zona sur (Coyoacán) indicando que la variación de contaminantes es dependiente del clima y sitio. Asimismo, se observó la asociación de FA y PY, que concuerda con los estudios realizados por Astoviza (2014) donde su presencia, indico aportes pirogénicos (producidos por la combustión parcial de compuestos orgánicos) dependientes de la zona estudiada, ya que en esta localidad además de estar rodeada de fábricas, existe tránsito constante de vehículos pesados.

El BghiP se encontró en concentraciones altas únicamente en el mes de febrero (San Agustín) y mayo (Coyoacán), lo que indica que hubo un incremento en las emisiones por tráfico vehicular; así como lo demuestran los estudios realizados por Quijano-Parra y Meléndez-Gélvez (2014) y Quijano et al. (2015) en donde, este se asocia a emisiones que involucran diésel y gasolina; además a sido considerado un indicador de HAP's emitidos por escapes de motores (Quijano et al., 2014), explicando su presencia en las determinaciones realizadas. El comportamiento de este hidrocarburo hace inferir que solo se encontraba adsorbido en el musgo, ya que únicamente se encontró en la determinación de los extractos de musgo sin lavar (ver Anexo 2; tabla febrero y mayo).

El análisis estadístico realizado mostró que la influencia de PHE es la que contribuye de manera significativa al daño genético (Anexo 3). Se encontró presente en la temporada secas-frías (enero, febrero) y secas-calientes (marzo y abril), en una zona con flujo vehicular constante como lo es La Merced (centro) y en una zona industrializada San Agustín (norte) (Anexo 4); resultados que concuerdan con dos estudios, el primero realizado por Quijano et al. (2015) en donde mencionan que la predominancia de compuestos de 3 anillos, especialmente el PHE, sus especies metiladas y los Naftalenos (NA) están asociados con fuentes de emisión de tráfico vehicular y el segundo, realizado por Mastrandea et al. (2005), en el cual reportan emisiones de este HAP, generadas por plantas de producción de aluminio.

En este estudio, específicamente en las zonas norte y sur (enero), se encontraron concentraciones importantes de CHR, BbFA y BkFA, mismas que son asociadas a las fuentes de emisión características de estas zonas (ver Anexo 2, enero); de manera similar a lo encontrado por Quijano-Parra et al. (2013) quienes reportaron la presencia de 5 hidrocarburos (Benzo[c]fluoreno, Criseno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno y Benzo[a]Pireno) exclusivos de fuentes móviles.

Temporadas y Zonas

En cuanto a temporadas, "durante el año hay épocas en donde las concentraciones de partículas aumentan" (SEDEMA, 2015). En este estudio, el mes con mayor daño genotóxico fue diciembre ocasionado por contaminantes adsorbidos y absorbidos (**Figura 8**), que coincide con época de frío-secas, mencionada como "la temporada en donde se acumulan con mayor facilidad los HAP" (Huang et al. 2018). Según las **Figuras 7 y 8**, en los tratamientos realizados en temporada de frío-secas (diciembre, enero y febrero) sin contar el mes de noviembre, se muestra mayor daño en las zonas localizadas al norte (San Agustín y Tlalnepantla) con contaminantes absorbidos. Esto indica que durante estos meses la probabilidad de que estas partículas lleguen a la población por el aire aumenta, penetrando en las células humanas, dañando el DNA y afectando seriamente la salud (García et al., 2006). Estos resultados concuerdan con los realizados por SEDEMA en el 2015, donde se observó un gradiente de contaminantes con concentraciones máximas en el norte que disminuía hacia el sur durante esta temporada; la dispersión de los contaminantes por el viento, pudo ser un factor importante; ya que la dirección del viento en las zonas norte tendió hacia el NE, en la zona centro al NW y en la zona sur al N (Dirección de Monitoreo Atmosférico, 2016; Dirección de Monitoreo Atmosférico, 2017), indicando un probable movimiento de MP y HAP's hacia las zonas norte, explicando así los contaminantes acumulados en el extracto musgo y por ende el daño detectado.

En la temporada de secas calientes (marzo y abril) la mayoría de zonas con daño fueron asociadas a las de tráfico vehicular (sur y centro) (**Figura 7 y 8**), sin embargo, hubo una zona industrial en el mes de marzo (San Agustín) que presentó el valor mayor del momento de la cauda provocada principalmente por la asociación de metales e hidrocarburos identificados. El Cr se encontró en mayor concentración en dichas zonas lo que explicaría el daño generado a las células, ya que, como lo menciona Di Palma et al. (2017) éste, se deriva de partículas de diésel y emisiones de desgaste de frenos. Además, la asociación de este metal junto con Fe, Mn y Ni es característico en zonas urbanas con tráfico vehicular. Los vientos durante esta temporada cambiaron de dirección en las zonas sur, dirigiéndose principalmente hacia el NE y SE (Dirección de Monitoreo Atmosférico, 2017), provocando probablemente, la acumulación de contaminantes en Iztapalapa.

Durante dos temporadas, secas calientes y de lluvias (marzo, abril, mayo y junio) se obtuvo mayor momento de la cauda en las zonas del Sur (**Figura 7 y 8**), atribuyéndole este daño al tráfico automovilístico que se encuentra en ellas. A pesar de que en la temporada de lluvias (mayo y junio) la zona de Coyoacán (**Figura 7**) permaneció con datos similares, al hacer la correlación con metales e hidrocarburos no se encontró similitud entre los dos meses (Anexo 3 y 4), lo que indica que las mezclas de los contaminantes pueden afectar su toxicidad (Navarro-Aviñó et al., 2007), esto mismo sucedió en la zona de Iztapalapa con los tratamientos de musgo lavado (**Figura 7**). Lo que ocurrió al tener daño parecido con agentes diferentes se le puede atribuir a la presencia simultánea (mezcla) de los MP o HAP's, ya que sus efectos pueden ser tanto tóxicamente sinérgicos o antagonicos, ocasionando cierta dificultad para predecir los efectos reales de los contaminantes en el medio. Como lo menciona Navarro-Aviñó et al. (2007) "los efectos de un compuesto o de la mezcla de ellos pueden ser inocuos, letales o subletales (no matan al individuo, pero producen daños a nivel genético o fisiológico".

Asimismo, en temporada de lluvias (mayo-junio) se encontraron valores de concentración relativamente mayores de CHR (Anexo 4), tanto en la zona norte

(Coyoacán) como en la sur (San Agustín); al ser considerado posible cancerígeno en el ser humano (IACR, 2018), podría explicar el daño generado en estas zonas.

En varios estudios se ha demostrado que personas que se encuentran en diferentes lugares experimentan distintos niveles de contaminación del aire (Chen et al., 2018, Zhao et al., 2016). Asimismo, los niveles también pueden variar durante las épocas del año (Yuanyuan et al., 2014), como se demostró en este trabajo.

En lo que respecta al tratamiento hecho con extracto de musgo acumulado se pudo observar que, Iztapalapa (sur) y Tlalnepantla (norte) presentan contaminación atribuida al tráfico vehicular (Anexo 4), asociada al daño encontrado en las células NL-20, por ejemplo: Al, Ni, Co y Cu (Anexo 3 y 4) de manera similar a lo mencionado por Fernández et al. (2000) "El Pb, Cu, Ni, Cr, Cd y Fe de partículas suspendidas son atribuidas principalmente al tráfico vehicular". Sin embargo, como se puede notar en la **Figura 7**, la zona sur presenta menores valores en el momento de la cauda a pesar de tener las concentraciones más altas de metales: Al, Cr, Co, Ni, Fe, entre otros (Anexo 4), esto puede indicar que algún agente está disminuyendo la genotoxicidad, como se explica en el trabajo realizado por Annangi et al. (2016) en donde, el Vanadio puede ser utilizado como antígenotóxico, disminuyendo los efectos genotóxicos de otros.

Se esperaba que el musgo que acumuló contaminantes durante las 3 temporadas, mostrara mayor daño, sin embargo, eso no ocurrió en todas las estaciones. Por ejemplo, la zona de Tlalnepantla y Coyoacán mostraron mayores momentos de la cauda, mientras que La Merced no tuvo cambios significativos en los valores obtenidos, con los extractos de musgos lavados. Por otro lado, en el tratamiento realizado con los extractos de musgo sin lavar, presentó valores elevados en San Agustín y el resto permaneció en valores similares a los obtenidos en el testigo. Estos resultados no se correlacionan con los valores de las concentraciones de metales e hidrocarburos encontrados en la experimentación realizada, por lo que el efecto de éstos no es evidente; fenómeno que podría estar indicando que el musgo *Hypnum amabile* únicamente puede acumular contaminantes en periodos cortos de tiempo. Es importante mencionar que el

musgo recolectado de este tratamiento mostró cambios físicos importantes como en la coloración y mal estado en general (ver **Figura 9**) comparado con los otros meses de exposición.



Figura 9. Musgo recolectado después de los 8 meses de exposición; note la pérdida en la coloración, así como un deterioro general.

Asimismo, se puede inferir que el daño en el DNA encontrado en las células NL-20 (causado presuntamente por los musgos expuestos durante los 8 meses de muestreo), puede ser asociado a otros parámetros adicionales a los medidos en este estudio. Para establecer el efecto específico de los contaminantes encontrados; se sugiere realizar el ingreso controlado de metales, hidrocarburos y algunas combinaciones de importancia, para evaluar de manera específica el efecto de cada uno de ellos en la línea celular NL-20.

Tratamientos

En cuanto a los tratamientos (**Figura 7 y 8**) se encontraron diferencias entre contaminantes absorbidos y adsorbidos/absorbidos. Se observan mayores momentos de la cauda en los extractos de musgos sin lavar, atribuyendo estos valores al efecto producido por los contaminantes que permanecen tanto adsorbidos como absorbidos. Resaltando el comportamiento de dos HAP's :9-Metilantraceno y benzo[ghi]perileno, los cuales se encontraron únicamente en los extractos de musgo sin lavar, indicando que estos contaminantes se encuentran adsorbidos; sin embargo, en los resultados de extractos de musgo lavado tienen un valor de cero, indicando que estos no pudieron ser absorbidos.

IX. CONCLUSIONES

- Existen diferencias en la genotoxicidad entre los lugares de exposición, ya que existen contrastes en la cantidad de contaminación industrial y vehicular durante los 8 meses.
- Las condiciones meteorológicas juegan un papel importante en la distribución, concentración y por consiguiente acumulación de contaminantes.
- La presencia y concentraciones de MP y HAP's se comportan diferente entre zonas y temporadas, dependiendo en su mayor parte de las actividades antropogénicas y el clima.
- El presente estudio con musgos provee información importante en el nivel de contaminación ambiental y de la dispersión de contaminantes.
- Se estableció que el musgo *Hypnum amabile* presenta características idóneas como bioacumulador para periodos cortos de tiempo. Además, se observó que esta especie logra acumular en mayor concentración de los metales pesados, Mn y Zn. Y de los HAP's, Fenatreno y Fluoranteno.
- Este trabajo contribuye a la identificación de las emisiones urbanas de depósito, acumulación y exposición de MP en la CDMX.
- Los musgos pueden ser utilizados como biofiltros, por su capacidad de captación y acumulación de contaminantes atmosféricos.

X. RECOMENDACIONES

- Los biofiltros podrían ser una solución para disminuir la concentración de material particulado. Sin embargo, nuestro conocimiento sobre los mecanismos biológicos es aún limitado, por lo que se deberían realizar más pruebas.
- Hacer pruebas con otros musgos permitiría comparar su capacidad de almacenar contaminantes.

XI. REFERENCIAS

- Albores Medina A., Quintanilla Vega B., del Razo L., Cebrián García M. 1997. Arsénico. En: Albert Palacios y Lilia América. Introducción a la toxicología ambiental. Metepec, ECO, pp.247-261.
- Amador-Muñoz O., Villalobos-Pietrini R., Agapito-Nadales C., Munive-Colín Z., Hernández-Mena L., Sánchez-Sandoval M., Gómez-Arroyo S., Bravo-Cabrera J. y Guzmán-Rincón J. 2010. Solvent extracted organic matter and polycyclic aromatic hydrocarbons distributed in size-segregated airborne particles in a zone of México City: Seasonal behavior and human exposure. *Atmospheric Environment*, 44: 122-130.
- Annangi B., Bonassi S. Marcos R. y Hernández A. 2016. Biomonitoring of humans exposed to arsenic, chromium, nickel, vanadium, and complex mixtures of metals by using the micronucleus test in lymphocytes. *Mutation Research*, 770: 140-161.
- Arteaga-Gómez E., Rodríguez-Levis A., Cortés-Eslava J., Arenas-Huertero F., Valencia-Quintana R., Gómez-Arroyo S. 2016. Cytogenotoxicity of selected organophosphate insecticides on HaCaT keratinocytes and NL-20 human bronchial cells. *Chemosphere*, 145: 174-184.
- ATSDR- Agency for Toxic Substance and Disease Registry. 2007. Toxicological profile for arsenic U.S. Department of Health and Humans Services, Public Health Service, Centers for Diseases Control, Atlanta, GA. En: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp2.pdf>>. Consultado el 22 de marzo de 2018.
- Aránguez E., Ordóñez J. M., Serrano J., Aragonés N., Fernández-Patier R., Gandarillas A. y Galán I. 1999. Contaminantes atmosféricos y su vigilancia. *Revista Española de Salud Pública*, 73: 123-132.
- Astoviza M. J. 2014. Evaluación de la distribución de contaminantes orgánicos persistentes (COPs) en aire en la zona de la cuenca del Plata mediante muestreadores pasivos artificiales. Tesis profesional de doctorado. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de la Plata, Argentina. En: <http://hdl.handle.net/10915/34729>. Consultado el 23 de junio 2018.
- Ayala C. M., Hernández G. Y., Piñeiro G. J. y González P. E. 2004. Uso del Ensayo Cometa para evaluar el efecto de la temperatura sobre la reparación del daño genético inducido por peróxido de hidrógeno y la Radiación Ultravioleta A en células sanguíneas humanas. *Acta Farm. Bonaerense*, 23: 277-284.
- Ballester F. 2005. Contaminación atmosférica, cambio climático y salud. *Revista Española de Salud Pública*, 79: 159-175.
- Bedregal P., Mendoza P., Ubillús M., Torres B., Hurtado J., Maza I. y Espinoza R. 2009. El uso de *Usnea sp.* Y *Tillandsia capillaris*, como biomonitores de la contaminación ambiental en la Ciudad de Lima, Perú. *Revista de la Sociedad Química Perú*, 75: 479-487.

- Berg T. y Steinnes E. 1997. Use of mosses (*Hylocomium splendens* and *Pleurozium schreber1*) as biomonitors of heavy metal deposition: from relative to absolute deposition values. *Environmental Pollution*, 98: 61-71.
- Boada M., Moreno M.A., Gil H., Marcano J. y Maza J. 2007. Metales pesados (cu+2, cd+2, pb+2, zn+2) en músculo y cefalotórax de camarones silvestres *Litopenaeusschmitti*, *Farfantepenaeussubtilis*, *F. notialis*. *Revista Científica*, 17: 186-192.
- Caballero López S.N. y Alvarado Díaz D. 2006. Análisis y determinación de la concentración de hidrocarburos aromático policíclicos (HAP's) contenidos en el material particulado respirable (pm10) en la localidad de puente Aranda de Bogotá en la zona de alta actividad industrial y alto flujo vehicular. Tesis profesional. Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Universidad de la Salle, Bogotá.
- Calderón-Ezquerro, M.C., Guerrero-Guerra, C., Galán, C., Serrano-Silva, N., Guidos-Fogelbach, G., Jiménez-Martínez, M.C., Larenas-Linnenian, D., y López-Espinosa, E.D. 2018. Pollen in the atmosphere of Mexico City and its impact on the health of the pediatric population. *Atmospheric Environment*, 186: 198-208.
- Cárdenas Á. S. 1999. Los Musgos Pleurocárpicos del Valle de México, México. *Tropical Bryology*, 16: 109-116.
- Carretero J. 2005. Carcinógenos y origen del cáncer de pulmón. En: Sánchez-Céspedes y Rosell R. Cáncer de Pulmón. Centro Nacional de Investigación Oncológicas, Madrid, pp. 40-44.
- Carreño A. Chaparro-Giraldo A. 2013. Tolerancia al aluminio en especies vegetales: mecanismos y genes. *Universitas Scientiarum*, 18: 283-310.
- Chen B, Song Y, Kwan M.P., Huang B, Xu B. 2018. How do people in different places experience different levels of air pollution? Using worldwide Chinese as a lens. *Environmental Pollution*, 238: 874-883.
- Collins A., Koppen G., Valdíglesias V., Dusiska M., Kruszewski M., Moller P., Rojas E., Dhawan A., Benzie I., Coskun E., Moretti M., Speit G. y Bonassi S. 2014. The comet assay as a tool for human biomonitoring studies: The ComNet Project. *Mutation Research*, 759: 27-39.
- Cruz-Campas M.E., Gómez-Álvarez A., Quintero-Núñez M. y Varela-Salazar J. 2013. Evaluación de la calidad del aire respecto de partículas suspendidas totales (PST) y metales pesados (Pb, Cd, Ni, Cu, Cr) en la Ciudad de Hermosillo, Sonora, México, durante un periodo anual. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29: 269-283.
- Cuenca P. y Ramírez V. 2004. Aberraciones cromosómicas en trabajadoras expuestas a plaguicidas. *Revista de Biología Tropical*, 52: 623-628.
- Delgadillo-Moya C. 2014. Biodiversidad de Bryophyta (musgos) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 100-105.

- Di Palma A., Capozzi F., Spagnuolo V., Giordano S. y Adamo P. 2017. Atmospheric particulate matter intercepted by moss-bags: Relations to moss trace element uptake and land use. *Chemosphere*, 176: 361-368.
- Dirección de Monitoreo Atmosférico. 2016. Datos; meteorología 2016, dirección del viento. Disponible en: <<http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php?opc='aKBhnmE=&r=aHR0cDovLzE0OC4yNDMuMjMyLjExMjo4MDgwL29wZW5kYXRhL2FudWFsZXNfaG9yYXJpb3MvbWV0ZW9yb2xvZ8OtYV8yMDE2LmNzdg==>>. Consultado el 14 de marzo de 2019.
- Dirección de Monitoreo Atmosférico. 2017. Datos; meteorología 2017, dirección del viento. Disponible en: <<http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php?opc='aKBhnmE=&r=aHR0cDovLzE0OC4yNDMuMjMyLjExMjo4MDgwL29wZW5kYXRhL2FudWFsZXNfaG9yYXJpb3MvbWV0ZW9yb2xvZ8OtYV8yMDE3LmNzdg==>>. Consultado el 14 de marzo de 2019.
- Escobar L., Rivera A., Aristizábal F. 2010. Estudio comparativo de los métodos de resazurina y mtt en estudios de citotoxicidad en líneas celulares tumorales humanas. *Revista De La Facultad De Química Farmacéutica*, 17: 67-74.
- Fernández J. A., Puche F., Gimeno C. y Carballeira A. 1999. Primeros datos sobre el biocontrol de la deposición atmosférica de metales pesados en las provincias de Valencia, Castellón y Teruel mediante musgos terrestres. *Ecología*, 13: 83-91.
- Fernández A., Ternero M., Barragán F. y Jiménez J. 2000. An approach to characterization of sources of urban airborne particles through heavy metal speciation. *Chemosphere Global Change Science*, 2: 123-136.
- Franco-Hernández M.O., Vásquez-Murrieta M.S., Patiño-Siciliano A., y Dendooven L. 2010. Heavy metals concentration in plants growing on mine tailings in Central Mexico. *Bioresource Technology*, 101: 3864-3869.
- García F.F., Agudelo R.A., Jiménez K.M. 2006. Distribución espacial y temporal de la concentración de material particulado en Santa Marta, Colombia. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, 24: 73-82.
- Hernández-Franco P., Valverde M. y Rojas E. 2009. Los metales como inhibidores del sistema de reparación del ADN. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 12: 75-82.
- IARC, International Agency for Research on Cancer. 2006. Vanadium pentoxide, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 86, Lyon, France. En: <<https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono86-10.pdf>>. Consultado el 5 de diciembre de 2017.
- IARC, International Agency for Research on Cancer. 2018. Agents Classified by the IARC Monographs, 1–122. En: <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/07/List_of_Classifications.pdf>. Consultado el 7 de marzo 2018.

- INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2016. Estadísticas de vehículos de motor registrados en circulación. México. En: <<http://www.inegi.org.mx/sistemas/olap/Proyectos/bd/continuas/transporte/vehiculos.asp?s=est?c=13158>>. Consultado en enero de 2018.
- Klos A., Rajfur M. y Sramek I. 2011. Use of lichen and moss in assessment of forest contamination with heavy metals in praded and glacensis euroregions (Poland and Czech Republic). *Water Air Soil Pollutution*, 222: 367-376.
- Kumaravel T.S. y Jha A.N. 2006. Reliable Comet assay measurements for detecting DNA damage induced by ionising radiation and chemicals. *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 605: 7-16.
- Kumaravel T.S., Vilhar B., Faux S.P. y Jha A.N. 2009. Comet Assay measurements: a perspective. *Cell Biology and Toxicology*, 25: 53-64.
- Lag M., Ovrevik J., Totlandsdal A., Lilleaas E., Thormodsaeter A., Holme J., Schwarze P. y Refsnes M. 2016. Air pollution-related metals induce differential cytokine responses in bronchial epithelial cells. *Toxicology in Vitro*, 36: 53-65.
- Lima P., Vasconcellos M.C., Montenegro R.C., Bahia M., Costa E., Antunes L. y Burbano R. 2011. Genotoxic effects of aluminum, iron and manganese in human cells and experimental systems: A review of the literature. *Human and Experimental Toxicology*, 30: 1435-1444.
- Machado A., García N., García C., Acosta L., Córdova A., Linares M., Giraldothy D. y Velásquez H. 2008. Contaminación por metales (Pb, Zn, Ni Y Cr) en aire, sedimentos viales y suelo en una zona de alto tráfico vehicular. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 24: 171-182.
- Mancuiulea I. y Dumitrescu L. 2017. Persisten Organic Pollutants: Polycyclic aromatic hydrocarbons. En: <http://moodle.toxoer.com/pluginfile.php/3553/mod_page/content/1/U5_PAH%20SPA.pdf>. Consultado el 16 de junio 2018.
- Mastandrea C., Chichizola C., Ludueña B., Sánchez H., Álvarez H. y Gutiérrez A. 2005. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 39: 27-36.
- Miguel-Pérez G., Maya G., Flores-Márquez A.R., Amador-Muñoz O., Villalobos-Pietrini R., Eguía-Aguilar P., Pérez Peña-Díaz M. y Arenas-Huertero F. 2013. Efectos de la contaminación del aire en células humanas de pulmón. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 70: 107-115.
- Navarro-Aviñó J.P., Aguilar-Alonso I. y López-Moya J.R. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, 16: 10-25.
- Nava-Ruíz C. y Méndez-Armenta M. 2011. Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Archivos de Neurociencias (Mex)*, 16: 140-147.

- Nordberg G. 1998. "Metales: Propiedades químicas y toxicidad productos químicos". En: Jeanne Mager Stellman (ed.). Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, Ginebra, pp. 2-51.
- Olive P.L., Banath J.P. y Durand R.E. 1990. Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the "Comet" assay. *Radiation Research*, 122: 86-94.
- Ostling O. y Johanson K. 1984. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 123: 291-298.
- Prieto Méndez J., González Ramírez C.A., Román Gutiérrez A.D. y Prieto García F. 2009. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10: 29-44.
- Querol X. 2008. Calidad del aire, partículas en suspensión y metales. *Revista Española de Salud Pública*, 82: 447-454.
- Quijano-Parra A., Quijano Vargas M.J. y Meléndez Gélvez I. 2013 Influencia de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y metales en la calidad del aire de Pamplona y sus efectos genotóxicos. *Revista Ambiental Agua, Aire y Suelo*, 4: 23-34.
- Quijano-Parra, A. y Meléndez-Gélvez, I. 2014. Identificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en el aire de Cúcuta-Colombia: efecto genotóxico. *Revista EIA*, 11: 79-87. [Online]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.14508/reia.2014.11.79-87>.
- Quijano M.J., Quijano, A. y Meléndez, I. 2014. Identificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en el PM2.5 del aire de Pamplona-Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 17: 25-33.
- Quijano Parra A., Quijano Vargas M.J., Quijano Vargas L.A. y Tomas Manzano S. 2015. Toxicidad del aire de la Ciudad de Villa del Rosario en muestras de material particulado-fracción respirable PM 2.5. *Revista Colombiana de Tecnologías de Avanzada*, 2: 121-127.
- Ramírez A. 2002. Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. *Anales de la Facultad de Medicina*, 63: 51-64.
- Renaudin M., Leblond S., Meyer C., Rose C. y Lequy E. 2018. The coastal environment affects lead and sodium uptake by the moss *Hypnum cupressiforme* used as an air pollution biomonitor. *Chemosphere*, 193: 506-513.
- Rodríguez-Mercado J.J., Mateos-Nava R.A. y Altamirano-Lozano M.A. 2011. DNA damage induction in human cells exposed to vanadium oxides *in vitro*. *Toxicology in Vitro*, 25: 1996-2002.
- Rodríguez-Rey A., Noris-García E. y Fundora Torres M. 2016. Principios y relevancia del ensayo cometa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédica*, 35: 184-194.

- Rojas E., López M.C. y Valverde M. 1999. Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 722: 225-254.
- Rosales-Castillo José A., Torres-Meza Víctor M, Olaiz-Fernández Gustavo y Borja-Aburto. 2001. Los efectos agudos de la contaminación del aire en la salud de la población: evidencias de estudios epidemiológicos. *Salud pública México*, 43: 544-555.
- Ruíz Huerta E.A. y Armienta Hernández M. A. 2012. Acumulación de arsénico y metales pesados en maíz en suelos cercanos a jales o residuos mineros. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 28: 103-117.
- Saldívar de R.L., Luna M., Reyes E., Soto R., Fortoul T. I. 1991. Cadmium determination in Mexican-Produced Tobacco. *Environmental Research*, 55: 91-96.
- SEDEMA – GDF, Secretaría de Medio ambiente del Gobierno del Distrito Federal. 2015. Informe Anual de la Calidad del Aire de la Zona Metropolitana del Valle de México. Disponible en: <<http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php?opc=Z6BhnmI>>. Consultado el 20 de noviembre de 2018.
- SEDEMA, Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México. Inventario de Emisiones de la Ciudad de México. 2016. Dirección General de Gestión de la Calidad del Aire, Dirección de Programas de Calidad del Aire e Inventario de Emisiones. Ciudad de México, pp.35-58.
- SEDEMA, Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México. 2018. Calidad del aire en la Ciudad de México, informe 2017. Dirección General de Gestión de la Calidad del Aire, Dirección de Monitoreo Atmosférico. Ciudad de México, pp. 7-20.
- Segretín M. E. 2007. Los cultivos celulares y sus aplicaciones I (cultivos de células animales). Disponible en: <<http://www.argenbio.org/adf/uploads/pdf/Cultivos%20celulares%201%20Euge.pdf>>. Consultado el 27 de febrero de 2018.
- Huang S., Dai C., Zhou Y., Peng H., Yi K., Qin P., Si L., Xiaoshan Z. 2018. Comparisons of three plant species in accumulating polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from the atmosphere: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 16548-16566.
- Singh N.P., McCoy M.T., Tice R.R. y Scheneider L.E. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175: 184-191.
- Soto-Coloballes N.V. 2017. El control de la contaminación atmosférica en México (1970-1980): tensiones y coincidencias entre el sector salud y los industriales. *Dynamis*, 37: 187-209.
- Sunjog, K., Kolarevic S., Heberger K., Gacic Z., Knezevic-Vukcevic J., Vulkovic Gacic B. y Lenhardt M. 2013. Comparison of comet assay parameters for estimation of

- genotoxicity by sum of ranking differences. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405: 4879-4885.
- Téllez M.M., Romieu I., Polo M., Ruiz S., Meneses F. y Hernández M. 1997. Efecto de la contaminación ambiental sobre las consultas por infecciones respiratorias en niños de la Ciudad de México. *Salud Pública de México*, 39: 1-10. Instituto Nacional de Salud Pública Cuernavaca, México.
- USEPA, United States Environmental Protection Agency. 2017. Particulate Matter (PM) Pollution. En: <<https://www.epa.gov/pm-pollution/particulate-matter-pm-basics#PM>>. Consultado el 15 de enero de 2018.
- Vargas R. G. 2011. Division Briophyta. En: Botánica General: Desde los musgos hasta los árboles. San José, Costa Rica, pp. 55-58.
- Villalobos-Pietrini R., Amador Muñoz O., Waliszewski S., Hernandez-Mena L., Munive-Colín Z., Gómez-Arroyo S., Bravo-Cabrera J.L. y Frías-Villegas A. 2006 Mutagenicity and polycyclic aromatic hydrocarbons associated with extractable organic matter from airborne particles $\leq 10\mu\text{m}$ in southwest Mexico City. *Atmospheric Environment*. 40: 5845-5857.
- Villasana, A.M. 2008. Ensayo de mutagenicidad con la bacteria *Salmonella typhimurim*. Prueba de Ames. En: Ecología, I. N. d. (ed.). Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México, pp. 319-344.
- Vives I., Grimalt J. y Guitart R. 2001. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos y la salud humana. *Apuntes de Ciencia y Tecnología*, 3: 45-51.
- Wei Y., Zhang J., Li Z., Gow A., Chung K., Hu M., Sun Z., Zeng L., Zhu T., Jia G., Li X., Duarte M. y Xiaoyan T. 2016. Chronic exposure to air pollution particles increases the risk of obesity and metabolic syndrome: findings from a natural experiment in Beijing. *The FASEB Journal*, 30: 2115-2122.
- Yuanyuan S., Xin H., Jichun W., Hongzhen L. y Yijun C. 2014. Fractionation and health risks of atmospheric particle-bound As and heavy metals in summer and winter. *Science of the Total Environment*, 493: 487-494.
- Zalacain M., Sierrasesumaga L. y Patiño A. 2005. El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 28: 227-236.
- Zechmeister H.G., Dirnbock T., Hulber K. y Mirtl M. 2007. Assessing air borne pollution effects on bryophytes – lessons learned through long-term integrated monitoring in Austria. *Environmental Pollution*, 147: 696-705.
- Zepeda-Gómez C., Ávila-Pérez P., Díaz-García U. S., Alanís-Martínez Y., Zarazúa-Ortega G. y Amaya-Chávez A. 2014. Diversidad de musgos epífitos de la zona metropolitana del valle de Toluca, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 108-124.
- Zhao S., Yu Y., Yin D., He J., Liu N., Qu J., Xiao J. 2016. Annual and diurnal variations of gaseous and particulate pollutants in 31 provincial capital cities based on in

situ air quality monitoring data from China National Environmental Monitoring Center. *Environment International*, 86: 92-106.

XII. ANEXOS

Anexo 1

A1. 1. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante noviembre de 2016 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	646,49	155,65	3709,91	339,47	989,98	189,22	2648,24	238,01	1209,56	207,27	964,48	159,15
V	0,059	2,40	1,85	8,84	2,98	4,32	2,31	5,59	2,14	7,19	2,12	4,73	2,61
Cr	0,065	2,09	0,98	8,61	1,36	3,72	1,34	4,24	1,06	5,67	1,70	2,27	1,31
Mn	0,029	7283,08	2643,09	30982,84	5388,99	14593,29	3310,50	28643,04	4730,89	16061,04	2933,97	17012,17	2831,70
Fe	0,649	315,14	102,40	2067,74	201,35	906,80	129,80	1505,28	176,90	1071,84	163,62	637,22	105,60
Co	0,015	3,12	1,29	39,37	4,26	4,92	1,50	26,59	3,57	6,25	1,69	8,36	2,17
Ni	0,113	6,44	4,83	30,71	8,87	14,54	20,31	16,37	6,23	17,63	5,93	9,52	9,71
Cu	0,119	105,40	194,22	423,48	3078,46	355,48	1380,86	122,64	546,52	185,39	330,41	130,10	231,01
Zn	0,276	1148,42	679,80	6215,26	1693,71	1677,35	2026,57	4593,76	937,29	2955,47	942,58	2152,84	921,41
As	0,806	6,27	6,00	15,38	8,20	21,99	9,21	11,58	10,50	20,39	6,61	14,56	6,36
Mo	0,365	4,30	2,19	10,83	4,09	9,47	4,20	4,86	2,44	5,28	16,20	5,05	4,81
Cd	0,003	2,63	1,12	22,33	4,20	6,95	1,77	22,59	1,97	9,61	1,28	8,13	1,44
Sb	0,063	6,98	4,41	12,88	7,06	11,62	7,39	11,30	5,17	10,46	6,85	8,63	6,04
Pb	0,004	27,53	22,96	159,18	57,91	32,30	50,92	112,18	26,11	54,42	30,94	44,15	29,48

A1. 2. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante diciembre de 2016 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$											
Al	6,047	214,16	165,30	19631,15	261,10	13004,96	341,61	11711,74	413,45	7841,71	370,70	9506,75	188,20
V	0,059	10,63	1,88	21,57	2,40	13,15	3,14	14,49	3,33	14,19	3,10	20,09	2,00
Cr	0,065	5,87	1,53	14,02	2,13	8,62	1,56	8,54	1,56	6,94	1,65	9,98	1,61
Mn	0,029	60688,31	5123,84	89277,51	5564,60	75415,09	9463,65	70969,44	14947,16	61954,92	8871,35	71112,50	5376,84
Fe	0,649	1265,91	67,23	3659,12	161,83	2048,37	224,31	3152,69	318,92	1487,93	248,01	2740,78	81,32
Co	0,015	17,54	0,93	36,54	2,89	24,83	3,49	27,39	6,09	21,57	2,72	32,74	1,72
Ni	0,113	20,99	3,68	42,39	8,57	32,73	9,66	30,54	10,01	24,79	4,99	41,51	4,02
Cu	0,119	470,29	180,92	1141,78	399,36	559,49	350,12	513,92	208,92	265,57	261,13	559,03	469,31
Zn	0,276	3588,21	423,08	6774,38	599,31	4348,62	1046,69	4282,48	1575,21	3744,40	875,68	5009,79	468,82
As	0,806	19,74	4,12	33,45	5,60	37,70	8,32	23,85	8,05	29,84	8,39	39,09	5,58
Mo	0,365	3,00	0,89	6,11	2,05	4,54	2,29	4,42	4,28	3,11	9,87	5,24	1,13
Cd	0,003	9,95	0,75	29,30	1,07	14,72	2,48	15,86	4,18	16,72	3,42	11,91	1,18
Sb	0,063	33,40	15,39	52,94	20,93	43,51	19,74	38,39	18,39	42,74	20,57	51,44	18,50
Pb	0,004	63,20	11,27	128,67	14,70	78,35	28,81	81,64	39,43	68,43	19,19	102,79	12,90

A1.3. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante enero de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	505,62	51,09	1497,85	65,50	614,01	146,83	1360,01	63,20	1965,72	71,21	1272,27	72,38
V	0,059	5,49	2,07	7,83	2,56	8,47	2,81	7,17	2,09	13,09	2,39	8,77	2,78
Cr	0,065	2,88	0,91	5,55	1,26	3,40	1,09	5,16	0,95	5,55	1,45	4,30	1,98
Mn	0,029	23455,24	3193,87	41550,45	5536,50	49850,83	13222,46	45301,01	9409,66	56095,40	8016,54	26544,92	3639,65
Fe	0,649	487,14	58,22	674,32	71,26	540,50	135,38	512,17	64,56	659,29	89,60	523,50	65,18
Co	0,015	6,49	1,13	15,49	1,90	13,94	6,58	9,25	1,52	13,49	2,04	8,07	2,49
Ni	0,113	12,83	2,08	24,39	4,99	25,50	7,08	17,56	3,09	257,87	5,18	15,75	11,13
Cu	0,119	91,35	157,03	575,89	401,29	442,49	622,68	228,84	338,66	701,19	254,59	119,60	196,69
Zn	0,276	1630,49	358,20	3046,67	388,29	2937,75	1136,46	1953,76	555,35	4893,63	548,18	2176,85	741,49
As	0,806	14,29	4,85	23,68	7,84	18,60	8,53	15,87	6,09	31,76	6,83	20,55	7,13
Mo	0,365	1,66	1,73	2,95	2,10	3,80	3,38	3,04	2,17	4,83	2,84	1,89	3,57
Cd	0,003	7,91	1,17	11,92	1,36	11,82	5,74	9,63	3,07	18,87	1,58	8,45	1,21
Sb	0,063	30,47	11,90	41,18	20,01	40,61	18,46	41,89	14,12	49,29	26,09	33,36	19,37
Pb	0,004	31,62	14,88	83,45	20,24	59,56	47,71	33,26	16,81	70,80	16,51	50,17	18,26

A1.4. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante febrero de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	194,77	30,02	272,22	42,68	1968,57	117,08	324,40	99,06	386,17	69,50	654,52	82,12
V	0,059	3,13	2,18	5,93	2,63	9,80	3,08	6,16	2,85	4,51	2,85	6,04	2,70
Cr	0,065	1,45	0,52	1,76	0,80	4,87	1,46	2,31	1,05	2,10	0,88	4,20	1,29
Mn	0,029	19551,87	5860,56	35287,63	6030,58	37833,74	7555,12	33631,79	8902,08	25002,55	9563,35	26972,39	7428,36
Fe	0,649	221,71	50,20	335,82	57,05	869,88	84,24	302,18	85,44	243,21	81,66	272,87	65,60
Co	0,015	5,80	2,27	13,58	2,75	12,25	2,91	8,75	3,68	6,45	2,61	8,20	2,80
Ni	0,113	12,18	5,84	22,50	6,07	21,30	5,47	22,01	10,35	13,45	6,57	16,93	5,81
Cu	0,119	316,86	270,03	527,77	447,18	1124,48	723,10	799,16	612,82	331,04	542,20	532,42	303,97
Zn	0,276	1054,90	512,41	2572,14	627,19	2886,62	686,64	2374,45	1079,07	1113,60	827,90	1861,04	826,45
As	0,806	12,54	5,28	16,26	6,64	30,04	6,86	17,50	7,79	14,68	7,18	21,18	8,05
Mo	0,365	1,37	1,14	4,64	1,76	12,70	1,40	3,38	2,31	1,60	2,11	3,00	2,21
Cd	0,003	3,65	1,48	9,63	1,99	11,80	1,90	8,88	3,39	5,65	2,75	7,28	2,39
Sb	0,063	31,72	17,07	45,74	20,57	55,95	22,30	45,87	21,54	33,27	24,02	40,26	23,56
Pb	0,004	23,40	20,15	56,99	24,21	73,29	24,86	83,17	42,23	26,72	23,19	51,81	23,91

A1.5. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante marzo de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$											
Al	6,047	219,79	48,77	402,31	95,87	316,25	50,11	275,34	101,17	403,44	74,23	740,51	97,99
V	0,059	1,53	1,45	2,21	1,72	3,70	1,66	3,37	1,78	2,90	1,56	4,61	1,98
Cr	0,065	1,59	0,94	2,67	2,24	2,56	1,01	1,81	1,23	2,41	1,50	4,55	1,35
Mn	0,029	18906,43	5186,20	20633,14	11342,29	23227,31	5516,97	27643,80	13091,52	30163,72	7520,30	32549,45	9110,44
Fe	0,649	358,90	105,33	359,52	212,28	373,96	184,20	401,45	120,48	355,01	142,14	402,73	198,89
Co	0,015	3,20	1,39	5,22	6,02	4,27	1,83	5,55	2,98	4,07	1,88	5,61	2,85
Ni	0,113	9,14	4,30	13,12	7,92	10,53	4,90	14,32	6,08	10,15	8,58	19,57	7,54
Cu	0,119	205,29	238,50	226,35	336,71	384,16	505,44	261,25	302,20	315,32	615,56	464,89	933,47
Zn	0,276	1203,14	528,91	1779,80	1363,16	1308,98	536,75	1811,02	1550,91	1298,28	622,64	2917,53	1038,43
As	0,806	9,80	3,08	15,76	7,77	14,34	5,47	11,00	5,27	19,92	7,12	25,71	7,53
Mo	0,365	2,31	0,68	11,72	2,01	3,16	1,44	3,54	1,40	9,94	2,12	2,67	2,48
Cd	0,003	4,05	0,77	5,79	2,79	4,19	0,98	5,92	2,03	6,99	1,12	6,56	1,72
Sb	0,063	17,64	10,32	20,56	16,12	28,51	15,63	21,02	14,00	24,41	17,31	23,93	16,43
Pb	0,004	18,13	8,33	28,64	65,53	21,19	12,57	28,97	28,39	22,33	15,69	40,47	22,71

A1.6. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante abril de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	6,047	256,81	27,20	623,52	29,76	320,79	34,73	808,90	92,96	144,41	49,47	311,68
V	0,059	0,059	1,33	0,89	2,46	1,10	2,30	1,13	4,26	1,69	1,77	1,41	2,97
Cr	0,065	0,065	1,32	0,58	2,52	1,05	2,55	0,67	3,75	1,52	1,29	0,81	2,07
Mn	0,029	29222,77	4208,17	30561,10	4609,70	44678,01	11380,25	29885,55	7258,30	32592,73	11000,66	29911,47	10607,72
Fe	0,649	218,76	59,78	388,38	95,64	244,01	78,09	765,67	222,67	262,19	139,12	281,83	113,66
Co	0,015	3,07	0,49	5,01	1,32	5,31	2,28	7,55	2,36	4,92	2,05	17,48	10,96
Ni	0,113	6,25	2,14	11,43	3,97	21,14	11,93	10,99	8,80	8,30	4,39	9,03	4,72
Cu	0,119	181,97	240,49	318,29	275,56	199,41	439,79	223,14	407,77	198,07	597,33	224,61	633,76
Zn	0,276	1387,66	327,01	1800,03	364,43	2811,03	1135,65	2703,18	780,08	1638,22	974,00	2132,52	1768,80
As	0,806	7,30	3,50	11,65	4,61	26,00	4,88	13,13	5,42	9,32	6,05	17,90	7,01
Mo	0,365	0,87	0,51	1,78	2,20	1,40	6,84	2,07	1,39	1,42	1,05	3,16	1,35
Cd	0,003	4,06	0,94	8,86	1,28	18,75	2,02	7,60	1,89	7,42	2,01	7,86	3,81
Sb	0,063	19,63	14,59	28,75	15,32	25,90	15,30	26,84	17,58	22,14	17,99	27,45	17,60
Pb	0,004	30,15	9,72	33,47	11,84	51,68	30,87	42,98	21,13	31,32	29,68	40,86	56,05

A1.7. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante mayo de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	416,22	109,02	2144,63	361,19	3365,61	127,63	6920,72	263,01	1144,60	180,08	432,66	135,51
V	0,059	4,39	2,17	8,64	3,33	9,98	2,31	15,04	3,29	5,37	2,26	5,98	2,98
Cr	0,065	2,33	1,36	6,01	1,94	8,74	1,53	13,58	1,51	4,44	1,42	2,45	1,47
Mn	0,029	14079,23	5988,36	32577,54	7687,69	42648,30	9571,41	48550,60	9964,95	31831,20	6241,25	19534,99	7182,51
Fe	0,649	422,18	142,18	1581,63	273,29	2440,31	291,82	4205,08	251,93	772,03	159,74	822,43	418,66
Co	0,015	7,94	3,65	25,27	6,77	37,71	8,73	60,29	9,06	22,36	4,03	18,18	6,37
Ni	0,113	13,75	11,47	38,61	16,99	39,62	13,36	52,79	19,20	52,58	25,01	16,62	17,80
Cu	0,119	217,66	426,24	1106,59	560,92	768,44	456,55	951,52	683,17	437,25	773,89	233,49	829,30
Zn	0,276	1280,71	849,94	4170,75	1223,50	4770,02	1564,72	6767,94	1545,75	3787,51	1011,47	2253,11	1382,12
As	0,806	10,37	4,06	17,32	7,41	24,18	6,59	23,39	7,55	15,34	6,30	11,12	6,71
Mo	0,365	2,65	0,78	5,49	1,22	5,61	2,95	6,09	4,89	3,71	7,94	3,36	2,42
Cd	0,003	4,82	1,03	11,67	2,69	14,58	3,37	20,53	2,95	11,96	1,87	6,46	2,63
Sb	0,063	27,77	17,88	44,20	22,52	44,26	19,43	48,90	22,08	34,83	18,48	30,13	19,66
Pb	0,004	35,59	32,89	135,67	51,71	153,32	59,28	277,74	63,87	116,69	42,03	77,10	53,46

A1.8. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante junio de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	197,46	64,12	265,65	127,14	225,60	78,89	1646,86	164,56	204,01	122,45	525,63	171,72
V	0,059	2,06	1,51	6,26	1,84	2,83	1,70	7,36	2,29	2,55	1,82	5,03	2,40
Cr	0,065	1,67	1,22	2,65	1,42	2,27	1,38	5,86	1,26	1,78	1,51	3,01	1,51
Mn	0,029	10749,61	4492,37	31760,60	8236,80	13516,17	4688,99	25672,83	6864,27	12638,72	7424,20	32791,73	11512,15
Fe	0,649	233,69	88,42	360,91	108,82	265,11	100,72	1322,00	176,00	383,32	417,88	471,72	127,63
Co	0,015	5,78	2,76	12,99	4,32	7,85	3,42	30,57	6,37	7,73	4,69	19,97	6,58
Ni	0,113	6,20	9,31	31,35	11,15	14,40	10,00	91,00	28,81	7,76	14,10	34,06	15,86
Cu	0,119	120,60	249,23	1047,86	286,80	279,10	443,17	539,46	421,15	165,51	694,63	504,17	274,49
Zn	0,276	945,93	730,32	3238,58	1000,60	1114,09	852,67	5216,80	1650,42	1012,81	1104,28	4026,00	1986,82
As	0,806	4,61	4,79	17,03	6,45	7,16	6,18	13,79	5,72	5,12	6,34	20,56	7,89
Mo	0,365	0,82	1,43	5,54	2,30	2,47	2,02	4,25	2,61	1,15	2,79	5,14	3,82
Cd	0,003	1,92	0,19	7,04	1,83	2,42	1,10	13,32	2,40	2,66	2,17	11,06	3,76
Sb	0,063	23,75	14,17	41,83	21,22	32,65	20,12	43,14	17,65	29,50	20,22	39,70	24,34
Pb	0,004	27,07	25,42	99,89	32,10	31,53	29,23	142,74	76,49	32,42	48,29	118,49	65,06

A1.9. Metales pesados determinados en los extractos del musgo *Hypnum amabile* expuestos durante ocho meses a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	L.D.	Testigo	Testigo	Coyoacán	Coyoacán	Iztapalapa	Iztapalapa	La Merced	La Merced	San Agustín	San Agustín	Tlalnepantla	Tlalnepantla
		Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
	µg L-1	µg L-1											
Al	6,047	176,12	47,69	805,63	82,52	1078,13	150,08	180,75	50,18	329,06	94,04	212,99	162,62
V	0,059	2,40	0,50	5,74	2,03	5,50	2,18	3,78	1,16	4,28	2,31	4,63	4,26
Cr	0,065	0,45	0,42	2,93	0,82	3,04	0,97	1,73	0,78	2,20	0,86	1,84	1,07
Mn	0,029	12565,04	3520,63	32910,85	8264,23	27803,94	9012,74	16996,63	4514,00	15120,94	9897,25	17207,91	10914,70
Fe	0,649	104,14	45,605	522,19	68,52	709,14	135,00	172,76	76,12	217,59	105,18	264,41	162,49
Co	0,015	1,84	0,94	12,28	1,64	5,84	2,74	2,42	1,19	3,21	2,72	7,00	9,57
Ni	0,113	6,65	3,86	16,82	5,29	27,95	20,10	8,26	6,27	19,27	10,40	16,32	26,45
Cu	0,119	120,30	172,55	302,84	226,98	259,30	246,14	195,62	246,27	182,68	349,50	295,42	504,34
Zn	0,276	1147,89	679,39	4688,65	1309,33	2330,27	2071,85	1165,24	954,85	1483,33	1792,56	1754,90	2551,30
As	0,806	13,428	4,693	32,75	8,21	47,96	8,35	19,21	6,32	18,43	7,21	20,02	10,93
Mo	0,365	1,04	1,38	9,73	1,98	4,06	2,13	1,97	2,08	1,45	2,92	2,52	4,61
Cd	0,003	3,49	2,25	13,31	2,87	7,06	3,50	4,57	2,91	4,99	2,61	6,24	4,57
Sb	0,063	21,86	9,02	40,31	24,97	35,93	17,29	31,92	11,80	27,31	22,23	31,03	24,14
Pb	0,004	39,14	22,22	144,72	34,73	70,06	60,24	35,34	34,44	43,00	50,78	49,85	73,49

Anexo 2

A2.1. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante noviembre de 2016 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	1.47	0.99	0.92	0.55	1.23	0.63	3.92	1.54	1.57	1.07
Acenaftileno	0.00	0.00	0.00	0.18	0.00	0.00	0.64	0.25	0.74	0.38
Acenafteno	2.51	0.00	2.45	0.00	2.24	0.00	2.92	0.00	2.57	0.00
Fluoreno	0.57	0.00	0.00	0.00	0.00	0.16	1.21	0.00	1.22	0.00
Fenantreno	2.84	1.08	1.71	0.42	3.31	1.02	5.32	1.39	2.28	1.42
Antraceno	1.53	0.59	0.86	0.38	1.74	0.84	1.75	0.76	1.63	0.75
2-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	2.95	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4,5-Metilenfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.41	0.00	0.00
9-Metilantraceno	6.55	0.00	2.04	0.00	3.76	0.00	3.21	0.00	4.10	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.32	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	1.57	0.39	1.03	0.26	1.55	0.63	2.51	0.52	1.48	0.74
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.58	0.66	0.72	0.54	0.00	0.69
Pireno	1.96	0.46	1.28	0.12	1.64	0.77	2.21	0.54	1.64	0.90
Reteno	0.73	0.17	0.66	0.00	0.38	0.00	0.73	0.23	1.26	0.59
Tripticeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	2.18	0.34	1.38	0.00	1.16	0.00	3.10	0.46	0.00	0.30
Trifenileno	0.00	0.00	0.73	0.00	0.00	0.00	1.30	0.00	2.32	0.00
Criseno	0.00		1.43	0.00	1.09	0.00	2.34	0.44	2.41	0.58
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Coroneno	0.00	0.00	1.06	0.00	0.00	0.00	1.71	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	2.92	2.02	0.94	0.00	1.40	1.29	1.93	3.95	0.00	1.58
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,l]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	1.26	0.00	0.76	0.00	0.85	0.00	1.03	0.00	0.00	0.00

A2.2. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante diciembre de 2016 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	1.39	1.57	1.52	1.29	1.60	1.12	2.44	0.86	2.48	1.00
Acenaftileno	0.58	0.00	0.55	0.00	0.49	0.00	0.51	0.00	0.32	0.00
Acenafteno	1.53	0.00	1.22	0.00	2.14	0.00	1.53	0.00	0.93	0.00
Fluoreno	0.58	0.00	0.58	0.90	0.92	0.00	0.85	0.00	0.77	0.00
Fenantreno	1.88	1.59	2.12	1.08	1.71	0.78	1.93	1.00	2.15	0.60
Antraceno	0.88	0.00	1.14	0.00	1.93	0.57	1.56	0.00	0.00	0.71
2-Metilantraceno	0.00	0.00	1.44	0.00	3.32	0.00	0.85	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	1.77	0.93	3.98	0.58	3.44	1.02	0.00	0.00	1.72	0.53
4,5-Metilenfenantreno	1.22	0.00	0.00	1.05	0.00	0.00	0.00	0.72	1.02	0.00
9-Metilantraceno	2.94	0.00	1.70	0.00	1.88	0.00	1.45	0.00	1.50	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.61	0.00	2.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.69	0.66	0.00
Fluoranteno	7.13	1.70	1.70	0.75	2.45	0.86	10.51	1.03	3.46	0.00
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	2.45	0.00	0.00	0.00	0.00	0.78	0.00	0.00
Pireno	2.02	1.90	1.22	0.77	1.58	0.00	3.46	0.55	2.81	0.48
Reteno	1.56	0.55	2.10	0.47	1.56	0.48	1.12	0.80	1.77	0.00
Tripticeno	1.63	0.00	0.77	0.33	1.80	0.41	0.90	0.00	1.04	0.00
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.00	1.26	1.70	1.28	4.41	1.40	1.25	1.02	1.88	0.00
Trifenileno	0.00	0.00	0.69	0.00	0.00	0.00	0.69	0.00	0.76	0.00
Criseno	1.85	0.89	0.71	1.13	3.20	0.00	1.24	0.00	1.46	0.00
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	1.41	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	0.00	0.00	1.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.88	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	1.70	0.00	4.75	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Coroneno	0.73	0.00	0.74	0.00	0.93	0.00	1.23	0.00	0.56	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.00	4.06	1.87	4.94	1.68	0.00	6.28	5.99	2.28	15.13
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,l]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

A2.3. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante enero de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	0.37	0.31	0.65	0.32	0.72	0.15	0.45	0.19	0.41	0.47
Acenaftileno	4.34	0.00	1.13	0.00	3.09	0.00	5.94	0.22	1.11	0.00
Acenafteno	1.02	0.00	0.68	0.00	3.15	0.00	1.01	0.00	0.00	0.56
Fluoreno	0.00	0.00	0.75	2.32	1.31	0.00	1.30	0.00	0.00	2.23
Fenantreno	0.53	0.29	1.19	1.07	2.03	0.24	2.53	0.31	0.70	2.09
Antraceno	0.74	0.38	1.62	0.93	1.80	0.18	1.53	0.37	1.03	1.79
2-Metilantraceno	0.00	0.22	1.01	0.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.93	0.00	1.15	0.00	0.65	0.44	0.00	0.26
4,5-Metilenfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.34	0.00	0.00
9-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	2.15	0.00	0.41	0.00	0.83	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	0.59	0.08	0.58	0.23	1.53	0.88	1.28	1.26	1.30	0.10
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pireno	0.42	0.22	0.77	0.00	1.48	1.20	1.67	2.16	1.17	1.32
Reteno	0.00	0.00	5.63	0.00	4.65	1.61	4.94	3.51	4.96	4.60
Tripticeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.55	0.00	0.85	0.39	1.33	3.52	1.41	4.14	1.11	0.00
Trifenileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.76	0.00	0.36	0.00	0.49
Criseno	0.00	0.00	0.98	0.00	1.38	0.98	1.69	0.66	1.29	1.76
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.48	0.00	3.14	0.00	2.24
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.27	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.67	0.00	1.89	0.00	6.63
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.02	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	1.22	0.00	0.00	0.00	1.08	0.00

A2.4. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante febrero de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	1.19	0.42	0.50	0.19	0.76	0.37	0.28	0.50	0.61	0.25
Acenaftileno	0.81	0.00	1.81	0.28	2.25	0.00	1.26	0.57	0.63	0.00
Acenafteno	1.65	0.00	0.71	0.54	2.22	2.23	1.29	0.00	1.37	0.00
Fluoreno	2.13	0.74	0.67	0.68	2.30	2.14	0.75	1.69	1.23	0.29
Fenantreno	5.50	0.85	0.95	0.82	2.38	0.85	0.69	0.55	1.79	0.68
Antraceno	1.40	0.85	1.30	0.74	2.35	0.87	0.77	0.58	1.32	0.55
2-Metilantraceno	0.00	0.04	0.00	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.61	0.00	0.00	0.00	0.00
4,5-Metilenfenantreno	0.69	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.43	0.00	0.00
9-Metilantraceno	3.46	0.00	1.44	0.00	1.57	0.00	1.66	0.00	0.76	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	1.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	1.87	0.29	1.32	0.65	0.96	0.68	1.16	0.36	0.65	0.35
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pireno	3.08	0.20	0.79	0.25	1.29	0.45	0.49	0.09	0.73	0.38
Reteno	1.01	0.00	1.07	0.00	0.34	0.00	1.28	0.00	1.34	0.00
Tripticeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	2.37	0.00	1.94	0.32	1.93	0.85	1.60	0.35	1.18	0.00
Trifenileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Criseno	2.42	0.00	0.89	0.00	1.30	0.00	0.91	0.00	1.82	0.00
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.80	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	1.38	0.00	0.70	0.00	0.79	0.00	0.64	0.00	0.85	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.99	0.00	0.51	0.00	0.81	0.00	0.80	0.00	0.98	0.00

A2.5. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante marzo de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	0.36	0.89	0.60	0.90	0.78	0.47	0.45	0.76	0.46	1.02
Acenaftileno	0.40	0.32	0.71	0.46	0.78	0.29	0.70	0.33	0.65	0.43
Acenafteno	2.00	0.00	1.14	2.34	2.52	1.19	1.93	2.28	1.46	1.46
Fluoreno	0.87	3.75	1.10	1.44	1.27	2.94	0.90	1.97	2.42	3.12
Fenantreno	1.70	2.79	1.25	1.29	3.25	0.76	2.60	0.41	1.16	0.96
Antraceno	0.99	3.34	1.18	1.48	1.85	2.19	1.38	3.03	0.92	0.67
2-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4,5-Metilenfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9-Metilantraceno	0.75	0.00	0.11	0.00	1.77	0.00	1.16	0.00	0.54	0.21
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	1.06	0.46	1.26	0.52	2.10	0.49	2.84	0.69	1.09	0.65
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pireno	1.27	1.08	1.08	0.78	2.18	0.64	2.43	0.57	1.01	1.20
Reteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tripticeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.00	0.48	0.72	0.24	1.35	0.50	1.21	0.00	1.20	0.44
Trifenileno	0.51	0.71	0.94	0.47	0.00	0.57	0.00	0.00	0.00	0.00
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Criseno	0.00	0.00	1.77	0.00	2.10	0.00	1.54	0.00	1.24	0.00
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	1.17	0.00	0.00	0.95	0.00	0.00
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

A2.6. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante abril de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	1.52	0.68	0.52	0.61	1.60	1.17	0.91	1.09	1.55	0.58
Acenaftileno	1.60	0.46	1.31	0.62	6.29	0.88	0.71	0.61	1.03	0.37
Acenafteno	3.00	1.70	2.95	0.54	6.40	2.57	2.50	1.68	3.17	1.47
Fluoreno	4.12	1.71	1.37	1.49	5.61	2.61	1.59	2.21	2.17	1.20
Fenantreno	4.81	1.80	1.16	2.32	3.79	2.90	1.07	3.02	1.91	1.65
Antraceno	3.40	2.64	1.80	3.01	8.01	3.75	1.97	3.00	2.16	2.39
2-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4,5-Metilenfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9-Metilantraceno	4.24	0.00	1.84	0.24	1.54	0.00	2.90	0.00	2.01	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	3.01	0.43	1.69	0.60	2.38	0.70	1.46	0.69	1.04	0.85
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pireno	5.02	0.48	1.87	0.78	9.67	1.12	0.94	1.10	1.26	0.88
Reteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tripticeno	3.98	0.00	2.25	1.81	1.50	2.39	3.09	1.68	1.24	0.00
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Trifenileno	4.98	0.00	2.24	0.00	8.63	0.00	1.76	0.00	3.29	0.00
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Criseno	4.32	0.45	1.96	1.13	7.48	0.62	4.77	0.93	2.79	0.50
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	1.29	0.00	1.07	0.00	1.01	0.00	1.01	0.00	1.26
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

A2.7. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante mayo de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	1.43	0.52	0.85	0.42	2.13	0.98	0.88	0.19	1.11	0.26
Acenaftileno	1.17	1.67	0.85	0.53	1.02	1.76	0.63	0.22	1.43	0.38
Acenafteno	1.29	0.00	3.68	0.00	3.35	0.00	2.36	0.00	3.73	0.00
Fluoreno	3.63	3.49	4.66	1.20	3.03	2.39	2.60	0.88	3.88	1.64
Fenantreno	3.68	3.53	4.86	2.62	2.18	1.22	2.53	0.31	3.37	2.11
Antraceno	0.00	0.00	4.31	0.00	4.61	0.00	2.42	0.00	4.19	0.00
2-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4,5-Metilenfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9-Metilantraceno	2.04	0.00	2.30	0.00	3.15	0.00	3.53	0.00	2.03	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	1.52	0.00	1.61	0.38	1.69	0.55	2.86	1.26	3.37	0.38
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pireno	3.49	0.00	1.58	0.00	1.89	0.00	1.54	0.00	3.62	0.00
Reteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tripticeno	2.10	1.78	1.04	1.80	1.69	2.00	2.61	1.75	3.68	1.24
Benzo[a]fluoreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Trifenileno	1.61	0.00	1.90	0.00	1.42	0.00	2.09	0.00	2.89	0.00
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Criseno	1.32	0.00	1.40	0.00	1.13	0.00	2.00	0.00	2.63	0.00
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	2.61	0.00	2.77	1.83	1.31	1.24	3.35	0.00	1.23	0.55
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.96	0.00	0.61	0.00	0.36	0.00	0.34	0.00	0.89	0.00

A2.8. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en el musgo *Hypnum amabile* expuestos durante junio de 2017 a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	4.23	4.33	5.78	1.44	4.00	1.46	5.50	3.15	5.85	4.38
Acenaftileno	2.28	3.51	7.93	1.48	4.00	1.32	3.95	1.51	3.37	3.26
Acenafteno	5.54	3.28	6.93	0.00	2.78	1.94	5.94	4.00	6.91	3.63
Fluoreno	4.95	2.83	3.51	6.04	6.88	0.00	9.62	3.52	6.07	4.69
Fenantreno	4.26	2.91	12.39	0.66	2.89	0.77	11.56	1.98	7.48	2.02
Antraceno	3.86	1.75	6.20	0.57	4.24	1.07	13.79	1.46	5.85	3.66
2-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1-Metilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4,5-Metilenfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9-Metilantraceno	3.91	0.00	6.38	0.00	9.25	0.00	12.22	0.00	7.67	0.00
3,6-Dimetilfenantreno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fluoranteno	5.35	0.00	14.86	0.00	4.76	0.00	4.43	1.03	5.95	0.98
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pireno	4.10	3.18	10.23	4.11	8.08	0.67	4.67	2.02	6.44	0.73
Reteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tripticeno	5.57	0.00	3.60	0.00	5.29	0.00	7.43	0.00	0.00	1.69
Benzo[a]fluoreno	7.88	0.00	0.00	0.00	3.20	0.00	4.33	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Trifenileno	10.27	4.24	4.09	0.87	10.06	2.47	6.90	0.00	6.34	1.51
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Criseno	7.98	4.05	3.41	1.02	7.51	1.61	8.52	0.00	5.19	1.69
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	6.26	0.00	3.39	1.14	6.61	0.80	11.57	0.00	4.45	2.42
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.49	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.76	0.00	0.00
Benzo[ghi]perileno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

A2.9. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos determinados en los musgos *Hypnum amabile* expuestos durante ocho meses a diferentes sitios de la Ciudad de México y área metropolitana.

	San Agustín		Iztapalapa		Tlalnepantla		La Merced		Coyoacán	
	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado	Sin lavar	Lavado
ng/g musgo										
Naftaleno	1.50	1.21	1.42	0.72	1.60	0.79	1.85	1.04	1.76	1.13
Acenaftileno	1.60	0.75	1.79	0.44	2.24	0.53	1.79	0.46	1.16	0.60
Acenafteno	2.29	0.62	2.47	0.43	3.10	0.99	2.43	0.99	2.52	0.89
Fluoreno	2.32	1.56	1.58	1.76	2.66	1.28	2.35	1.28	2.22	1.65
Fenantreno	3.20	1.86	3.20	1.28	2.69	1.07	3.53	1.12	2.61	1.44
Antraceno	1.61	1.19	2.30	0.89	3.32	1.18	3.15	1.15	2.14	1.31
2-Metilantraceno	0.00	0.03	0.31	0.07	0.42	0.00	0.11	0.00	0.00	0.03
1-Metilantraceno	0.25	0.12	0.61	0.07	0.94	0.20	0.08	0.05	0.21	0.10
4,5-Metilenfenantreno	0.27	0.02	0.00	0.13	0.00	0.00	0.00	0.24	0.13	0.00
9-Metilantraceno	2.48	0.45	1.98	0.29	3.13	0.26	3.32	0.48	2.43	0.30
3,6-Dimetilfenantreno	0.09	0.00	0.25	0.14	0.00	0.00	0.04	0.09	0.08	0.00
Fluoranteno	2.93	0.42	3.01	0.42	2.18	0.60	3.38	0.86	2.29	0.51
9,10-Dimetilantraceno	0.00	0.00	0.31	0.00	0.07	0.08	0.09	0.16	0.00	0.09
Pireno	2.77	0.94	2.35	0.85	3.48	0.60	2.18	0.88	2.33	0.74
Reteno	0.37	0.09	1.18	0.06	0.87	0.26	1.01	0.57	1.17	0.65
Tripticeno	1.90	0.22	0.96	0.49	1.29	0.60	1.75	0.43	0.75	0.37
Benzo[a]fluoreno	1.13	0.00	0.00	0.00	0.40	0.00	0.54	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]antraceno	0.42	0.26	0.82	0.28	1.27	0.78	1.07	0.75	0.67	0.09
Trifenileno	2.48	0.62	1.32	0.17	2.51	0.39	1.59	0.00	1.95	0.19
Ciclopenta[c,d]pireno	0.00	0.00	0.18	0.00	0.00	0.22	0.00	0.04	0.00	0.06
Criseno	2.56	0.67	1.57	0.41	3.15	0.40	2.87	0.25	2.36	0.57
5-Metilcriseno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	1.27	0.00	0.92	0.37	0.99	0.26	1.87	0.00	0.71	0.37
Benzo[b]fluoranteno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.31	0.00	0.39	0.00	0.28
Benzo[k]fluoranteno	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzo[j]fluoranteno	0.00	0.02	0.00	0.00	0.06	0.21	0.00	0.24	0.00	0.83
Benzo[e]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.36	0.00	0.00	0.00
Benzo[a]pireno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Perileno	0.00	0.00	0.21	0.00	0.59	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dibenzo[a,h]antraceno	0.00	0.16	0.10	0.13	0.15	0.13	0.50	0.24	0.00	0.16
Dibenzo[a,c]antraceno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.20	0.76	0.44	0.61	0.49	0.16	1.10	1.72	0.39	2.09
Benzo[ghi]perileno	0.28	0.00	0.24	0.00	0.41	0.00	0.27	0.00	0.37	0.00

Anexo 3

Tabla 1. Posibles metales y HAP's involucrados en el daño generado en la línea celular NL-20 por consecuencia de los extractos de musgo lavado. Obtenidos de una regresión múltiple ($p < 0.05$) con respecto al momento de la cauda.

LAVADO		
MES	METALES	HAP's
Noviembre	V en presencia de Al ($R^2=0.83$)	-
Diciembre	Cu en presencia de Cr ($R^2= 0.82$)	Pireno ($R^2=0.86$)
Enero	Cr ($R^2=0.95$) Ni ($R^2=0.66$)	-
Febrero	Zn en presencia de Cu y Ni ($R^2=0.91$)	Acenafteno ($R^2=0.90$) Naftaleno en presencia de Acenafteno y Acenaftileno ($R^2=0.99$) 1-Metilantraceno ($R^2=0.97$) Fluoranteno en presencia de 3,6-Dimetilfenantreno ($R^2=0.92$)
Marzo	Ni y V ($R^2=0.93$) Ni en presencia de Zn y Cu ($R^2=0.92$)	Naftaleno en presencia de Acenafteno y Acenaftileno ($R^2=0.99$) Acenafteno en presencia de Naftaleno ($R^2=0.92$)
Abril	Cr ($R^2=0.89$)	Fenantreno ($R^2=0.93$) Antraceno ($R^2=0.93$)
Mayo	-	-
Junio	-	Naftaleno, Acenafteno y Acenaftileno ($R^2=0.99$) Fluoranteno y Pireno ($R^2=0.99$)
Acumulado	Al y Cu en presencia de Ni ($R^2=0.98$)	Naftaleno en presencia de Fenantreno ($R^2=0.98$)

Tabla 2. Posibles metales y Hap's involucrados en el daño generado en la línea celular NL-20 por consecuencia de los extractos de musgo sin lavar. Obtenidos de una regresión múltiple ($p < 0.05$) con respecto al momento de la cauda.

SIN LAVAR		
MES	METALES	HAP's
Noviembre	-	Fluoranteno, 9,10-Dimetilantraceno y Pireno ($R^2=0.99$) Benzo[a]antraceno y Trifenileno ($R^2=0.96$)
Diciembre	Co en presencia de Mn ($R^2=0.70$)	Naftaleno, Acenaftileno y Acenafteno ($R^2=0.99$) Tripticeno y Benzo[a]antraceno en presencia de Trifenileno ($R^2=0.99$) Benzo[a]antraceno y Trifenileno ($R^2=0.97$) Criseno en presencia de Ciclopenta[c,d]pireno ($R^2=0.97$)
Enero	Pb ($R^2=0.80$) Fe ($R^2=0.70$) Co ($R^2=0.85$)	Fluoreno, Fenantreno y Antraceno ($R^2=0.99$)
Febrero	-	Fenantreno ($R^2=0.87$) Fluoreno y Antraceno ($R^2=0.99$) 4,5-Metilenfenantreno ($R^2=0.99$) Pireno ($R^2=0.97$) Reteno y Pireno ($R^2=0.99$)
Marzo	-	Fluoreno y Antraceno 4,5-Metilenfenantreno ($R^2=0.99$)
Abril	Cd, Ni, As, Cd ($R^2=0.84$)	-
Mayo	Sb y Pb ($R^2=0.95$)	Trifenileno y Criseno ($R^2=0.99$)

SIN LAVAR (continuación tabla 2)		
MES	METALES	HAP's
Junio	Cu, Pb, Co en presencia de y Cr ($R^2=0.99$) Sb en presencia de Cd ($R^2=0.80$) Cd y Pb ($R^2=0.91$) Cu ($R^2=0.82$) Zn en presencia de Cu ($R^2=0.96$)	-
Acumulado	-	Benzo[a]fluoreno en presencia de Benzo[a]antraceno ($R^2=0.97$)

Anexo 4

Tabla 1. Se muestran las mayores concentraciones de HAP y metales pesados encontrados en las zonas con diferencias significativas en cada mes.

Noviembre (no se encontraron diferencias significativas en el momento de la cauda)		
Diciembre		
	Lavado	Sin lavar
Coyoacán	indeno[1,2,3-cd]pireno Cr	naftaleno fenantreno Sb
Iztapalapa	-	-
La Merced	-	-
San Agustín	-	fluoranteno 9-metilantraceno Sb
Tlanepantla	1 metilantraceno Cr	benzo[a]antraceno criseno acenafteno Sb
Enero		
Coyoacán	benzo [j] fluoranteno criseno As	benzo[ghi]perileno Cr, Fe y Co
Iztapalapa	-	reteno
La Merced	-	-
San Agustín	Sb	Cr, Cd, As, Ni y Sb
Tlanepantla	ciclopenta[c,d]pireno Al, V y Cr	-
Febrero		
Coyoacán	-	Co y Ni

Iztapalapa	-	-
La Merced	-	-
San Agustín	-	benzo[ghi]perileno fenantreno indeno[1, 2, 3cd]pireno fluoreno
Tlanepantla	fluoreno benzo[a]antraceno As	-
Marzo		
Coyoacán	pireno naftaleno Cr y As	Co y Mo
Iztapalapa	-	-
La Merced	-	-
San Agustín	antraceno fenantreno Ni, Mo, Sb y Cu	-
Tlanepantla	-	-
Abril		
Coyoacán	-	-
Iztapalapa	-	Ni, As, Cd y Pb
La Merced	Fenantreno 9metilantraceno Cr	-
San Agustín	-	-
Tlanepantla	-	-
Mayo		
Coyoacán	-	fluoranteno

		criseno benzo[ghi]perileno
Iztapalapa	7, 12 –Dimetilbenzo [a] antraceno Cd y Pb	fluoreno fenantreno V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, As, Sb y Pb.
La Merced	-	-
San Agustín	fenantreno Ni y Mo	-
Tlanepantla	-	-
Junio		
Coyoacán	naftaleno As	V, As, Cu, Cd y Sb
Iztapalapa	Pireno, fluoreno	-
La Merced	acenafteno indeno[1, 2, 3cd]pireno Co, Ni y Pb	-
San Agustín	Fenantreno, criseno Cr	-
Tlanepantla	-	-
Acumulado		
Coyoacán	-	-
Iztapalapa	Benzo[a]antraceno Al, V, Cr, Co, Ni, As, Cd, Pb, Fe	-
La Merced	-	-
San Agustín	-	-
Tlanepantla	Fluoreno Al, Cr, Co, Ni, As, Cd, Pb y Fe	-