



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS  
POTOSÍ**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y  
MEDICINA**

**PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS  
AMBIENTALES**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**



**“EFECTO DE LOS METALES PESADOS EN SUELO  
DE JALES MINEROS DE SAN LUIS POTOSÍ”**

**PRESENTA:**

**BQ. José Ángel Montes Rocha**

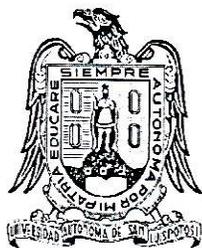
**DIRECTOR DE TESIS:**

**Dr. Cesar Arturo Ilizaliturri Hernández**

**ASESORES:**

**Dr. Hugo Magdaleno Ramírez Tobías**

**Dr. Israel Razo Soto**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y  
MEDICINA**

**PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN  
CIENCIAS AMBIENTALES**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**"EFECTO DE LOS METALES PESADOS EN SUELO DE JALES  
MINEROS DE SAN LUIS POTOSÍ"**

**PRESENTA:**

**BQ. José Ángel Montes Rocha**

**DIRECTOR DE TESIS:**

Dr. Cesar Arturo Ilizaliturri Hernández

**COMITÉ TUTELAR:**

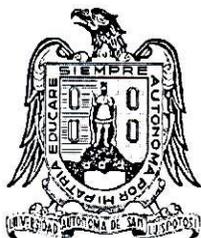
Dr. Hugo Magdaleno Ramírez Tobías

Dr. Israel Razo Soto

Tres firmas manuscritas escritas en tinta negra sobre líneas horizontales. La primera firma es la del director de tesis, Cesar Arturo Ilizaliturri Hernández. Las otras dos son las del comité tutelar: Hugo Magdaleno Ramírez Tobías e Israel Razo Soto.

San Luis Potosí, S.L.P.

MARZO 2016



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y  
MEDICINA

PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS  
AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**"EFECTO DE LOS METALES PESADOS EN SUELO DE JALES  
MINEROS DE SAN LUIS POTOSÍ".**

PRESENTA:

**BQ. José Ángel Montes Rocha**

SINODALES:

**PRESIDENTE:** Dr. César Arturo Ilizaliturri Hernández

**SECRETARIO:** Dr. Hugo Magdaleno Ramírez Tobías

**VOCAL:** Dr. Guillermo Espinosa Reyes

Tres firmas manuscritas escritas en tinta negra sobre líneas horizontales que sirven como guías para las firmas.

San Luis Potosí, S.L.P.

MARZO 2016

---

**AGRADECIMIENTOS**

**A INSTITUCIONES:**

**LABORATORIO AMBIENTAL DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN APLICADA EN AMBIENTE Y SALUD (CIAAS) DE LA FACULTAD DE MEDICINA – COORDINACIÓN PARA LA INNOVACIÓN Y APLICACIÓN DE LA CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA (CIACYT) DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ.**

**AL PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES (PMPCA) DE LA UASLP POR LA FORMACIÓN ACADÉMICA RECIBIDA EN SUS AULAS, VINCULADA A MI FORMACIÓN PROFESIONAL.**

**AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT) POR LA BECA OTORGADA (NO. BECARIO: 304395).**

**AL FINANCIAMIENTO OTORGADO POR:**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ A TRAVÉS DEL FONDO DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN (C12-FAI-03-67.67).**

**SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA Y CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (SEP-CONACYT-CIENCIA BÁSICA-178778).**

**CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (PEI-221377).**

**A personas:**

**Al Dr. César Arturo Ilizaliturri Hernández, gracias por ser mi director y tenerme la confianza suficiente para otorgarme un tema de esta magnitud, muchas gracias por dedicarme tiempo y paciencia. Quiero que sepa que además de ser mi director se ha convertido en un gran amigo, le tengo mucho aprecio a usted y toda su familia, sin dejar de mencionar que es un ejemplo a seguir de persona, hijo, padre, esposo y por ultimo profesor-investigador.**

***Muchas gracias por apoyarme tanto profesionalmente como personalmente.***

**Al Dr. Hugo Magdaleno Ramírez Tobías gracias por tenerme paciencia y dedicarle tiempo a la revisión de mi tesis, así como guiarme durante el proceso de escritura. Le estoy sumamente agradecido por apoyarme el tiempo que estuve en agronomía.**

**Al Dr. Israel Razo Soto gracias guiarme durante la realización de mi tesis y por tenerme paciencia y dedicarle tiempo a la revisión de mi tesis.**

**Al Dr. Guillermo Espinosa Reyes, le agradezco por el apoyo y amistad brindada durante estos últimos cinco años.**

**BQ. Roció del Carmen Díaz Torres y la BQ. Carol Fabina Ríos Martínez, gracias por su ayuda durante la parte experimental.**

**A la Dra. Ángeles Martínez Toledo y a su grupo de trabajo gracias por ayudarme durante la parte experimental de este proyecto.**

**DEDICATORIAS**

***Gracias por tu apoyo en cada decisión, por alentarme a seguir adelante profesionalmente, por tu amor, por darme un regalo tan hermoso como el ser padre. Te amo mi amor tú y mi hijo son los amores de mi vida.***

***Rocío del Carmen Díaz Torres  
Abdú José Montes Díaz***

**Mi familia gracias por apoyarme todo el tiempo sin importar la decisión que tome y por su amistad y amor: “Gracias”. Los quiero mucho.**

**Hilda Rocha de la Cruz  
José Daniel Montes Rocha  
Salomón Santiago Ahumada  
“Familia Rocha de la Cruz”**

**Mi nueva familia que se han convertido en parte importante de mi vida y de ellos he aprendido mucho. Los quiero mucho.**

**Francisco Díaz Martínez  
Carmen Torres Solís  
Priscila Díaz Torres  
Ruth Díaz Torres  
Josafat Díaz Torres**

**Ya no estás conmigo sin embargo todo lo que realizo lo empiezo y lo termino pensando si esto es lo que querías para mí y si estarías orgullosos de mí.  
Te quiero Papa.**

**José Montes Martínez**

## **Contenido**

CAPÍTULO 1 .....	13
1. INTRODUCCIÓN .....	13
2. ANTECEDENTES.....	15
2.1. Suelo.....	15
2.1.1. Formación del suelo .....	17
2.1.2. Materia Orgánica.....	18
2.1.3. pH del suelo.....	18
2.1.4. Conductividad Eléctrica.....	19
2.2. Relaciones del suelo .....	19
2.2.1. Relación Suelo-Planta.....	19
2.2.2. Relación Suelo-Biota.....	21
2.2.3. Relación Suelo-Salud humana .....	21
2.2.4. Relación Suelo-Metales pesados.....	22
2.3. La Minería en México .....	23
2.4. Minería en San Luis Potosí .....	24
2.5. Metales Pesados .....	24
2.5.1. Arsénico.....	27
2.5.2. Cadmio .....	27
2.5.3. Cobre .....	28
2.5.4. Manganeso.....	28
2.5.5. Plomo .....	29
2.5.6. Zinc .....	30
2.6. Actividad Microbiológica del Suelo .....	30
2.7. Actividad enzimática del Suelo.....	31
2.7.1. Deshidrogenasa.....	34
2.7.2. $\beta$ -Glucosidasa .....	34
2.7.3. Ureasa .....	35
2.7.4. $\beta$ -Galactosidasa .....	35
2.7.5. Arilsulfatasa.....	36
2.7.6. Fosfatasa .....	36

CAPÍTULO 2 .....	38
3. ANTECEDENTES DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA .....	38
CAPÍTULO 3 .....	41
4. JUSTIFICACIÓN.....	41
CAPÍTULO 4 .....	43
5. HIPÓTESIS.....	43
6. OBJETIVOS .....	43
6.1. Objetivo General .....	43
6.2. Objetivos Específicos.....	43
CAPÍTULO 5 .....	44
7. METODOLOGÍA .....	44
7.1. Descripción de los sitios de estudio .....	44
7.1.1. Cedral .....	44
7.1.2. Charcas .....	46
7.1.3. Cerro de San Pedro.....	47
7.1.4. Villa de la Paz.....	50
7.2. Ubicación de los sitios de muestreo. ....	52
7.3. Recolección de muestras .....	53
7.4. Determinación de Metales Pesados.....	54
7.4.1. Determinación de metales pesados con el analizador portátil Niton XL3t GOLD de Thermo Scientific.....	54
7.5. Propiedades Físicoquímicas .....	55
7.5.1. Materia Orgánica.....	55
7.5.2. pH.....	55
7.5.3. Conductividad Eléctrica .....	56
7.5.4. Textura .....	56
7.6. Actividad Enzimática .....	57
7.6.1. Deshidrogenasa .....	57
7.6.2. Ureasa.....	57
7.6.3. $\beta$ -Glucosidasa y $\beta$ -Galactosidasa .....	58
7.6.4. Arilsulfatasa .....	58

7.6.5.	Fosfatasa.....	58
7.7.	Análisis Estadístico .....	59
CAPÍTULO 6 .....		60
8.	DISCUSIÓN Y RESULTADOS.....	60
8.1.	Análisis de metales pesados .....	60
8.1.1.	Cerro de San Pedro.....	60
8.1.2.	Charcas .....	61
8.1.3.	Cedral .....	63
8.1.4.	Villa de la Paz.....	64
8.1.5.	Comparación de Sitios.....	65
8.2.	Propiedades Fisicoquímicas .....	76
8.2.1.	Cerro de San Pedro.....	76
8.2.2.	Charcas .....	77
8.2.3.	Cedral .....	78
8.2.4.	Villa de la Paz.....	78
8.2.5.	Comparación de sitios .....	79
8.3.	Análisis de correlación .....	85
8.4.	Propiedades Biológicas .....	87
8.4.1.	Cerro de San Pedro.....	87
8.4.2.	Charcas .....	88
8.4.3.	Cedral .....	89
8.4.4.	Villa de la Paz.....	90
8.4.5.	Comparación de Sitios.....	91
CAPITULO 7 .....		111
9.	CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES.....	111
10.	BIBLIOGRAFIA.....	114
11.	ANEXO I .....	123
12.	ANEXO II.....	158

**TABLA DE CUADROS**

*CUADRO 1 ENZIMAS DEL SUELO COMO INDICADORES DE LA SALUD DEL SUELO.*-----33  
*CUADRO 2 ESTUDIOS RELACIONADOS CON LOS EFECTOS DE LOS METALES PESADOS EN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DEL SUELO.* ----39  
*CUADRO 3 CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS EN UNA LOCALIDAD DE CERRO DE SAN PEDRO.* -----61  
*CUADRO 4 CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS EN UNA LOCALIDAD DE CHARCAS.* -----62  
*CUADRO 5 CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS EN UNA LOCALIDAD DE CEDRAL.* -----63  
*CUADRO 6 CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS EN UNA LOCALIDAD DE VILLA DE LA PAZ.*-----65  
*CUADRO 8 CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL SUELO EN UNA LOCALIDAD DE CERRO DE SAN PEDRO.* -----76  
*CUADRO 9 CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL SUELO DE UNA LOCALIDAD DE CHARCAS.* -----77  
*CUADRO 10 CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL SUELO DE UNA LOCALIDAD DE CEDRAL.* -----78  
*CUADRO 11 CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL SUELO DE UNA LOCALIDAD DE VILLA DE LA PAZ.* -----79  
*CUADRO 12 ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y METALES PESADOS.* -----86  
*CUADRO 13 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA POR TIPO DE SITIO.*-----87  
*CUADRO 14 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA POR TIPO DE SITIO.*-----88  
*CUADRO 15 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA POR TIPO DE SITIO.*-----89  
*CUADRO 16 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA POR TIPO DE SITIO.*-----90  
*CUADRO 17 MODELO LINEAL BASADO EN DISTANCIA (DISTLM) PARA LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA DESHIDROGENASA.* -----93  
*CUADRO 18 MODELO LINEAL BASADO EN DISTANCIA (DISTLM) PARA LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA GALACTOSIDASA.* -----95  
*CUADRO 19 MODELO LINEAL BASADO EN DISTANCIA (DISTLM) PARA LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA FOSFATASA.* -----97  
*CUADRO 20 MODELO LINEAL BASADO EN DISTANCIA (DISTLM) PARA LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA UREASA.* ----- 101  
*CUADRO 21 MODELO LINEAL BASADO EN DISTANCIA (DISTLM) PARA LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA GLUCOSIDASA.* ----- 104  
*CUADRO 22 MODELO LINEAL BASADO EN DISTANCIA (DISTLM) PARA LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA ARILSULFATASA.* ----- 107

**TABLA DE FIGURAS**

*FIGURA 1 PUNTOS CLAVES PARA MONITOREAR LA SALUD DEL SUELO. .... 16*

*FIGURA 2 POTENCIAL MINERO EN LA REPÚBLICA MEXICANA. CU (COBRE), MO (MOLIBDENO) AU (ORO), AG(PLATA) Pb (PLOMO),  
FE (FIERRO) Y ZN (ZINC). .... 24*

*FIGURA 3 LOCALIZACIÓN DE LAS ENZIMAS EN SUELO. .... 32*

*FIGURA 4 SITIO DE REFERENCIA EN CEDRAL. .... 45*

*FIGURA 5 SITIO CONTAMINADO EN CEDRAL. .... 46*

*FIGURA 6 SITIO DE REFERENCIA EN CHARCAS. .... 47*

*FIGURA 7 SITIO CONTAMINADO EN CHARCAS. .... 47*

*FIGURA 8 SITIO DE REFERENCIA EN CERRO DE SAN PEDRO. .... 49*

*FIGURA 9 SITIO CONTAMINADO EN CERRO DE SAN PEDRO ..... 49*

*FIGURA 10 SITIO DE REFERENCIA EN VILLA DE LA PAZ ..... 51*

*FIGURA 11 SITIOS CONTAMINADO EN VILLA DE LA PAZ. .... 52*

*FIGURA 12 SITIOS DE MUESTREO. .... 52*

*FIGURA 13 ALMACENAMIENTO EN CONTENEDORES. .... 53*

*FIGURA 14 RESGUARDO EN REFRIGERADOR. .... 54*

*FIGURA 15 CONCENTRACIÓN DE ARSÉNICO EN SITIOS PROBLEMA. EN EL GRÁFICO SE EXPRESA LA MEDIANA Y EL RANGO  
INTERCUARTIL. LAS LETRAS A Y B REPRESENTAN LA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA OBTENIDA MEDIANTE EL ANÁLISIS KRUSKAL  
WALLIS. CERRO DE SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). LÍMITE PERMISIBLE DE LA  
NORMA ESTADOS UNIDOS (USA), LÍMITE PERMISIBLE DE LA NORMA CANADIENSE (CAN) Y LÍMITE PERMISIBLE DE NORMA  
MEXICANA (MEX). .... 67*

*FIGURA 16 CONCENTRACIÓN DE CADMIO EN SITIOS PROBLEMA. EN EL GRÁFICO SE EXPRESA LA MEDIANA Y EL RANGO INTERCUARTIL.  
LAS LETRAS A Y B REPRESENTAN LA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA OBTENIDA MEDIANTE EL ANÁLISIS KRUSKAL WALLIS. CERRO DE  
SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). LÍMITE PERMISIBLE DE LA NORMA ESTADOS  
UNIDOS (USA), LÍMITE PERMISIBLE DE LA NORMA CANADIENSE (CAN) Y LÍMITE PERMISIBLE DE NORMA MEXICANA (MEX).  
..... 69*

*FIGURA 17 CONCENTRACIÓN DE COBRE EN SITIOS PROBLEMA. EN EL GRÁFICO SE EXPRESA LA MEDIANA Y EL RANGO INTERCUARTIL.  
LAS LETRAS A Y B REPRESENTAN LA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA OBTENIDA MEDIANTE EL ANÁLISIS KRUSKAL WALLIS. CERRO DE  
SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). LÍMITE PERMISIBLE DE LA NORMA ESTADOS  
UNIDOS (USA), LÍMITE PERMISIBLE DE LA NORMA CANADIENSE (CAN) Y LÍMITE PERMISIBLE DE NORMA MEXICANA (MEX).  
..... 70*

*FIGURA 18 CONCENTRACIÓN DE MAGNESIO EN SITIOS PROBLEMA. EN EL GRÁFICO SE EXPRESA LA MEDIANA Y EL RANGO  
INTERCUARTIL. LAS LETRAS A Y B REPRESENTAN LA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA OBTENIDA MEDIANTE EL ANÁLISIS KRUSKAL  
WALLIS. CERRO DE SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). LÍMITE PERMISIBLE DE  
LA NORMA ESTADOS UNIDOS (USA), LÍMITE PERMISIBLE DE LA NORMA CANADIENSE (CAN) Y LÍMITE PERMISIBLE DE NORMA  
MEXICANA (MEX). .... 71*

*FIGURA 19 CONCENTRACIÓN DE PLOMO EN SITIOS PROBLEMA. EN EL GRÁFICO SE EXPRESA LA MEDIANA Y EL RANGO INTERCUARTIL.  
LAS LETRAS A Y B REPRESENTAN LA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA OBTENIDA MEDIANTE EL ANÁLISIS KRUSKAL WALLIS. CERRO DE  
SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). LÍMITE PERMISIBLE DE LA NORMA ESTADOS  
UNIDOS (USA), LÍMITE PERMISIBLE DE LA NORMA CANADIENSE (CAN) Y LÍMITE PERMISIBLE DE NORMA MEXICANA (MEX).  
..... 73*

*FIGURA 20 CONCENTRACIÓN DE ZINC EN SITIOS PROBLEMA. EN EL GRÁFICO SE EXPRESA LA MEDIANA Y EL RANGO INTERCUARTIL.  
LAS LETRAS A Y B REPRESENTAN LA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA OBTENIDA MEDIANTE EL ANÁLISIS KRUSKAL WALLIS. CERRO DE  
SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). LÍMITE PERMISIBLE DE LA NORMA ESTADOS  
UNIDOS (USA), LÍMITE PERMISIBLE DE LA NORMA CANADIENSE (CAN) Y LÍMITE PERMISIBLE DE NORMA MEXICANA (MEX).  
..... 75*

*FIGURA 21 PORCENTAJES DE ARCILLA EN SITIOS PROBLEMA. EN EL GRÁFICO SE PRESENTA LA MEDIANA, EL RANGO INTERCUARTIL Y EL  
PORCENTAJE DENTRO DE LAS BARRAS INDICA EL DECREMENTO CON RESPECTO AL SITIO DE REFERENCIA. LAS LETRAS A Y B  
REPRESENTAN LA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA OBTENIDA MEDIANTE EL ANÁLISIS KRUSKAL WALLIS. CERRO DE SAN PEDRO  
(CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). .... 81*

FIGURA 22 PORCENTAJE DE MATERIA ORGÁNICA EN SITIOS PROBLEMA. EN EL GRÁFICO SE PRESENTA LA MEDIANA, EL RANGO INTERCUARTIL Y EL PORCENTAJE DENTRO DE LAS BARRAS INDICA EL DECREMENTO CON RESPECTO AL SITIO DE REFERENCIA. LAS LETRAS A Y B REPRESENTAN LA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA OBTENIDA MEDIANTE EL ANÁLISIS KRUSKAL WALLIS. CERRO DE SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ. ....	82
FIGURA 23 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA EN SITIOS PROBLEMA. EN EL GRÁFICO SE PRESENTA LA MEDIANA, EL RANGO INTERCUARTIL Y EL PORCENTAJE DENTRO DE LAS BARRAS INDICA EL AUMENTO CON RESPECTO AL SITIO DE REFERENCIA. LAS LETRAS A Y B REPRESENTAN LA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA OBTENIDA MEDIANTE EL ANÁLISIS KRUSKAL WALLIS. CERRO DE SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED), VILLA DE LA PAZ (VLP). ....	84
FIGURA 24 pH EN SITIOS PROBLEMA. EN EL GRÁFICO SE PRESENTA LA MEDIANA, EL RANGO INTERCUARTIL Y EL PORCENTAJE DENTRO DE LAS BARRAS INDICA EL DECREMENTO CON RESPECTO AL SITIO DE REFERENCIA. LAS LETRAS A Y B REPRESENTAN LA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA OBTENIDA MEDIANTE EL ANÁLISIS KRUSKAL WALLIS. CERRO DE SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). ....	85
FIGURA 25 INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA POR SITIOS CERRO DE SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). N=200. ....	91
FIGURA 26 EFECTO DEL Pb SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA DESHIDROGENASA. ....	93
FIGURA 27 INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA POR SITIOS, CERRO DE SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). N=200. ....	94
FIGURA 28 EFECTO DEL Mn SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA GALACTOSIDASA. ....	95
FIGURA 29 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN SITIOS PROBLEMA, CERRO DE SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). N=200. ....	96
FIGURA 30 EFECTO DEL Mn SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA. ....	98
FIGURA 31. % DE INHIBICIÓN DE LA UREASA EN SITIOS PROBLEMA, CERRO DE SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). N=200. ....	99
FIGURA 32 EFECTO DE LA CE SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA UREASA. ....	101
FIGURA 33 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN SITIOS PROBLEMA, CERRO DE SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). N=200. ....	102
FIGURA 34 EFECTO DEL Cu SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA GLUCOSIDASA. ....	105
FIGURA 35 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN SITIOS PROBLEMA, CERRO DE SAN PEDRO (CSP), CHARCAS (CHA), CEDRAL (CED) Y VILLA DE LA PAZ (VLP). ....	106
FIGURA 36 EFECTO DE LA CE SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA ARILSULFATASA. ....	108
FIGURA 37 UBICACIÓN DE LOS PUNTOS MUESTREADOS EN CHARCAS. ....	159
FIGURA 38 UBICACIÓN DE LOS PUNTOS MUESTREADOS EN CERRO DE SAN PEDRO. ....	159
FIGURA 39 UBICACIÓN DE LOS PUNTOS MUESTREADOS EN VILLA DE LA PAZ. ....	160

# CAPÍTULO 1

---

## 1. INTRODUCCIÓN

En México, la minería es una de las actividades económicas de mayor tradición, la cual se ha desarrollado por casi cinco siglos (Moreno *et al.*, 2009). Esta actividad se distingue por sus diferentes efectos, magnitudes e impactos ambientales que por lo regular suelen ser negativos, los cuales pueden ser de dos tipos: el primero incluye la modificación de paisaje, hábitat, régimen hidrológico, cambios en la topografía, entre otros; y el segundo es la contaminación por el manejo inadecuado de residuos generados en la etapa de extracción y procesamiento de minerales, este tipo de residuos suelen ser acompañados de altas concentraciones de metales y metaloides (Rodríguez, 2011). Entre los principales tipos de yacimientos que se han explotado en México están los: epitermales, los de metasomatismo de contacto o *skarn*, los sulfuros vulcanogénéticos y yacimientos del tipo pórfido cuprífero. A mediados del siglo XX con el avance de la tecnología se comenzaron a utilizar procesos metalúrgicos como la flotación y la cianuración. En estos yacimientos y procesos modernos existen minerales de importancia económica y no económica, los cuales son tratados por diferentes procesos físicos y químicos. Debido a estas actividades se produjo durante este periodo la acumulación de residuos mineros (jales) (Martín y Gutiérrez, 2010). Los jales son residuos sólidos generados en las operaciones primarias de separación y concentración de minerales (NOM-141-SEMARNAT-2003). Generalmente este tipo de jales contiene sulfuros metálicos residuales como: la pirita, pirrotita, galena, esfalerita, calcopirita y arsenopirita, que son fuente de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT) como: arsénico (As), cadmio (Cd), plomo (Pb), cobre (Cu), Zinc (Zn), hierro (Fe), etc. Las partículas de este material pueden ser depositadas directamente sobre la superficie del suelo y dispersadas con facilidad por el viento al ambiente (Rico *et al.*, 2013). Los jales mineros constituyen un foco de contaminación para los organismos que se establecen sobre ellos, como plantas, cultivos, la población aledaña (Razo, 2006, Bocanegra, 2006, Díaz Barriga, 1999, Yáñez *et al.*, 2003, Gonzáles-Mille, 2006) y sus principales efectos son: la

generación de drenaje ácido y su dispersión a través de escurrimientos superficiales en el ambiente (Romero *et al.*, 2007).

La necesidad de estudiar la contaminación de los metales pesados en el suelo, radica en el impacto que puede tener en la funcionalidad de los sistemas ecológicos y productivos. Es común que en sitios cercanos a minas y fundiciones de metales se encuentren áreas extensas con presencia de cobre, cadmio, arsénico, plomo, entre otros; los cuales en altas concentraciones tienen efectos tóxicos y son considerados contaminantes ambientales capaces de alterar a los ecosistemas (Alcalá *et al.*, 2012, Ruiz y Armienta, 2012). La actividad biológica como: la actividad enzimática presente en el suelo es un excelente indicador de la salud del suelo, debido a que puede ser usada como biosensor para detectar alteraciones en los procesos biológicos y bioquímicos del suelo, causados por factores ambientales adversos (Alvear *et al.*, 2007).

En San Luis Potosí existe un gran potencial de minerales metálicos y no metálicos, distribuidos en 14 regiones mineras activas. Se seleccionaron cuatro zonas las cuales fueron: 1) Villa de la Paz, su explotación comenzó partir de 1870 y tiene una producción de metales preciosos como plata, oro, plomo, cobre, zinc y manganeso; 2) Cerro de San Pedro, lugar explotado desde 1595, rico en oro, plata, manganeso, mercurio, plomo y cobre; 3) Charcas, explotado desde 1563, es rico en cobre, zinc, plata y oro; y 4) Cedral, el cual se comenzó a explotar a partir de 1726, cuando este pueblo sufrió una transformación debido a que los metales en bruto producidos en Real de Catorce se trasladaron a Cedral con el fin de beneficiar varias haciendas (INAFED, 2014). Estos sitios fueron elegidos por su importante actividad minera con la finalidad de cuantificar los niveles de As, Cd, Cu, Mn, Pb y Zn en el suelo. Debido a los contaminantes (metales pesados) resultado de las excavaciones mineras, en este estudio se pretende evaluar la salud del suelo la cual está relacionada con su fertilidad, productividad potencial, sostenibilidad y calidad ambiental (Alcalá *et al.*, 2012) de cuatro sitios mineros de San Luis Potosí, mediante la medición de la actividad enzimática del suelo y sus propiedades físicas y químicas.

## **2. ANTECEDENTES**

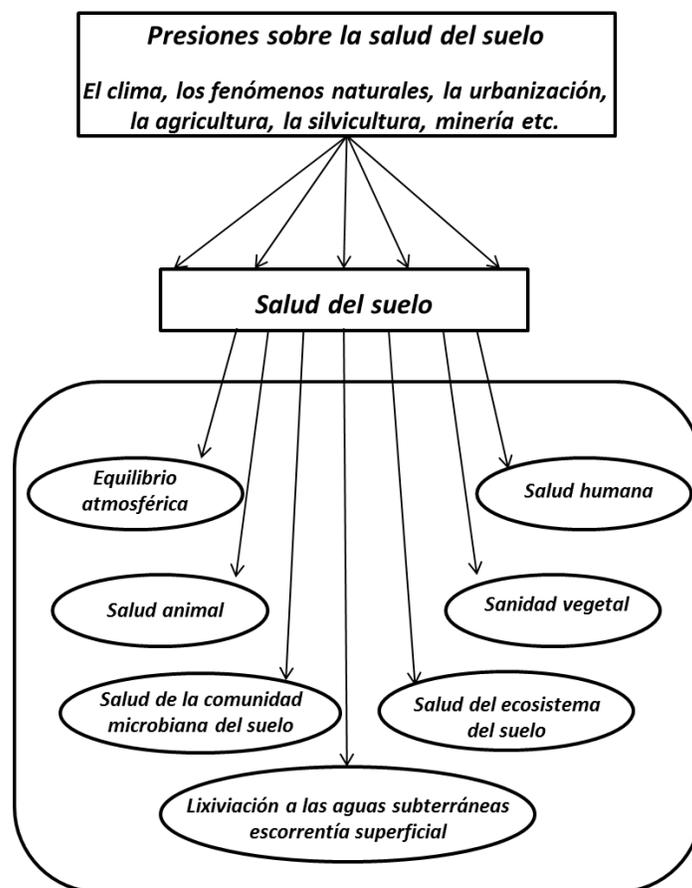
### **2.1. Suelo**

El suelo es un sistema biológicamente activo, compuesto de material mineral y orgánico, brinda soporte, aporta nutrientes, almacena agua que requieren las plantas para su desarrollo, es fundamental en todos los procesos ecosistémicos y actúa como filtro de los efectos de diversos contaminantes. Su funcionamiento es clave para la producción de alimentos y para el mantenimiento de la calidad ambiental a escala local, regional y global. No sólo es la base para la agricultura y para los diferentes ecosistemas, sino que además de él depende toda la vida del planeta (Sumner, 2000, Ochoa *et al.*, 2007, Semarnat, 2008, Sagarpa, 2012). En el suelo existen microorganismos vivos como: bacterias, hongos, protozoarios y nematodos; existe mesofauna los cuales son ácaros y colémbolos, también encontramos la macrofauna que son lombrices y termitas. Estos microorganismos pueden interactuar entre sí, con la biota y con las plantas formando un complejo de sistemas de actividad biológica. Este sistema complejo contribuye para la sostenibilidad de los ecosistemas y para el manejo de los sistemas agrícolas. Los microorganismos actúan principalmente en la conducción de los ciclos de los nutrientes, la regulación de la dinámica de la materia orgánica del suelo, el secuestro del carbono en el suelo, las emisiones de gases de invernadero, modifican la estructura física del suelo, almacenamiento de agua, disponibilidad de nutrientes para la vegetación y aumentando la salud de la planta, por lo cual son parte fundamental en el mantenimiento de la salud del suelo (FAO, 2015).

La interacción de factores ambientales y humanos ha ocasionado una degradación del suelo, debido a esto, una gran parte de los suelos de los ecosistemas naturales presentan una degradación en sus diferentes procesos y niveles. En el caso de los ecosistemas manejados como: agricultura, ganadería y bosques cultivados; el 70 % resulta afectado por algún tipo de degradación, siendo la química la de mayor afectación sobre estos ecosistemas (SEMARNAT, 2008). La degradación de los suelos puede afectar la calidad de este mismo, se puede hablar de dos tipos de degradación: la primera, por desplazamiento de material edáfico, aquí podemos encontrar la erosión hídrica y eólica; y la segunda, se refiere a un deterioro interno subdividido en degradación química, física y biológica. En la degradación

química encontramos pérdida de nutrientes, contaminación, acidificación y salinización. En la degradación física encostramiento, compactación y deterioro de la estructura del suelo. Y en la degradación biológica pérdida de actividad microbiana y actividad enzimática. (Cotler *et al.*, 2008).

Es importante mantener la salud del suelo íntegra, ya que interactúa o se relaciona con las actividades que realiza la humanidad. Al actuar de manera irresponsable realizando cualquier tipo de degradación, solo se está ocasionando el colapso de los ciclos globales que hacen posible la vida. La degradación de los suelos se debe a los factores que pueden ocasionar algún tipo de presión sobre ellos (Fig. 1). Sin embargo, el suelo es un componente que está expuesto no solo a un factor, si no que puede verse presionado por varios factores a la vez lo cual aumenta la problemática al igual que la degradación.



(S. K. Das y A. Varma, 2011)

**Figura 1** Puntos claves para monitorear la salud del suelo.

### **2.1.1. Formación del suelo**

Los principales procesos para la formación del suelo son: la meteorización, acumulación, remoción, traslocación y transformación. La meteorización consiste en la transformación física de las rocas sin variar su composición química. Esto da lugar a una capa material suelta que yace sobre la roca sólida, esta capa puede ser fina u ocupar varias decenas de metros de profundidad. A esta zona se le conoce como frente de meteorización, ya que es donde este proceso es más activo. La composición mecánica, química y mineralógica de los suelos de las primeras etapas de desarrollo es determinada por la composición de las rocas, solo después de esto se forman suelos maduros con horizontes bien diferenciados. Las rocas pueden ejercer influencia en la formación de diferentes regímenes hídrico, térmico y gaseoso (Hernández, 2006).

Durante la meteorización química se conduce a la formación de minerales secundarios a partir de la reacción que se lleva a cabo entre el agua o elementos ácidos con el material parental. La rapidez de este tipo de meteorización dependerá de la temperatura y la humedad. En este proceso el agua es fundamental, ya que el dióxido de carbono se disuelve en el agua de lluvia la cual es ligeramente ácida (pH 5.6), debido a esto las precipitaciones hacen que algunos minerales por su solubilidad o inestabilidad a las condiciones de la superficie del suelo se disuelvan lentamente dando lugar a productos secundarios como minerales arcillosos, hierro, dióxidos de aluminio, carbonatos y nutrientes como calcio y potasio. Los procesos como el anterior el agua puede disociarse en hidrógeno, con carga positiva (H<sup>+</sup>) e hidroxilo, con carga negativa (OH<sup>-</sup>). El ion hidrógeno debido a su carga positiva altera el balance de la carga minerales provocando la liberación de cationes en el suelo (Bohn, 1993).

La meteorización biológica es generada principal mente por las actividades de organismos vivos con ayuda de componentes físicos y químicos. Este tipo de meteorización suele ser causada por la actividad microbiana, interacción de la roca con la raíces mediante ácidos orgánicos mediante un ciclo biológico: Suelo-Plantas-Microorganismos-Suelo. Esto da lugar a la formación de proteínas, carbohidratos, lípidos entre otros, mediante las plantas. Y los microorganismos descomponen la materia orgánica, regresando al suelo los elementos

minerales. La característica principal es que este tipo de transformación se lleva a cabo en un tiempo corto comparado con la meteorización química y física (Hernández, 2006).

### **2.1.2. Materia Orgánica**

Se conforma principalmente por residuos vegetales y al ser incorporados al suelo los compuestos orgánicos se descomponen mediante procesos biológicos donde el colapso físico y la transformación bioquímica de las moléculas de los complejos orgánicos de los materiales muertos se convierten en moléculas simples e inorgánicas. Los residuos vegetales contienen principalmente compuestos complejos de carbono los cuales contienen cantidades variables de oxígeno, hidrogeno, nitrógeno, fosforo y azufre que a su vez son la base para los azucres simples y aminoácidos (Juma, 1998). La descomposición sucesiva del material muerto y La materia orgánica resulta en la formación de un tipo de materia orgánica denominado humus (sustancias húmicas complejas como: ácido húmico, huminas y ácidos fúlvicos) el cual tiene una complejidad mayor ya que puede afectar las propiedades del suelo incrementando la agregación del suelo, la capacidad de intercambio catiónico, aporta nitrógeno, fosforo y otros microelementos durante su descomposición y mantiene la estructura del suelo debido a que sin humus los suelos con altos contenidos de limo y arcilla se compactaría. En la materia orgánica también existen sustancia vitales que son liberadas por células como: proteínas, aminoácidos, carbohidratos, polisacáridos lípidos y almidones (Jackson, 1993).

El humus o la materia orgánica humificada es el material que contiene carbono más ampliamente distribuido en los medios terrestres, tiene la capacidad de interactuar con iones metálicos, óxidos, hidratos, minerales y sustancias orgánicas formando complejos que pueden ayudar a disolver, movilizar y transportar metales y sustancias orgánicas en los suelos (disponibilidad de los nutrientes) (Edwards, 2000).

### **2.1.3. pH del suelo**

El pH es una propiedad química de los suelos tiene una importante efecto den el desarrollo de los seres vivos y se refiere a la concentración de iones hidrogeno activos ( $H^+$ ) que se da en la interface líquida del suelo. La concentración de hidrógenos es fundamental en los

procesos físicos, químicos y biológicos. La acidificación del suelo es un proceso que se genera durante la pedogénesis, aquí ocurre una continua meteorización química, la cual consiste en la pérdida de cationes alcalinos y alcalinotérreos ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ) e incremento concomitantes de cationes metálicos ( $Al^{+3}$ ,  $Fe^{+3}$ ,  $Mn^{+4}$ ). Los iones que conforman los minerales, al encontrarse en la superficie, cambian lentamente a estados químicos más estables. Sin embargo los cambios más grandes los ocasionan condiciones químicas como la exposición al agua, al oxígeno, al bióxido de carbono y a compuestos orgánicos. La combinación de estos minerales con el agua ocasiona que se disuelvan liberando cationes y aniones los cuales media el pH del suelo (Zapata, 2002).

#### **2.1.4. Conductividad Eléctrica**

Las condiciones climáticas en que la precipitación en  $mm^3$  por año es menor que la evaporación del suelo, incluida la transpiración de plantas y asociado a condiciones de drenaje imperfecto se produce en el suelo un acumulo de sales insolubles, de sodio intercambiables en forma diferencia en los horizontes del suelo (Nuñez, 1997).

Las sales solubles en agua que el yeso (sulfato de calcio,  $CaSO_4$ ); sin embargo, las de mayor interés para los suelos son los sulfatos ( $SO_4^{2-}$ ), bicarbonatos ( $HCO_3^-$ ) y los cloruros ( $Cl^-$ ) de bases de  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  y  $Na^+$ , y las que más predominan en los suelos salinos son los cloruros y sulfatos (Plaster, 2000). Este acumulo de sales ocurre mediante el movimiento desde capas inferiores hasta la superficie por capilaridad al llevar a la superficie el agua se evapora y las sales precipitan acumulándose puntualmente (Nuñez, 1997).

## **2.2. Relaciones del suelo**

### **2.2.1. Relación Suelo-Planta**

En el suelo existen elementos como C, H, O, N, P, S, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Mo, B, Zn, Cl, y Ni, estos elementos han sido identificados como esenciales para el crecimiento de las plantas, debido a que las plantas no pueden completar su ciclo de vida y funciones fisiológicas normales en ausencia de estos elementos (Malavolta *et al.*, 1992). El crecimiento de las plantas está mediado por la presencia y ausencia de estos elementos en el

suelo. Una parte importante para mantener la salud del suelo es la radícula de la planta, esto debido a que las raíces de las plantas forman parte de la biota del suelo, al igual que ayudan a la adsorción y funcionan como dispositivos de anclaje. Las raíces tienen varias funciones como: almacenamiento de alimento y agua, propagación, neumatóforos, raíces parasitarias y micorrizas. Algunas de estas raíces pueden ayudar a la aglutinación del suelo. Una vez que las raíces mueren pueden dejar canales que llevan agua y oxígeno a los microorganismos que viven en el suelo. Al igual que ayudan a traer nutrientes de las capas más profundas de los suelos a las capas superficiales. Las plantas con un sistema radicular expansivo tiene mayor capacidad de absorber agua, oxígeno y nutrientes del suelo. La función ecológica más importante de las raíces puede ser la modulación de la actividad biológica del suelo. Se ha determinado que las raíces finas y delgadas son componentes principales de la biomasa subterránea, también son las principales fuentes de dióxido de carbono en el suelo. Las plantas pueden fijar carbono en las hojas durante la fotosíntesis, el carbono captado se lleva a las raíces a través del floema y se mueve al suelo como una mezcla de sustancias solubles e insolubles junto con las células desprendidas, a este proceso se le conoce como rhizodeposición (Osman, 2013). Las raíces de las plantas interactúan con los microorganismos del suelo como: *Azospirillum*, *Azotobacter* entre otros, y los podemos encontrar en la rizosfera. Estos microorganismos utilizan los metabolitos (aminoácidos, ácidos grasos, hidratos de carbono, vitaminas, polisacáridos, proteínas, enzimas, glucósidos, auxinas, ácido cianhídrico y saponinas) secretados por las raíces y de esta manera pueden influir en el crecimiento y desarrollo de las plantas, debido a esta característica tales bacterias son conocidas como promotoras de crecimiento (Olalde y Aguilera, 1998). Sin embargo, las plantas también necesitan los microorganismos del suelo pues estos mineralizan la materia orgánica y llevan a cabo transformaciones que ayudan a la disponibilidad de los nutrientes para las plantas. En la rizosfera las plantas llevan a cabo interacciones químicas, físicas y biológicas con el entorno del suelo, estas interacciones son muy complejas e interactúan con las raíces al mismo tiempo (Osman, 2013).

### **2.2.2. Relación Suelo-Biota**

El suelo es uno de los hábitats menos estudiados de la tierra, pero también es el sistema con mayor número de organismos vivos. Es un sistema complejo ya que contiene miles de organismos diferentes, a su vez estos organismos interactúan en los ciclos globales haciendo posible toda forma de vida. Son esenciales para el funcionamiento de un ecosistema, pues estos organismos actúan como agentes conductores en los ciclos de los nutrientes, la fijación del carbono, las emisiones de gases invernadero y funciones que representan servicios indispensables para el suelo y el ser humano. La biodiversidad del suelo tiene un papel importante en la fertilidad de este mismo, así como en su rehabilitación, absorción de nutrientes por las plantas, en los procesos de biodegradación, reducción de la materia orgánica, fijación de nitrógeno y control de plagas de forma natural. Las especies y la diversidad dependerá de factores como la aireación, temperatura, acidez, humedad, contenido de nutrientes y sustrato orgánico. Sin embargo las actividades antropogénicas (agricultura, minería, urbanización, etc.) están alterando estas variables y ocasionando una pérdida de estos organismos en suelos (FAO, 2015).

### **2.2.3. Relación Suelo-Salud humana**

El sistema del suelo no solo está relacionado con el medio ambiente (aire, agua, roca y planta), sino que también con las actividades que pueden llegar a condicionar sus propiedades y funciones, tales actividades son: sociales, económicas, culturales y sanitarias. A lo largo de la existencia de la humanidad el suelo no ha sido tomado en cuenta como un sistema biológicamente activo. Sin embargo la relación que tenemos con el suelo no es comúnmente mencionada; y ha tomado cada vez mayor relevancia debido a la relación Suelo-Salud humana. A mediados de los ochenta comenzó a tomar importancia este tema mencionado por primera vez por la Organización Mundial de la Salud en 1991, y en 2002 publicó en el VI Programa del Marco Europeo de Medio Ambiente lo siguiente: *En las últimas décadas ha habido una concientización cada vez mayor de la calidad del aire, agua, suelo y de los alimentos que influyen en la calidad de nuestra salud y de nuestras vidas.* La comisaria de medio ambiente de la Unión Europea publica en este mismo año lo siguiente: *a partir de ahora la protección de los suelos estará al mismo nivel que la*

*conservación de la calidad del agua y aire. Durante demasiado tiempo hemos ignorado la situación de los suelos. Sin embargo, la erosión, la contaminación y la necesidad de mantener los suelos, son problemas acuciantes en toda la unión europea (FAO, 2015).*

Las propiedades del suelo intervienen en el proceso de retención y movilización de contaminantes, afectando la cadena trófica o a las aguas subterráneas (Sombroek *et al.*, 1993). Inhalar o ingerir el polvo de suelos con presencia de contaminantes en jardines, parques, casas e incluso el que se pega a nuestro cuerpo, ocasiona un riesgo que tiene una directa relación con enfermedades patológicas como: asma, dermatitis, afectaciones a los riñones y corazón, intoxicación o acumulación de metales pesados dentro de nuestro organismo (López, 2015).

El contacto con la naturaleza cada vez es menos frecuente entre las sociedades, debido a esto perdemos o desconocemos la importancia de los suelos para nuestra supervivencia y prosperidad. Los suelos tienen importantes funciones en los ecosistemas, de las cuales se derivan servicios ambientales indispensables para el sostenimiento de la vida humana y de los ecosistemas. Tales servicios pueden ser soporte y nutrientes para las plantas. La contaminación de los suelos es considerada como el mayor problema ambiental que amenaza la producción mundial de alimentos (Cotler *et al.*, 2008).

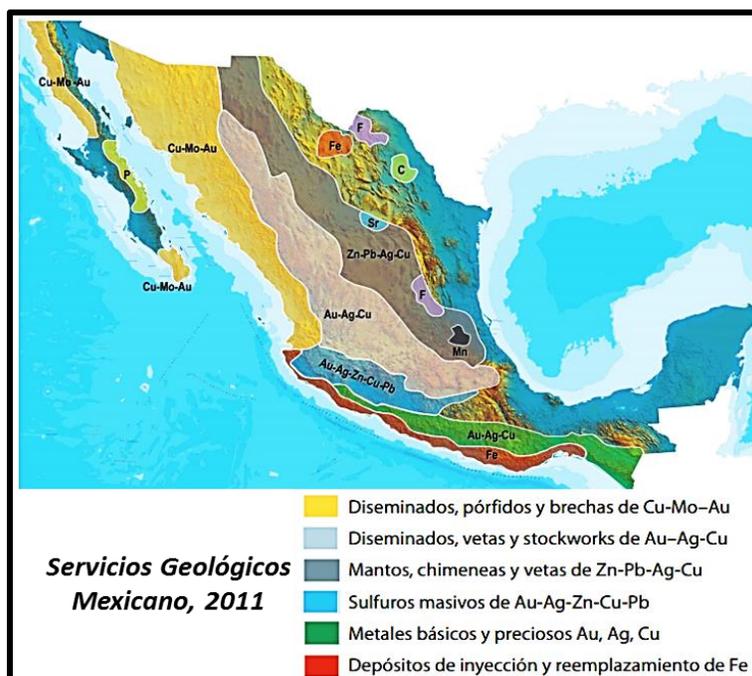
#### **2.2.4. Relación Suelo-Metales pesados**

La presencia de concentraciones nocivas de algunos elementos químicos y compuestos (contaminantes) en los suelos, son un tipo especial de degradación que se denomina contaminación. Los metales pesados, y en general los elementos traza están presentes en bajas concentraciones en la corteza terrestre. Los metales pesados no tienen origen biológico sin embargo, algunos de estos metales son esenciales para el desarrollo de las plantas, animales y seres humanos. Los metales pueden abandonar un suelo por volatilización, disolución, lixiviado o erosión, y pasar a los organismos cuando pueden ser asimilables, lo que normalmente ocurre cuando se encuentran en forma soluble. (Galán y Romero, 2008). El destino de los metales pesados en el suelo depende de procesos edafogénicos y propiedades como: el contenido de materia orgánica, carbonatos y

oxihidróxidos de hierro y magnesio, de la proporción y tipo de minerales de la arcilla, de la capacidad de intercambio catiónico de suelo, del pH y CE, textura, permeabilidad y actividad microbiana (Lugo *et al.*, 2003).

### 2.3. La Minería en México

México cuenta con una amplia riqueza de minerales en todo el territorio nacional, tanto en minerales metálicos como de no metálicos. Más del 70 % de nuestro país tiene un potencial minero importante (Figura 2). En nuestro país se encuentran depósitos de clase mundial como son las salinas de Guerrero Negro, las más grandes del planeta; el yeso de la Isla San Marcos y de la costa oriental de la península de Baja California, con reservas de 70 años; Las Cuevas, la mina más grande de fluorita en el mundo; Fresnillo, el yacimiento de plata más rico y más grande que haya descubierto la humanidad; Molango, el depósito más importante de manganeso en Norte América; las minas de carbón de la Cuenca de Río Escondido, entre otras. Además, el sector minero mexicano se mantiene como líder mundial en la producción de plata y en 2001 se ubicó en los primeros diez lugares de producción mundial de 18 minerales (Musik, 2004).



*Figura 2 Potencial Minero en la República Mexicana. Cu (cobre), Mo (molibdeno) Au (oro), Ag(plata) Pb (Plomo), Fe (Fierro) y Zn (zinc).*

#### **2.4. Minería en San Luis Potosí**

El estado de San Luis Potosí está relacionado con la minería desde 1561 con el descubrimiento de mineral que correspondió a “Las Reales Salinas de Peñón Blanco”. Después de esto se comenzó a registrar la existencia de otras minas como: la del Mineral de Charcas, en 1592 el Capitán Caldera registró las “Minas de San Pedro”, en 1608 se descubrió la formación del mineral de Villa de Ramos, en 1743 se descubrieron más de 80 minas, la mayor parte en el Cerro de San Cristóbal, en 1772 se descubrió la minería en Real de Catorce entre otras (SGM, 2014). En la actualidad es uno de los estados con mayor participación minera aportando el 5.18% del valor total de la producción minera nacional (CGMINERÍA, 2012). El Estado de San Luis Potosí se distingue por tener distritos mineros que destacan por su actividad como: metálicos, en estos distritos podemos encontrar a Cerro de San Pedro, Charcas, Villa de la Paz, y en los distritos no metálicos encontramos a Las Cuevas, Cementos Moctezuma y Cementos Mexicanos. Las principales minas en explotación en el estado de San Luis Potosí están ubicadas en los municipios de Cerro de San Pedro (Au, Ag), Charcas (Au, Ag, Pb, Zn), Villa de la Paz (Au, Ag, Cu) y Santo Domingo (Mn) (SGM, 2014).

#### **2.5. Metales Pesados**

Son elementos que muestran propiedades metálicas, como ductilidad, maleabilidad, conductividad, estabilidad de catión y la especificidad del ligando. Poseen una alta densidad y elevado peso atómico. Algunos metales pesados son necesarios para el mantenimiento de la vida en bajas concentraciones como: Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, V y Zn. Concentraciones elevadas en el ambiente representan riesgo para los organismos. Otros metales como Pb, Cd, Hg y As no aportan ningún beneficio a los organismos y son considerados como tóxicos convirtiéndose en perjudiciales para las plantas y animales (Raskin *et al.*, 1994)

A lo largo del tiempo el hombre ha adquirido el conocimiento para utilizar los metales pesados, logrando una dependencia importante hacia estos elementos. Esta relación existe desde la aparición de la metalurgia en la edad de cobre y bronce. Los metales pesados son componentes del entorno geológico y algunos son esenciales para los procesos biológicos enzimáticos de los que depende la vida. Sin embargo, una exposición crónica a bajas concentraciones representa riesgo para el medio ambiente y la salud humana. Para lo cual, una caracterización de los procesos implicados de transporte y migración de los contaminantes, es de vital importancia en el proceso de evaluación de riesgos. La Agencia de Protección Ambiental (EPA) actualmente incluye en la lista de contaminantes prioritarios los siguientes elementos traza: antimonio, arsénico, berilio, cadmio, cromo, cobre, plomo, mercurio, níquel, selenio, plata, talio y zinc (Stone y O'Shaughnessy, 2005).

Los metales pesados tienden a acumularse en distintos órganos de un individuo ya sea animal (hígado, riñón) o vegetal (Hoja, raíz), existe una cantidad importante de información sobre los efectos de estos en el peso, la reproducción y la mortalidad de los organismos (Oropesa *et al.*, 2005; González-Mille, 2006; Prieto *et al.*, 2009; Alcalá *et al.*, 2013). Los contaminantes metálicos y metaloides son capaces de causar una disminución en la población debido a los efectos tóxicos que pueden causar en la flora y fauna de un ecosistema y de esta manera causar la eliminación de depredadores o competencia. En los microorganismos como bacterias y hongos se acumulan en las superficies celulares, causando efectos en la mortalidad, reproducción y tasa de crecimiento. Cuando existe una alta concentración de algún metal sin importar la etapa del ciclo de vida bajo estudio esta se ve afectada de manera perjudicial y esto ocurre debido a una combinación de la disponibilidad del metal, la vía de exposición, duración de la exposición, propiedades químicas y físicas del suelo. (Hodson, 2012).

Todas las especies de plantas responden al aumento de concentraciones de metales en suelo, mediante la absorción y la acumulación a través de la solución del suelo quien los moviliza hasta las raíces, parte de la planta donde se lleva a cabo la absorción o adsorción (Adriano, 2006). Una vez absorbidos los metales tienden a acumularse en las raíces siendo los primeros órganos afectados por la contaminación, debido a la alta cantidad de materia

orgánica, intensa actividad microbiana y la movilidad de los metales. Debido a esto se ocasionan procesos de acidificación o formación de complejos orgánicos en la rizosfera que propician la absorción de metales pesados. Otras condiciones que afectan la disponibilidad de los metales son el clima, temperatura, agua, al igual que las sinergias y antagonismos ocasionados por la presencia de metales como Cu, Ni, Zn, Mn y no metales como: P y Se (Kabata-Pendias y Pendias, 2001). Los metales pesados pueden ser transportados a la planta a través del transporte activo (metabólico) o pasivo (no metabólico), por ejemplo el plomo se transporta a través del pasivo y el Cu, Mo y Zn a través del activo (Alloway, 1995).

Los factores que afectan la cantidad de metal pesado absorbido en una planta está condicionada por: (i) las concentraciones y la especiación de los metales en la solución del suelo, (ii) el movimiento de los metales de la superficie del suelo a las raíces, (iii) El transporte del metal de la superficie de la raíz al interior de estas, (iv) la translocación desde las raíces a otras partes de la planta (Alloway, 1995). Las plantas cultivadas en suelos contaminados por lo general absorben más oligoelementos, esto aumenta la concentración de metales pesados en el tejido vegetal. Altas concentraciones de metales pesados en los tejidos causan fitotoxicidad. Lo anterior se ve reflejado en síntomas como: clorosis, crecimiento débil de las plantas o incluso reducción en la absorción de los nutrientes y desórdenes en el metabolismo (Puga *et al.*, 2006).

En el suelo los metales pesados y metaloides pueden ser adsorbidos fuertemente por la materia orgánica, inorgánica y los coloides del suelo. Estas propiedades pueden mediar la movilidad y biodisponibilidad de los metales, a esta característica se le considera como uno de los servicios ecosistémicos del suelo. Las propiedades residuales (minerales, lluvia ácida, lodos de depuradora y artefactos antropogénicos urbanos, etc.), la afinidad intrínseca de iones metálicos individuales para superficies de adsorción del suelo, el conjunto de superficies de adsorción presentes en los suelos (humus, óxidos metálicos, aluminosilicato y arcillas carbonato de calcio, etc.), las propiedades como el pH, potencial redox, el contenido de agua, temperatura, actividad biológica, concentración de sal y el tiempo de contacto del suelo con el metal, también son factores que pueden ayudar a retener los metales en el suelo (Young, 2012).

### **2.5.1. Arsénico**

El arsénico es un elemento natural ampliamente distribuido en la corteza terrestre. En una concentración media de 2 mg/kg. Este metal se puede movilizar a través de una combinación de procesos que incluyen la meteorización, actividad biológica, emisiones volcánicas, minería, combustibles fósiles pesticidas herbicidas, conservadores de madera etc. (Márquez, 2008). Puede entrar al aire, al agua o en agua filtrarse a través del suelo y entrar a suelos de otras áreas a través del polvo que levanta el viento. En el ambiente, el arsénico se combina con oxígeno y azufre para formar compuestos inorgánicos de arsénico. En el suelo el As puede ser disuelto o adsorbido por las arcillas o materia orgánica, estos procesos son llevados a cabo a través de la materia orgánica que a su vez genera transformaciones como: cambios redox que inducen a la transformación arsenito-arsenato, reducción y metilación del As, biosíntesis de compuestos de As y formas solubles de As fuertemente tóxicas. El As en los humanos tiene la capacidad de inhibir el sistema inmune, daña el Sistema Nervioso Central, provoca cirrosis hepática, afecta el riñón. En una exposición aguda podemos observar un cuadro intestinal con gastroenteritis, esofagitis, vómitos, diarrea, náuseas y dolor abdominal. El arsénico en animales y en plantas se combina con carbono e hidrógeno para formar compuestos orgánicos de arsénico. El arsénico no puede ser destruido en el ambiente, solamente puede cambiar de forma. (ATSDR, 2007; SEMARNAT, 2009; Santillana, 2009).

### **2.5.2. Cadmio**

El cadmio generalmente se encuentra como mineral combinado con otros elementos tales como oxígeno (óxido de cadmio), cloro (cloruro de cadmio) o azufre (sulfato de cadmio, sulfuro de cadmio). Todos los suelos y rocas, incluso el carbón y abonos minerales, contienen algo de cadmio. El cadmio entra al suelo, al agua y al aire durante actividades industriales y de minería, y durante la combustión de carbón y desechos domésticos. No se degrada en el ambiente, pero sí cambia de forma. Las partículas de cadmio en el aire pueden moverse largas distancias antes de depositarse en el suelo o el agua. Algunas formas de cadmio se disuelven en agua. También se adhiere fuertemente a partículas del suelo. Las plantas, los peces y otros animales incorporan cadmio del ambiente. En el ser humano el cadmio se acumula principalmente en los riñones causando hipertensión arterial.

En la biota, el cadmio ha sido asociado con la aparición de cáncer en animales de experimentación. (ATSDR, 2008; SEMARNAT, 2009).

### **2.5.3. Cobre**

El cobre es un metal que podemos encontrar naturalmente en el ambiente, en rocas, suelo, agua y aire. Es un elemento esencial para las plantas y animales, por lo tanto es necesario para la vida. El cobre es utilizado para fabricar alambres, cañerías, láminas de metal, en la agricultura se utiliza para tratar enfermedades de las plantas, para tratar agua y como conservador para alimentos, cueros y telas. En los humanos el Cu en bajas concentraciones es esencial para la vida, sin embargo en altas concentraciones puede tener efectos negativos para la salud como: irritación de la nariz, la boca y los ojos, vómito, diarrea, calambres estomacales y puede llegar a causar muerte. En el ambiente el Cu es liberado por la industria minera, actividades agrícolas, actividades de manufactura, la liberación de aguas residuales a ríos y lagos, volcanes, vegetación en descomposición y por último incendios forestales. El Cu generalmente se adhiere a partículas de materia orgánica, arcilla, suelo y arena, este metal no se degrada en el medio ambiente (ATSDR, 2004). El Cu se encuentra naturalmente en la corteza terrestre en una concentración media de 100 mg/kg. Este metal tiene una alta afinidad al azufre por lo cual se pueden formar compuestos como calcoprita ( $\text{CuFeS}_2$ ), bornita ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ), calcocita ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ) y covelita ( $\text{CuS}$ ). El Cu puede verse afectado directamente por distintas variables que incluyen el pH, potencial redox, materia orgánica, textura, temperatura y clima estas variables están relacionadas directamente con la solubilidad, movilidad y disponibilidad de este metal (Kabata- Pendias, 2001).

### **2.5.4. Manganeso**

El manganeso es un elemento de origen natural y se encuentra en muchos tipos de rocas, es de color plateado en su estado puro pero en el ambiente se combina con óxido, azufre o el cloro. Este metal se utiliza en la producción de acero para mejorar su dureza, rigidez y solidez y se ha utilizado como aditivo en la gasolina con el fin de mejorar su octanaje. En los humanos la ingesta de pequeñas cantidades en los alimentos o el agua es necesaria para mantenerse sano, pero la exposición a elevadas concentraciones puede ocasionar daños al cerebro, cambios en el comportamiento, efectos en el sistema nervioso, la persona puede

volverse lenta y torpe, irritaciones pulmonares y efectos en la función reproductora. En el ambiente el Mn puede ser liberado al aire, al suelo y al agua durante la fabricación, uso o eliminación de productos a base de Mn, no puede ser degradado en el ambiente, solo puede cambiar de forma y puede adherirse a partículas del suelo o separarse de ellas (ATSDR, 2012). El Mn un elemento abundante en la corteza terrestre se pueden encontrar concentraciones de 350-2000 mg/kg. Las principales formas de este mineral en suelo son: pirolusita ( $MnO_2$ ), manganita ( $MnOOH$ ), hausmanita ( $Mn_3O_4$ ) y rodocrosita ( $MnCO_3$ ). La movilidad y biodisponibilidad del manganeso está dada por factores como el pH y el potencial óxido reducción. A un pH ácido podemos encontrar una mayor concentración de este metal en solución del suelo (Rodríguez, 2011).

#### **2.5.5. Plomo**

El plomo es el principal contaminante metálico en la atmosfera, es un metal gris-azulado, se encuentra naturalmente en pequeñas cantidades en la corteza terrestre (15 mg/kg). La mayor parte proviene de actividades como la minería, manufactura industrial y de quemar combustibles fósiles. Se cree que las concentraciones de plomo han aumentado más de mil veces durante los últimos tres siglos, esto debido a las actividades antropogénicas. Las principales formas del Pb emitido por la minería y fundiciones son  $PbS$ ,  $PbO$ ,  $PbSO_4$  Y  $PbO-PbSO_4$ . El plomo no se degrada, pero los compuestos de plomo son transformados por la luz natural, el aire y el agua. Cuando se libera plomo al aire, puede movilizarse largas distancias antes de depositarse en el suelo una vez que cae al suelo, generalmente se adhiere a partículas del suelo. En los seres humanos el plomo es absorbido en su forma inorgánica por dos vías: respiratoria y gastrointestinal, este metal tiene gran afinidad por los eritrocitos con un 95% de afinidad. Este contaminante puede causar un ligero deterioro del aprendizaje y comportamiento, convulsiones, estado de coma y la muerte. Cuando se presenta una intoxicación aguda o crónica en humanos se presentan alteraciones digestivas, dolores epigástricos y abdominales, vómito, alteraciones renales y hepáticas, convulsión, coma y cefalea, anemia en mamíferos, en plantas disminución de la fotosíntesis y por ultimo alteraciones en las enzimas ligadas al metabolismo del nitrógeno (ATSDR, 2007; SEMARNAT 2009; Santillana, 2009; Rodríguez, 2011).

### 2.5.6. Zinc

Es un elemento abundante en la corteza terrestre. La concentración media de este metal en suelos es de 10 y 300 mg/kg con una media de 50 mg/kg. Los componentes del suelo como: silicatos, carbonatos, fosfatos, óxidos y materia orgánica pueden retener este metal en suelo. La arcilla controla la distribución del Zn en un 60% y el pH ya sea neutro o alcalino tiene una alta capacidad de inmovilizarlo. Las principales fuentes de generación de este metal en el ambiente son: la minería, la fundición y agricultura (Fertilizante) (Rodríguez, 2011).

### 2.6. Actividad Microbiológica del Suelo

Los microorganismos del suelo como las bacterias, hongos y actinomicetos son responsables de transformaciones físico-químicas importantes en el suelo. Numerosos estudios muestran que los microorganismos del suelo intervienen tanto en el aprovechamiento de nutrientes como en la solubilización y absorción de iones (Sivila y Hervé, 1994). Los microorganismos del suelo son un indicador sensible para detectar la degradación de los ecosistemas, su actividad en particular se resiente, incluso, ante cambios o perturbaciones físicas y químicas leves del suelo (Alvear *et al.*, 2007).

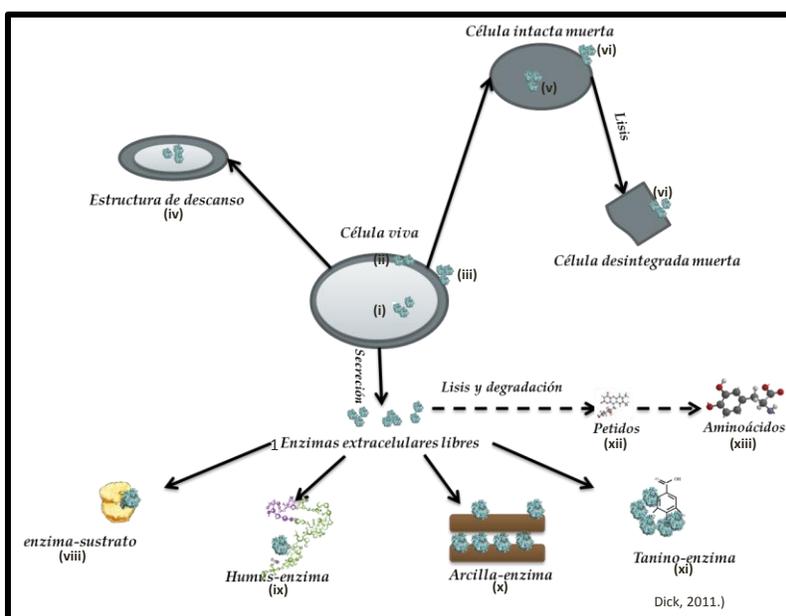
El pH, la materia orgánica y los nutrientes del suelo pueden alterar la actividad de los organismos del suelo. La mayor actividad de las bacterias del suelo como las algas verde-azules, diatomeas y protozoos, sucede en suelos neutros o ligeramente alcalinos (pH 6.5-7.5), la de los hongos en suelos ácidos (pH 4.5-6.5) y la de los actinomicetos en suelos ligeramente alcalinos. Las bacterias nitrificantes como *Nitrosomas* y *Nitrobacter* y las bacterias que participan en la fijación del nitrógeno como *Azotobacter* no son capaces de tolerar suelos ácidos, al contrario las baterías oxidantes del azufre como *Thiobacillus thiooxidans* se encuentran activos en este tipo de suelos. Las bacterias heterótrofas se alimentan de la materia orgánica y en suelos con alto contenido de materia orgánica aumenta su actividad bruscamente (Towhid, 2013).

## 2.7. Actividad enzimática del Suelo

Las enzimas son proteínas cuya función es catalizar las reacciones químicas en los sistemas vivos, transforman sustratos específicos en productos necesarios para los ciclos biológicos. Son utilizadas para aproximarse al entendimiento de los ciclos de los nutrientes y a los niveles de actividad microbiana responsables de estos procesos (Cerón y Melgarejo, 2005, Ochoa *et al.*, 2007). Muchos tipos de moléculas inhiben las enzimas y actúan de diferentes formas. La inhibición puede ser de dos formas reversibles o irreversibles. La primera se basa en la unión no covalente con el inhibidor, que siempre puede revertirse, mediante la eliminación o desplazamiento del inhibidor. Y la segunda es la irreversible, se suele observar en la acción de toxinas y venenos específicos, Estos compuestos pueden causar problemas serios en los procesos enzimáticos debido a que pueden incapacitar enzimas clave (Mathews and Holde, 2002).

En el suelo existen enzimas que suelen jugar un papel importante en el mantenimiento de los procesos ecológicos, propiedades físicas y químicas, la fertilidad y la salud del suelo. Las enzimas son segregadas por los microorganismos y las podemos encontrar de diferentes formas en el suelo como: (i) Enzimas que funciona dentro del citoplasma de las células en proliferación microbiana, animales y vegetales. (ii) Enzimas restringidas al espacio periplasmático de la proliferación de las bacterias Gram negativas. (iii) Enzimas unidas a la superficie externa de las células viables en donde los sitios activos se extienden hacia el ambiente del suelo. (iv) enzimas en las células no proliferantes, tales como esporas de hongos, protozoos, quistes, semillas de plantas, y endosporas bacterianas. (v) enzimas unidas a toda una célula y escombros muertos de células. (vi) enzimas que se escapan de las células intactas o son liberadas de las células lisadas, originalmente situadas en la membrana de la célula o dentro de las células, que puede sobrevivir durante un corto período en la solución del suelo. (vii) enzimas extracelulares libres en agua de los poros del suelo. (viii) enzimas asociadas temporalmente en complejo enzima-sustrato soluble o insoluble. (ix) enzimas formando complejos con los coloides húmicos por absorción, atrapamiento, o co-polimerización durante la humificación. (x) enzimas absorbidas a la capa externa o interna (es decir, dentro de las celosías de 2:1 silicatos estratificados) de la superficie de los minerales de arcilla. (xi) enzimas unidas a los taninos condensados o

lixiviados de hojas de las plantas o raíces. Enzimas extracelulares que pueden ser convertidos abióticamente o a través de la actividad de las enzimas proteolíticas. (xii) péptidos degradados por peptidasas en sus aminoácidos constituyentes. (xiii) enzimas asimiladas por los microbios y plantas (Figura 3). Las enzimas están encargadas de los procesos bioquímicos en el proceso de la descomposición de la materia orgánica, procesos vitales para los microorganismos, estabilización en la estructura del suelo, descomposición de los residuos orgánicos, formación de materia orgánica y tienen un papel importante en los ciclos de los nutrientes, por lo tanto juegan un papel importante en la agricultura. El grupo de enzimas que exista en el suelo depende de las características físicas, químicas, microbiológicas y las propiedades bioquímicas del suelo, estas enzimas pueden incluir: amilasa, arilsulfatasa, b-glucosidasa, celulosa, quitinasa, deshidrogenasa, fosfatasa, proteasa y ureasa. (Shonkor and Ajit, 2011).



**Figura 3** Localización de las enzimas en suelo.

La cantidad y variedad de enzimas que podemos encontrar en el suelo es muy alta y al menos se cree que son unas 500 enzimas y estas están involucradas en los distintos ciclos de los nutrientes, transferencia de energía, calidad del ambiente y productividad de los cultivos. El suelo es muy complejo y debido a esto existen factores que afectan las

actividades enzimáticas en el suelo. La actividad de cualquier enzima en el suelo es el resultado de la síntesis, la persistencia, la estabilización, la regulación y el comportamiento catalítico de las proteínas enzimáticas presentes en el suelo en el momento del ensayo. Estos procesos pueden ser relacionados con las propiedades físicas y químicas, así como la composición biológica del suelo. La presencia y la conservación enzimática puede verse afectada por factores naturales (cambios estacionales, diferentes localizaciones geográficas o diversos régimen del suelo hídrico o térmico) y por actividades antropogénicas (agricultura y la gestión de las prácticas o casos de contaminación). Todos estos factores pueden influir de cierta manera en la producción de enzimas (Gianfreda and Ruggiero, 2006).

La actividad enzimática del suelo se encarga de la solubilización, movilización y disponibilidad de nutrientes para las plantas, se puede utilizar como un indicador; a su vez estos nos pueden hablar de la salud del suelo ya que su sensibilidad nos proporciona una respuesta temprana a cambios en los ciclos de los nutrientes. Estos microorganismos están interactuando con el medio ambiente, factores como acidez y sustancias químicas que en condiciones desfavorables pueden alterar los procesos microbianos (Romero *et al.*, 2009).

El suelo es el sustrato de la vida en este se desarrollan distintas actividades como: agricultura, pastoreo, minería, al igual que la vida. La actividad enzimática es parte fundamental del monitoreo de los suelos debido a que esta actividad participa en distintos procesos naturales que nos pueden ayudar a monitorear la salud del suelo. La actividad biológica es un excelente bioindicador de la calidad del suelo y puede ser usada como biosensor temprano a cambios biológicos y bioquímicos. (Cuadro 1).

*Cuadro 1 Enzimas del suelo como indicadores de la salud del suelo.*

<i>Enzima del suelo</i>	<i>Reacción de la enzima</i>	<i>Indicador de la actividad microbiana</i>
Deshidrogenasa	Sistema de transporte de electrones	Ciclo del Carbono
B-glucosidasa	Hidrólisis celobiosa	Ciclo del Carbono
Ureasa	Hidrólisis de la urea	Ciclo del Nitrógeno
Fosfatasa	Liberación de $PO_4^-$	Ciclo del Fósforo
Arilsulfatasa	Liberación de $SO_4^-$	Ciclo del Azufre

---

Enzimas del suelo	Hidrólisis	Degradación de la materia orgánica por actividad enzimática
-------------------	------------	---

---

*S.K. Das and A. Varma (2011)*

### 2.7.1. Deshidrogenasa

La actividad de la enzima deshidrogenasa se utiliza comúnmente como un indicador de la actividad biológica en los suelos. Esta enzima se considera que existe como una parte integral de células intactas, pero no se acumula extracelularmente en el suelo. La oxidación microbiana de sustancias orgánicas está ligada a una cadena de transporte de electrones conocida como fosforilación oxidativa. En esta ruta de transporte de electrones participan cuatro tipos de enzimas de óxido-reducción entre las cuales se encuentra las deshidrogenasas piridín-dependientes, estas enzimas necesitan dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) o nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP), compuestos que actúan como una coenzima para llevar a cabo la reacción. Y las deshidrogenasas flavín-dependientes que contienen dinucleótido de flavina y adenina (FAD) o riboflavina-5'-fosfato (FMN) actúan como grupo prostético. Debido a lo anterior las deshidrogenasas son un buen indicador del sistema redox microbiano y por lo tanto un importante exponente de las reacciones oxidativas del suelo y de la actividad microbiana. Al igual que estas enzimas son parte fundamental en las etapas tempranas de la oxidación de la materia orgánica. Estos procesos son parte de las vías de respiración de los microorganismos del suelo y están estrechamente relacionados con el tipo de condiciones del aire-agua del suelo y del suelo, y está directamente involucrada con el ciclo del Carbono (Trasar-Cepeda, 2003; Shukla *et al.*, 2011).

### 2.7.2. $\beta$ -Glucosidasa

$\beta$ -Glucosidasa es una enzima común y predominante en los suelos, lleva el nombre de acuerdo con el tipo de enlace que se hidroliza, cataliza la hidrólisis de  $\beta$ -D-glucopiranosidos pertenece al grupo de las glicosidasas. Esta enzima juega un papel importante en los suelos, ya que está implicado en la catálisis de la hidrólisis y biodegradación de diversos glucósidos (Ecuación 1) presentes en los desechos de descomposición de la planta en el ecosistema y está directamente involucrada en el ciclo

del Carbono. A este tipo de enzimas se les denomina como glicosidasas o glucosidohidrolasas. La reacción general de este grupo es:



Estas enzimas tienen un papel muy importante en la degradación de los carbohidratos del suelo y los productos generados por la actividad hidrolítica generan un aporte de energía para los microorganismos del suelo. La  $\beta$ -glucosidasa interviene en la degradación de la celulosa, descomponiendo derivados de bajo peso molecular que están presentes en el suelo teniendo como producto final la glucosa (Jiménez de Ridder y Bonmatí-Pont, 2003; Alvear *et al.*, 2007).

### 2.7.3. Ureasa

Es una proteína hexamérica que contiene dos iones Ni (III) por subunidad. La enzima ureasa cataliza la hidrólisis de la urea a amonio y dióxido de carbono (Ecuación 2) basado en la siguiente ecuación:

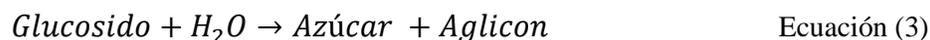


Esta enzima actúa sobre los enlaces C-N peptídicos en amidas lineares, lo cual nos indica que esta enzima pertenece al mismo grupo que la glutaminasa y la amidasa (Sastre-Conde y Lobo-Bedmar, 2003). La enzima ureasa es responsable de la hidrólisis de la urea (fertilizante) en amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) con el consiguiente aumento en el pH del suelo, proceso considerado vital en la regulación del suministro de N a las plantas después de la fertilización con urea. Debido a este rol, la actividad de la ureasa en los suelos ha recibido mucha atención desde que fue reportada por primera vez por Rotini (1935). La ureasa se extrae de plantas o microorganismos, se degrada rápidamente en el suelo por las enzimas proteolíticas y está ligada con el ciclo del nitrógeno (Burns *et al.*, 2002).

### 2.7.4. $\beta$ -Galactosidasa

Esta enzima pertenece al grupo de las glicosidasas, las cuales son sintetizadas por los microorganismos del suelo, estas tienen la capacidad de intervenir en el ciclo

biogeoquímico del Carbono y actúan sobre los glicósidos catalizando la liberación de azúcares (Ecuación 3). La enzima  $\beta$ -galactosidasa cataliza la hidrólisis de lactosa. Reacción general de hidrólisis de las enzimas de este grupo es:



(Martínez-Iñigo *et al.*, 2003)

### 2.7.5. Arilsulfatasa

La enzima arilsulfatasa es responsable de la hidrólisis de ésteres de sulfato en el suelo. Estas enzimas son secretadas por bacterias al medio ambiente como respuesta a la disminución del azufre, se relaciona comúnmente con la biomasa microbiana y la tasa de movilidad de azufre en el ciclo del Azufre. Esta enzima tiene un rol importante en la hidrólisis de ésteres de sulfatos aromáticos (R-O-SO<sub>3</sub>) a fenoles (R-OH) y sulfato, o sulfato de azufre (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> o SO<sub>4</sub>-S). Estas enzimas se encuentran correlacionadas con el C de biomasa y con la materia orgánica humificada, así como el pH. El pH adecuado para que la actividad de esta enzima en suelo es de 5.8 a 8.2. La importancia que tiene el azufre en la planta nos ayuda a comprender mejor la función de la arilsulfatasa en la movilidad del Azufre principalmente en suelos agrícolas (Das and Varma, 2011; González-Carcedo, 2003).

### 2.7.6. Fosfatasa

Las fosfatasas son un grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de ésteres y anhídridos del ácido fosfórico. En este grupo podemos encontrar las monoésterfosfato hidrolasas en las cuales están la fosfatasa ácida y la alcalina estas enzimas inespecíficas catalizan la hidrólisis de glicerolfosfato (Trasar-Cepeda, 2003). En los ecosistemas estas enzimas suelen ser más abundantes en la rizosfera cuyas actividades están relacionadas con el ciclo del Fósforo, el agotamiento de P orgánico, están correlacionadas con el estrés causado por P, son indicadoras de la fertilidad del suelo y ayudan al crecimiento de la plantas. Esta enzima nos puede indicar una deficiencia de P, cuando existe una secreción mayor producida por las plantas con el fin de mejorar la solubilización y movilización del P,

ayudando de esta manera a la planta a soportar las condiciones por estrés de fosforo (Tarafdar y Jungk 1987, Das and Varma, 2011).

## CAPÍTULO 2

### 3. ANTECEDENTES DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Se han reportado numerosos estudios de laboratorio donde se determina que altas concentraciones de metales pesados en el suelo, como: As, Pb, Mn, Zn, Cd y Cu pueden actuar de manera negativa con la actividad enzimática. En este capítulo presentamos algunos estudios detallados que se pueden observar en el cuadro 2. Effron *et al.* (2004), encontraron que los metales pesados inhibieron las actividades de la ureasa, mientras que Egamberdieva *et al.* (2011), mencionaron que la presencia y naturaleza de la cubierta vegetal afectan la actividad de las enzimas en el suelo. La actividad de la ureasa se ve afectada por el tipo de suelo, la temperatura, contenido de materia orgánica y metales pesados, en general las actividades enzimáticas del suelo se ven afectadas por oligoelementos debido a la interacción entre los elementos traza con moléculas de la enzima.

Gianfreda y Ruggiero (2006), concluyeron que los metales pesados pueden permanecer en el suelo y causar daño a un largo plazo a las comunidades microbianas, así como afectar procesos bióticos y abióticos. Se ha demostrado que la actividad de la celulasa, xilanasas y  $\beta$ -glucosidasas no se ve afectada en concentraciones bajas de metales pesados mientras que la arilsulfatasa y fosfatasa sí fueron afectadas. Karaca *et al.* (2010), determinaron que las actividades enzimáticas se ven influenciadas de distintas maneras por diferentes metales debido a las afinidades químicas de las enzimas en el sistema del suelo.

Khan *et al.* (2007), concluyeron que el Cd tiene un mayor efecto inhibitorio que el Pb para las enzimas gracias a su movilidad y a su menor afinidad con los coloides del suelo. Lorenz *et al.* (2006), observaron que la contaminación con Cd tuvo un efecto negativo sobre las actividades de la ureasa. Renella *et al.* (2005), encontraron que el Cd no afecta la  $\beta$ -glucosidasa ni la ureasa. Speir *et al.* (1999), demostraron que la sulfatasa fue inhibida por As (V), pero que la ureasa no se vio afectada.

**Cuadro 2 Estudios relacionados con los efectos de los metales pesados en la actividad enzimática del suelo.**

<i>Enzima</i>	<i>Tipo de sitio</i>	<i>% de Inhibición</i>	<i>Contaminante</i>	<i>Concentración enzimática</i>	<i>Referencia</i>
Ureasa (nmol NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Suelos agrícolas	82.35	Zn 8,100 mg/Kg	Control 3400 ± 220 Contaminado 600 ± 20	Belyaeva <i>et al.</i> , (2005)
Ureasa (nmol NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		93.6		Control 1100 ± 7 Contaminado 70 ± 0.00	
B-D-glucosidase (nmol PNP g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		50		Control 680 ± 10 Contaminado 340 ± 20	
B-D-glucosidase (nmol PNP g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		98.3		Control 600 ± 50 Contaminado 10 ± 0.00	
Ureasa (nmol NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Suelo no contaminado de capa superficial, tierras de cultivo Suelo agrícola	75.15	Cd 100 mg/Kg Pb 500 mg/Kg	Control 4.99 ± 0.08 Contaminado 1.24 ± 0.03	Yang <i>et al.</i> , 2009
Ureasa (nmol NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Suelo agrícola (Arkport)	37.73	Cu 200 mg/Kg	Control 1.06 ± 0.03 Contaminado 0.66 ± 0.01	Bojeong <i>et al.</i> , 2008
Ureasa (nmol NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Suelo agrícola (Hudson)	21.55		Control 1.16 ± 0.04 Contaminado 0.91 ± 0.01	
B-glucosidase (nmol PNP g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Suelo agrícola	37.5	Cu 450 mg/Kg	Control 709.0 ± 28.0 Contaminado 443.0 ± 12.0	Jadwiga <i>et al.</i> , 2010
Arylsulfatasa (nmol PNP g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		46.89		Control 258.0±15.0 Contaminado 137.0±9.0	
Ureasa (nmol NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Suelo agrícola	65.38	Cu 800 mg/Kg	Control 0.026 ± 0.003 Contaminado 0.009 ± 0.0008	Bin <i>et al.</i> , 2013
Ureasa (nmol NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Franco arenoso	74.77	Zn 2400 mg/Kg	Control 567.0 Contaminado 143.0	Borowik <i>et al.</i> , 2014
B-Glucosidasa (nmol PNP g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		36.29		Control 416.0 Contaminado 265.0	
Arylsulfatasa (nmol PNP g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		85.71		Control 98.0 Contaminado 14.0	
Ureasa (nmol NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Suelo agrícola			Control 575.92	Wyszkowska <i>et al.</i> , 2006
		34.6	Cu 50 mg/Kg	Contaminado 376.45	
		84.9	Cu 450 mg/Kg	Contaminado 86.41	
		76.72	Cu, Zn, Pb 450 mg/Kg	Contaminado 134.03	
		78.3	Cu, Zn, Cd 450 mg/Kg	Contaminado 124.87	
B-glucosidase (nmol PNP g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Suelo Normal		Zn: 117, Pb: 225, Cd: <0.50, Cu: 2.59 mg/Kg	0.969	Hernández <i>et al.</i> , 2006
	Suelo moderadamente contaminado	86.9	Zn: 890, Pb: 340, Cd: <0.3.15, Cu: 3.47 mg/Kg	0.126	
	Suelo altamente contaminado	89.0	Zn: 18900, Pb: 4930, Cd: 15.10, Cu: 11.90 mg/Kg	0.106	
Arylsulphatase (nmol PNP g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Suelo Normal		Zn: 117, Pb: 225, Cd: <0.50, Cu: 2.59 mg/Kg	0.726	
	Suelo moderadamente contaminado	36.3	Zn: 890, Pb: 340, Cd: <0.3.15, Cu:	0.462	

<i>Enzima</i>	<i>Tipo de sitio</i>	<i>% de Inhibición</i>	<i>Contaminante</i>	<i>Concentración enzimática</i>	<i>Referencia</i>
			3.47 mg/Kg		
	Suelo altamente contaminado	64.3	Zn: 18900, Pb: 4930, Cd: 15.10, Cu: 11.90 mg/Kg	0.259	
	Suelo Normal		Zn: 117, Pb: 225, Cd: <0.50, Cu: 2.59 mg/Kg	0.316	
Urease (nmol NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Suelo moderadamente contaminado	100	Zn: 890, Pb: 340, Cd: <0.3.15, Cu: 3.47 mg/Kg	Debajo del límite de detección	
	Suelo altamente contaminado	100	Zn: 18900, Pb: 4930, Cd: 15.10, Cu: 11.90 mg/Kg	Debajo del límite de detección	
	Suelo Normal		Zn: 117, Pb: 225, Cd: <0.50, Cu: 2.59 mg/Kg	0.302	
FDA (nmol FNa g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Suelo moderadamente contaminado	55.2	Zn: 890, Pb: 340, Cd: <0.3.15, Cu: 3.47 mg/Kg	0.135	
	Suelo altamente contaminado	72.84	Zn: 117, Pb: 225, Cd: <0.50, Cu: 2.59 mg/Kg	0.082	

Hernández et al., 2006

## CAPÍTULO 3

---

### 4. JUSTIFICACIÓN

El suelo es un sistema biológicamente activo es fundamental para los procesos ecosistémicos y puede actuar como filtro para contaminantes. Hablar de un suelo saludable en la actualidad es difícil debido a las perturbaciones que este ha sufrido a lo largo de la existencia de la humanidad.

Por lo regular se le da poca importancia a la salud ambiental dejándola en tercer plano después de la salud humana y de la biota. La interacción de factores ambientales y humanos ha ocasionado importantes alteraciones en el suelo, causando daños en diferentes procesos y niveles del suelo. Para mantener la salud del suelo se debe tener un equilibrio entre los diferentes factores que interactúan en él. Uno de los factores con mayor relevancia al hablar de alteraciones del suelo son las actividades antropogénicas como la agricultura, ganadería, urbanización, minería entre otros. Estas actividades pueden cambiar las propiedades físicas y químicas del suelo mediante la aireación, exposición de la luz, el calor, el exceso de nutrientes y la contaminación.

La minería es una de las actividades económicas de mayor relevancia del país y con un gran crecimiento a futuro debido a que más del 70% de nuestro país tiene potencial minero. El estado de San Luis Potosí ha estado acompañado por esta actividad desde su fundación, cuenta con zonas con más de 400 años de actividad minera. Los metales pesados extraídos durante este periodo son componentes del entorno geológico y muchos de ellos son utilizados en procesos enzimáticos de los cuales depende la vida. Sin embargo, la actividad minera ha tenido grandes repercusiones en el ambiente una de ellas es la generación de residuos mineros (jales), estos residuos no tuvieron un confinamiento adecuado ocasionando una dispersión de estos contaminantes los cuales pueden llegar a tener efectos negativos sobre el ambiente. De esta manera se ha ocasionado una contaminación en las zonas cercanas a estos desechos. Se estima que el número de sitios con presencia de jales en México es de 10, 000 a 50, 000 sitios abandonados o inactivos contaminados con As,

Pb, Cr, Cd, Co, Cu, Hg, Ni, Mn y Zn, este tipo de contaminantes suelen afectar de manera negativa los procesos ambientales y causar alteraciones que aún son desconocidas.

La actividad enzimática y las propiedades fisicoquímicas de los suelos son un excelente indicador de alerta temprana en alteraciones del suelo, por ello hemos propuesto la medición de pH, materia orgánica, conductividad eléctrica y textura, así como actividad enzimática de la Deshidrogenasa, Ureasa, Gluco y Glactosidasa, Arilsulfatasa y Fosfatasa, con el fin de conocer que alteraciones pueden causar los metales pesados en el suelo de sitios con presencia de residuos mineros (jales mineros).

## CAPÍTULO 4

---

### 5. HIPÓTESIS

Los sitios de San Luis Potosí, contaminados por pasivos ambientales mineros tienen concentraciones elevadas de As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb, V y Zn.

Los metales pesados alteran la actividad biológica del suelo, registrada como la actividad enzimática, al igual que ciertas propiedades fisicoquímicas como pH, conductividad, textura y contenido de materia orgánica, las cuales son esenciales para los ciclos biogeoquímicos.

### 6. OBJETIVOS

#### 6.1. Objetivo General

Evaluar los efectos de los metales pesados en el suelo de jales mineros a través de indicadores biológicos y atributos fisicoquímicos

#### 6.2. Objetivos Específicos

- I. Cuantificar la concentración de metales pesados en el suelo (As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb, V y Zn).
- II. Determinar las propiedades fisicoquímicas del suelo: pH, Conductividad, Materia Orgánica y Textura.
- III. Establecer la actividad enzimática de la deshidrogenasa, ureasa,  $\beta$ -glucosidasa,  $\beta$ -galactosidasa, arilsulfatasa y fosfatasa en el suelo.
- IV. Comparar las concentraciones de cada uno de los parámetros analizados en los sitios de referencia con las concentraciones encontradas en el sitio contaminado.
- V. Encontrar si existen asociaciones entre los niveles de metales pesados, las propiedades fisicoquímicas y la actividad enzimática del suelo.

## CAPÍTULO 5

### 7. METODOLOGÍA

#### 7.1. Descripción de los sitios de estudio

Se seleccionaron cuatro sitios de estudio clasificados en sitios de referencia (un sitio que se considera que no existe presencia de metales pesados derivados de la actividad minera) y sitios problema, los cuales están considerados como contaminados por metales pesados debido a la intensa actividad minera y a estudios realizados con anterioridad donde se cuantificaron metales pesados. Los sitios de referencia se seleccionaron a 10 km de distancia del sitio problema, para esto se tomó en cuenta la dirección de las corrientes de agua y aire, con el fin de descartar algún tipo de exposición indirecta a metales. A continuación se describe los sitios seleccionados.

##### 7.1.1. Cedral

Es un municipio que pertenece al estado de San Luis Potosí se encuentra localizado en la parte Norte del estado, en la zona altiplano. La cabecera municipal tiene las siguientes coordenadas 100° 43" de longitud Oeste y 23° 49" de latitud Norte, se encuentra a 1,700 m sobre el nivel del mar. Colinda al Norte con el municipio de Vanegas, al Este con el municipio de Nuevo León, al Sur con los municipios de Matehuala y Villa de la Paz y al Oeste con los municipios de Real de Catorce y Vanegas (INAFED 2015). En 1826 se le da la categoría de municipio con el nombre de “Cedral”. Se sabe que en épocas remotas este poblado era territorio de los Chichimecas, Guachichiles, Guamares, Cascanes, Guaxabanas etc. En 1726 se registró una gran transformación debido a que los minerales en bruto de Real de Catorce fueron trasladados a este poblado con el fin de beneficiar algunas haciendas (INAFED, 2015). Los minerales trasladados a este municipio fueron procesados a través “haciendas de beneficio” y a finales del siglo XVIII existían por lo menos nueve de estas haciendas (Morton-Bermea *et al.*, 2015). Las haciendas de beneficio procesaban los minerales del material en bruto a través del método de patio (amalgamación con mercurio) (Flores-Ramírez *et al.*, 2011). Esta situación continuó hasta la terminación del siglo XX, y

termino debido a la decadencia de las minas del Real de Catorce quien arrastró también a la decadencia y ruina a Cedral, ya que existió una carencia de minerales en bruto para beneficiar a las haciendas en este poblado (INAFED, 2015). Los residuos que quedaron del proceso de Patio (relaves) de Cedral fueron procesados en el segundo tercio del siglo con el fin de obtener la plata y el mercurio que tenían, después fueron apilados en dos sitios conocidos como: “El caballo” y “Jesús María” (Morton-Bermea *et al.*, 2015). Debido a la presencia de los relaves generados por las haciendas de beneficio se han realizado estudios para evaluar las concentraciones de metales pesados en Cedral como: Flores-Ramírez *et al.* (2011), quienes tomaron muestras de polvo de lugares similares a la residencia de niños, tomó en cuenta banquetas, exteriores de casa, áreas recreativas, patios y zonas escolares. Colectó un total de 49 muestras en las cuales encontró concentraciones de 98 a 4,225 mg/Kg de Plomo. Menciona que las altas concentraciones de plomo son causadas por los pasivos mineros históricos existentes en Cedral. En Cedral se realizó la primera toma de muestras en el sitio catalogado como referencia en el cual se observa una abundante vegetación (Figura 5) y la segunda en el sitio contaminado, tal sitio se caracteriza por la escasa presencia de vegetación y la existente es por la colonización en los residuos mineros. (Figura 4).



***Figura 4 Sitio de Referencia en Cedral.***



*Figura 5 Sitio contaminado en Cedral.*

### 7.1.2. Charcas

Este municipio se encuentra ubicado en la parte Norte del estado, en la zona del altiplano potosino, a una altura de 2,010 m sobre el nivel de mar. Colinda al Norte con el municipio de Cedral, al Este con el municipio de Villa de Guadalupe, al Sur con el municipio de Venado y al Oeste con los municipios de Santo Domingo y Salinas de Hidalgo. El descubrimiento de minerales en Charcas fue hecho por Don Juan de Oñate este descubrimiento se registró en 1563 registrado la primera mina con el nombre de San Cristóbal. La prosperidad, el incremento y descenso de la población varía en diversas épocas, debido a la riqueza y bonanza de las minas (INAFED, 2015). En el siglo XVI se formaron varias haciendas de beneficio alrededor de la mina, en este periodo Venado y Moctezuma fueron por mucho tiempo haciendas de beneficio. En la actualidad Charcas forma parte del distrito minero conformado por El Rosario y Santa Gertrudis, en este lugar existe un yacimiento hidrotermal, del cual se extraen Au, Ag, Cu y Zn (SGM, 2014). La mina existente en este municipio es considerada como una de las principales productoras de Zn en el país. De esta mina se extrae a 500 m de profundidad 4,500 toneladas de Zn el cual es molido ahí mismo y procesado en una planta de flotación para obtener un concentrado de Zn, cobre y plomo (Estevis, 2008). El sitio seleccionado como referencia se muestra en la Figura 6 donde se puede observar una amplia vegetación y el sitio seleccionado como contaminado se muestra en la Figura 7 aquí se observa poca vegetación y una presencia de malezas, al igual que el lugar donde se llevaba a cabo la actividad minera.



*Figura 6 Sitio de Referencia en Charcas.*



*Figura 7 Sitio Contaminado en Charcas.*

### **7.1.3. Cerro de San Pedro**

Se encuentra localizado en la zona centro del estado San Luis Potosí, la cabecera municipal tiene las siguientes coordenadas  $100^{\circ}48''$  de longitud Oeste y  $22^{\circ}13''$  de latitud Norte con una altura de 2,040 m sobre el nivel del mar. Colinda al Norte y al Oeste con el municipio de Soledad de Graciano Sánchez, al Este con el municipio de Armadillo de los Infantes y al Sur con San Luis Potosí (INAFED, 2015). En este municipio existe un yacimiento de tipo pórfido de composición diorítica a granodiorítica (Rodríguez, 2011). La actividad minera en este municipio comenzó el 4 de marzo de 1592 con el registro de la mina “La descubridora”. El descubrimiento del yacimiento de minerales preciosos lo realizaron los Guachichiles. Debido a la gran cantidad de oro y plata que se comenzó a explotar se congregó una numerosa población. De esta mina también se extraían minerales como:

magnesio, mercurio, plomo y cobre. Debido a la explotación irracional, en 1608 se ocasionó el hundimiento de tiros y socavones, obligando a la población a abandonar esta zona en 1621 y para 1630 el poblado se quedó deshabitado y en completo abandono. Para los mineros fue necesario buscar lugares, con el fin de obtener el beneficio de los minerales extraídos en bruto, para esto debieron seleccionar lugares ricos en agua, suficientes personas, recuas necesarias para el transporte y grandes cantidades de leña para los hornos de fundición, a estos lugares se les llamó “Haciendas de Beneficio” y por lo regular estaban en zonas cercanas al Cerro de San Pedro, logrando de esta manera repoblar las zonas cercanas a este lugar (INAFED, 2015). En la actualidad este municipio comenzó a tomar relevancia debido a la presencia de residuos mineros existentes desde tiempos coloniales. Se han realizado estudios en este sitio con el fin de cuantificar la presencia de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT) entre los estudios que se han realizado esta Rodríguez (2011), quien registró concentraciones de Pb de 31 a 37,364 mg/Kg, As registró de 1 a 43,228 mg/Kg, el Cd mostró un rango de 0.2 a 54 mg/Kg, el Cu de 6 a 603 mg/kg, el Zn de 32 a 5,053 mg/Kg y por último el Mn de 75 a 1,261 mg/Kg en suelo superficial, menciona que las concentraciones máximas encontradas coinciden con la operación histórica de las haciendas de beneficio, pues las muestras que registraron altas concentraciones se ubicaron en puntos cercanos a estos vestigios. También reporta que las concentraciones de Pb, el 33 % superaron el valor establecido por la norma NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 para Pb (400 mg/Kg). Para As el 68% registraron valores por arriba de la norma (22mg/Kg) y para Cd solo una muestra sobrepaso la norma (37mg/Kg). Se considera que las actividades humanas que se han desarrollado por más de 400 años en Monte Caldera, principalmente actividades metalúrgicas, son la principal causa del aumento en las concentraciones naturales de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT). También se tiene registro de otro estudio realizado por Ortega (2012) reportó concentraciones de As (216.9 mg/Kg) el cual supera la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 utilizada para uso agrícola e industrial (22mg/Kg) y la utilizada en suelos de uso industrial (260 mg/Kg). En el caso del Cd (19 mg/Kg) encontró valores de algunos puntos de muestreo que sobrepasan la Norma Oficial Mexicana para uso de suelo agrícola/residencial (37mg/Kg) y observo concentraciones altas de Cd en zonas cercanas al drenaje ácido de mina. Y por último las

concentraciones de Pb (1,726 mg/Kg) de todos los puntos de muestreo se encuentran sobrepasando los valores establecidos por la Norma Oficial Mexicana para uso agrícola/residencial (400 mg/Kg) y uso industrial (750 mg/Kg) el estudio se realizó en suelo de la rizosfera. En la Figura 8 se puede observar el sitio que seleccionamos como sitio de referencia el cual se caracteriza por una vegetación importante y en la Figura 9 se muestra el sitio seleccionado como contaminado aquí existe poca vegetación y el sustrato donde se tomaron las muestras presentan coloraciones rojizas, amarillentas y grisáceas.



*Figura 8 Sitio de Referencia en Cerro de San Pedro.*



*Figura 9 Sitio Contaminado en Cerro de San Pedro*

#### 7.1.4. Villa de la Paz

Este municipio se encuentra localizado en la parte Norte del estado de San Luis Potosí, en la zona del altiplano potosino, a una altura de 1,800 m sobre el nivel del mar. Colinda al Norte con el municipio de Cedral, al Este con el municipio de Matehuala, al Sur con el municipio de Villa de Guadalupe y al Oeste con el municipio de Real de Catorce. En el siglo XVIII este lugar fue conocido como la “Boca” ya que algunas familias de gambusinos se establecieron con el fin de buscar minerales y posteriormente se transformó en una hacienda de beneficio. En 1870 se comenzó a explotar la primera mina de la Paz y en 1921 se le declaró municipio. La mina tenía 9 tiros: el principal era el de la Paz, los otros eran El Relicario, Cinco Señores, San Miguel, San Agustín, San Francisco, San José, San Juan y San Rafael. Esto ocasionó que en la zona actual del municipio de Villa de la Paz se establecieran algunas familias de gambusinos (INAFED, 2015). En la actualidad la zona de Villa de la Paz pertenece al distrito minero Santa María de la Paz aquí se encuentra un yacimiento tipo skarn de Pb-Zn-Ag (Cu-Au). También existen dos diferentes tipos de mineralización: una mena de Pb-Zn-Ag y otra de Cu-Au (Zn), este sitio se ha explotado por más de 200 años generando a lo largo de este periodo contaminación por metales pesados en suelo, agua y sedimento (Razo, 2002, Chiprés, 2008). En este lugar opera la minera “Beneficiadora la Paz y Anexas SA de CV”, la cual produce concentrados de cobre, oro y hasta 2002 produjo plomo y plata (Santillana, 2009). Se han realizado numerosos estudios con el fin de cuantificar las concentraciones de metales pesados derivados de los residuos mineros. Mejía *et al.* (1999), reportaron concentraciones medias de Pb de 1,824 mg/Kg, para As de 2,045 mg/Kg y para Mn de 619 mg/Kg en Villa de la Paz. Monroy *et al.* (2002), encontraron concentraciones de 19 a 17,384 mg/Kg de As, de 15 a 7,200 mg/Kg de Cu, de 31 a 3,450 mg/Kg de Pb y de 26 a 6,270 mg/Kg de Zn. Razo *et al.* (2002), reportaron concentraciones de suelo entre 19 a 17 384 mg/Kg de As, de 15 a 7200 mg/Kg de Cu, de 31 a 3450 mg/Kg de Pb y de 26 a 6270 mg/Kg de Zn. Razo *et al.* (2004), determinaron la concentración mínima y máxima de As, de 19 a 17,384 mg/Kg, para Cu de 15 a 7200 mg/Kg, el Pb de 31 a 3,450 mg/Kg y para Zn de 26 a 6,270 mg/Kg en Villa de la Paz, el concluye que estos valores están por arriba de la normativa de México de los límites permisibles de metales en suelo. González-Mille (2006), reportó las concentraciones medias  $\pm$  desviación estándar: para As registró  $222.1 \pm 53.1$  mg/Kg, para Cu  $231.9 \pm 55.7$

mg/Kg, para Pb  $204.3 \pm 80.1$  mg/Kg y en el caso del Zn encontró  $175.4 \pm 35.9$  mg/Kg en este sitio impactado. Este autor también determinó que los valores encontrados en el sitio impactado fueron más altos que los sitios de referencia, observó que el As fue 345 veces más alto, el Cu 27 veces, el Pb 52 veces y el Zn 40 veces. Otro estudio el cual fue realizado por Márquez (2008), determinó concentraciones totales de As de 13,443.4 mg/Kg, de Cd de 397.6 mg/Kg, de Fe de 22,983.3 mg/Kg, de Cu de 201.33 mg/Kg, para el Pb de 1 301.7 mg/Kg y para el Zn de 8,236.7 mg/Kg en el distrito minero de Villa de la Paz, obteniendo valores que sobrepasan los valores de fondo. También menciona que el As y Pb presentan concentraciones por arriba de la Norma Oficial Mexicana para uso agrícola/residencial, lo cual considera que es un grave riesgo para la población. Gamiño-Gutiérrez *et al.* (2013), reportaron concentraciones mínimas y máximas en suelo superficial de As: 212 a 16,595 mg/Kg y de Pb: 37 a 16,991 mg/Kg en la zona urbana de Villa de la Paz, mencionan que los valores están por arriba de las normas mexicanas. En la figura 10 se muestra el sitio catalogado como referencia, en el cual podemos observar una abundante vegetación y en la Figura 11 se muestra el sitio elegido como contaminado, en este sitio existe poca vegetación y una coloración grisácea en el sustrato muestreado.



***Figura 10 Sitio de Referencia en Villa de la Paz.***



Figura 11 Sitios Contaminado en Villa de la Paz.

7.2. Ubicación de los sitios de muestreo.

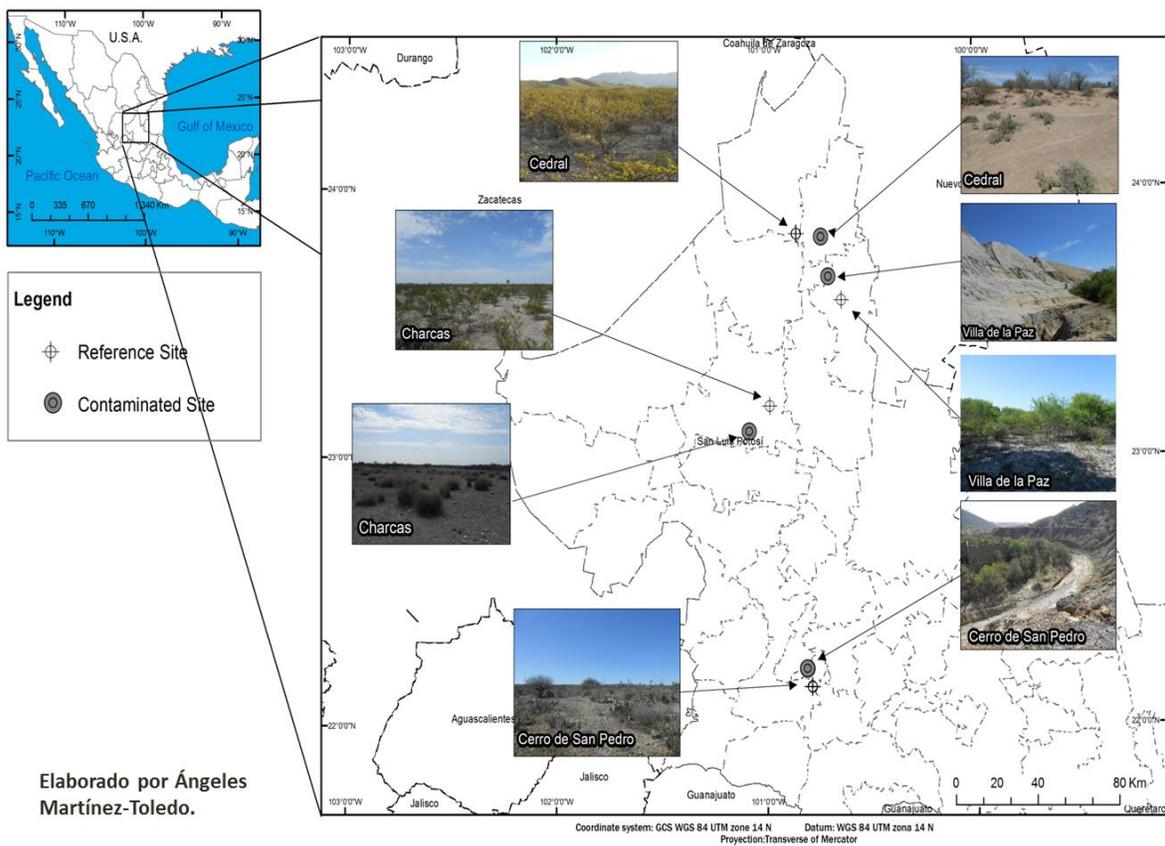


Figura 12 Sitios de muestreo.

### 7.3. Recolección de muestras

Se recolectaron 25 muestras por cada uno de los sitios seleccionados obteniendo un total de 200 muestras de suelo (en algunos de los sitios contaminados el sustrato colectado probablemente no sea suelo sino residuos mineros). La recolección se realizó en un trayecto de 250 m en el que cada 10 m se recogía una muestra compuesta de 5 submuestras a una profundidad de 5 a 10 cm y dentro de un área de 1 m<sup>2</sup>. Cada muestra se tamizó al momento de su recolección con un tamiz de 2 mm, y posteriormente se resguardaron en bolsas de plástico de 5 kg. También se tomaron alícuotas de cada una de las muestras y se colocaron en tubos cónicos de 50 ml estrictamente sellados con plástico de parafina y se resguardaron en una hielera junto con las demás muestras para su traslado. Una vez en el laboratorio el suelo colectado para la determinación de metales pesados se resguardo en contenedores de plástico de 50 kg para su posterior procesamiento (Figura 16). El suelo colectado en tubos cónicos para la medición de la actividad enzimática se colocó en el refrigerador a -20°C para resguardarlo hasta su procesamiento (Figura 17). El muestreo se realizó del 25 de enero al 25 de febrero del 2014, la ubicación exacta de los puntos muestreados se encuentran en el Anexo II.



*Figura 13 Almacenamiento en contenedores.*



*Figura 14 Resguardo en Refrigerador.*

#### **7.4. Determinación de Metales Pesados**

##### **7.4.1. Determinación de metales pesados con el analizador portátil Niton XL3t GOLD de Thermo Scientific.**

Se utilizó el analizador ambiental Thermo Scientific Niton XL3t Gold Serie 500 de fluorescencia de rayos X (XRF), comúnmente usado para análisis de minería. Los límites de detección que maneja el aparato son los siguientes: As (7 mg/Kg), Cd (12 mg/Kg), Cu (13 mg/Kg), Mn (50 mg/Kg), Pb (8 mg/Kg), V (25 mg/Kg) y Zn (10 mg/Kg). Los límites de detección dependen de factores como: el tiempo de prueba, interferencias/matriz y nivel de confianza estadística. El aparato calcula las cargas como tres desviaciones estándar (intervalo de confianza del 99.7%) para cada elemento. Para realizar el análisis se tomó una muestra compuesta de 5 submuestras para obtener un valor con el menor sesgo posible. Después se tamizaron con un tamiz de 2 mm, las muestras de suelo en el sitio con el fin de remover interferencias como: hojas y tallos. El tamizado se realizó varias veces hasta obtener un total de 500 gr y se almacenaron en bolsas plásticas, inmediatamente se procedió a realizar el análisis con el analizador ambiental. Para el análisis, el aparato se calibro utilizando tres filtros durante 1 minuto cada uno, después se abrieron las bolsas donde se colectaron las muestras y se agitaron durante un minuto, se midió cada una de las muestras por triplicado, entre cada lectura se vuelve a revolver la muestra en la bolsa. Cada veinte lecturas se analizaban los estándares con el fin de calibrarlo nuevamente. Para el análisis se tomaron en cuenta los siguientes metales: As, Cd, Cu, Mn, Pb, V y Zn.

## 7.5. Propiedades Fisicoquímicas

### 7.5.1. Materia Orgánica

Se prepararon soluciones de concentraciones conocidas de sacarosa (10, 20, 30, 40, 50 mg/mL) con el fin de realizar una curva de calibración para determinar la concentración de cada una de las muestras.

Se pesó 1 g de suelo seco y se tomó 1 mL de cada uno de los estándares. Después se colocaron en matraces de Erlenmeyer de 150 mL. A estos matraces se les agregaron 10 mL de dicromato de sodio 0.5 M, después se les agregaron 20 mL de ácido sulfúrico, con el fin de evitar puntos localizados de ebullición, se agitó lentamente y se esperó hasta el término de la reacción. Después se agitó durante 30 min a 150 rpm en una plancha de agitación, esto se realizó en una campana de extracción. Después se le agregaron 70 mL de agua desionizada y se dejó reposar durante toda la noche. De esta muestra se tomó el sobrenadante y se registró la absorbancia a 600 nm. La curva de calibración se utilizó para determinar la concentración de las muestras a través de las absorbancias (Arrieche y Pacheco, 1998).

### 7.5.2. pH

Para la determinación del pH se utilizó el método potenciométrico (Willard *et al.*, 1974; Bates, 1983) correspondiente al manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados de Fernández *et al.*, (2006).

Se pesó 1 g de suelo y se colocó en un vaso de precipitado de 50 mL, se le agregaron 10 mL de agua desionizada, se colocó en agitación durante 10 min y se dejó reposar otros 10 min. Después se procedió a calibrar el potenciómetro con soluciones amortiguadoras de pH 7 y 4. Una vez calibrado el potenciómetro se dejó en reposo durante 10 minutos. Posteriormente se tomó la lectura del pH con el potenciómetro de la marca Hanna instruments modelo HI2316.

### **7.5.3. Conductividad Eléctrica**

Se pesaron 3 g de suelo, los cuales se colocaron en tubos cónicos de 50 mL. Después se le adicionaron 15 mL de agua desionizada. Se colocaron en agitación durante tres ciclos de 5 min a 800 rpm y luego se dejaron reposar durante 15 min. Inmediatamente al transcurrir el tiempo de reposo se agitaron y se colocaron en una centrífuga a una velocidad de 1000 rpm durante 10 min, una vez terminado el ciclo, se sacaron los tubos y se colocaron en gradillas para recuperar el sobrenadante. El sobrenadante se colocó en tubos de ensaye para medir la conductividad eléctrica con el electrodo previamente calibrado. Para este análisis se utilizó un conductímetro de la marca Hanna instruments modelo HI2316 (Benton-Jones, 2001).

### **7.5.4. Textura**

Se utilizó la técnica de determinación de textura del suelo por el procedimiento de Bouyoucos AS-09, tomada de la norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000.

La cual consiste en pesar 100 g de suelo los cuales se colocaron en vaso de precipitados de 1 L, enseguida se les adicionaron 40 mL de peróxido de hidrógeno al 30 % con el fin de destruir la materia orgánica y se puso a evaporar hasta sequedad, este paso se repitió las veces necesarias hasta que terminara la reacción entre materia orgánica del suelo y peróxido de hidrogeno. Una vez que el suelo ya no presentó reacción y que se secó, se pesaron 50 gr y se colocaron en un vaso para batidora con 10 mL de hexametafosfato y se colocó en agitación durante 5 minutos a una velocidad media. Una vez transcurrido el tiempo la mezcla se colocó en una probeta graduada y se aforó a un litro con agua desionizada y se tapó con papel parafina. Después se agitó la probeta fuertemente durante 10 segundos y se dejó reposar durante 30 segundos, se introdujo el densímetro para tomar la primera lectura correspondiente a las arenas, enseguida se dejaron transcurrir 2 horas y se introdujo nuevamente el densímetro para tomar la segunda lectura que corresponde a las arcillas. Una vez tomadas las lecturas se utilizó un termómetro para determinar la temperatura de la solución de las probetas con el fin de corregir las mediciones. Para determinar el porcentaje de arenas la primera lectura que es a los 40 s se multiplicó por dos y se le restó 100. La lectura de 40 s corresponde al porcentaje de arcilla más el porcentaje

de limo. Para obtener el porcentaje de arcilla la lectura a las 2 horas se multiplicó por dos. Para el porcentaje de limo se restó el porcentaje de arena y de arcilla. Para la lectura se utilizó un densímetro calibrado a 100 g.

## **7.6. Actividad Enzimática**

Para la medición de las actividades enzimáticas se realizaron curvas de calibración (Anexo 1). Solo se utilizaron curvas con un coeficiente de determinación de  $R^2 = 0.999$ . Las muestras se colectaron en un periodo de 30 días. Cada 7 días se realizaba la colecta y al día posterior a esta se realizaba la medición de la actividad enzimática este procedimiento se siguió con los 4 sitios muestreados. La medición de la actividad enzimática se realizó por triplicado y como control se utilizó un blanco (Anexo 1).

### **7.6.1. Deshidrogenasa**

Se estimó la actividad de la enzima Deshidrogenasa mediante la técnica del Método Benefield et al., 1977; von Mersi y Schinner, 1991; von Mersi, 1996; and Shaw y Burns, 2006. Este método se basa en la medida espectrofotométrica del iodonitrotetrazolio formazán (INTF) producido por la reducción del 2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil-5-feniltetrazolio (INT) en suelo incubado con INT en medio tamponado y en oscuridad durante 1 hora a 40 °C. Después se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 464 nm. La actividad de la deshidrogenasa se expresó en  $\mu\text{g}$  de INTF  $\text{g}^{-1}$  suelo seco  $\text{h}^{-1}$ .

### **7.6.2. Ureasa**

Se estimó la actividad de la enzima Ureasa mediante la técnica de Determinación Colorimétrica de amonio, método propuesto por Kandeler y Gerber (1988). Esta técnica se basa en la determinación colorimétrica del amonio liberado en la incubación de una solución de suelo a 37 °C durante 2 h. La determinación del amonio se realizó a través de la reacción de Berthlot con ciertas modificaciones. La reacción de Berthelot consiste en la reacción del amonio en medio alcalino con un agente colorante dando monocloramina, que con timol se transforma en 2,2-iso-propil-5, 5-metil-indofenol, compuesto coloreado y cuya intensidad de color es proporcional a la concentración del mismo. En este método el

amoniacado producido por la actividad ureasa reacciona con salicilato y dicloro iso-cianuro para dar un color verde azulado. Se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 610 nm y es directamente proporcional a la concentración del nitrógeno amoniacal. La actividad de la ureasa se expresó en  $\mu\text{g}$  de  $\text{NH}_4\text{-N g}^{-1} \text{ 2 h}^{-1}$ .

### 7.6.3. $\beta$ -Glucosidasa y $\beta$ -Galactosidasa

Se estimó la actividad enzimática de la  $\beta$ -Glucosidasas en suelo según el método de Eivazi y Tabatabai (1988). El método se basa en la determinación colorimétrica del p-nitrofenol obtenido por la acción de la  $\beta$ -glucosidasa después de incubar el suelo con el sustrato  $\beta$ -D-glucopiranosido en medio tamponado ajustada a un pH 6. La incubación se llevó a cabo a 37 °C durante 1 hora y el p-nitrofenol liberado se extrajo por filtración después de la adición de  $\text{CaCl}_2$  y tampón THAM ajustado a un pH 12. Después se registró la absorbancia a una longitud de onda de 405 nm. La actividad de la  $\beta$ -galactosidasa y  $\beta$ -glucosidasa se expresó en  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

### 7.6.4. Arilsulfatasa

Se estimó la actividad enzimática de la Arilsulfatasa en suelo según el método de Tabatabai y Bremner, 1970. En este método se utiliza la capacidad hidrolítica de la enzima sobre un sustrato artificial: p-nitrofenilsulfato cuyo producto, p-nitrofenol, se evalúa espectrofotométricamente a una longitud de onda de 420 nm en un medio fuertemente básico, condiciones bajo las que se desarrolla un intenso color amarillo. La actividad de la arilsulfatasa se expresó en  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

### 7.6.5. Fosfatasa

Se estimó la actividad enzimática de la Arilsulfatasa en suelo según el método de Tabatabai and Bremner, 1969; Eivazi and Tabatabai, 1977. El método se basa en la determinación espectrofotométrica del p-nitrofenol liberado cuando el suelo es incubado a 37°C 1 h con disolución tamponada de p-nitrofenilfosfato. Este método también toma en cuenta el hecho de que las disoluciones alcalinas de este compuesto tienen color amarillo. Se leyó la

absorbancia a una longitud de 405 nm. La actividad de la fosfatasa se expresó en *p*-nitrofenol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

### 7.7. Análisis Estadístico

El análisis de normalidad (Test de Shapiro–Wilk) indicó que los datos no se ajustaron a una distribución normal. Debido a esto, se realizaron bases de datos en Excel y después se realizaron cuadros donde se presentaron estadísticas descriptivas (Mediana, mínimo y máximo). Se determinó el porcentaje de inhibición utilizando la fórmula propuesta por Kucharski *et al.*, 2009:

$$In = \left( \frac{A}{A_k} - 1 \right) 100$$

Dónde:

In: % de inhibición.

A: Actividad enzimática en suelo contaminado.

A<sub>k</sub>: Actividad enzimática en suelo control (no contaminado).

Para verificar si existían diferencias entre sitios (contaminado vs referencia) por variable, se utilizó la U Mann-Whitney. Con el fin de encontrar si existe alguna diferencia entre los valores encontrados de cada variable por municipio se utilizó el análisis de Kruskal-Wallis. Las gráficas se realizaron con ayuda del software GraphPad Prism Version 6. Para encontrar si existe algún tipo de asociación entre las variables de exposición (contaminantes ambientales) y de efecto (Características físicas y químicas) se realizaron correlaciones múltiples. Este análisis se realizó con el software Statistica Versión 10 de Statsoft (STATISTICA. 1993. StatSoft, Tulsa, USA.). Por último se realizó un análisis multivariable (Modelamiento lineal basado en distancia-DistLM) entre la actividad biológica (Deshidrogenasa, Ureasa, Galactosidasa, Glucosidasa, Fosfatasa y Arilsulfatasa) y las variables confusoras (As, Cd, Cu, Mn, Pb, Zn, % arcilla, pH, CE y MO) para este análisis se utilizó el software PRIMER 6 Versión 6.1.18 & PERMANOVA Versión 1.0.8.

## CAPÍTULO 6

### 8. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

#### 8.1. Análisis de metales pesados

Los metales tienen una densidad mayor o igual a  $5 \text{ g/cm}^3$ , algunos de estos metales como Cu, Zn y Mn son esenciales para el mantenimiento de la vida y participan en el crecimiento y metabolismos microbianos. Algunos otros metales no se les conoce alguna función biológica por lo tanto representan un riesgo tóxico para la biota del suelo, en este grupo se encuentra el Au, Ag, Pb y Cd. Estos elementos suelen representar una alta toxicidad para las plantas, microorganismos, enzimas presentes en el suelo afectando de esta manera la salud del suelo (Cañizares-Villanueva, 2000). En los cuadros 3, 4, 5 y 6 se presenta el resumen estadístico de las concentraciones registradas en los sitios muestreados.

##### 8.1.1. Cerro de San Pedro

En los sitios de referencia se registró la presencia de Mn Pb y Zn y en el sitio contaminado se registró la presencia de As, Cu, Mn, Pb, Zn, las concentraciones obtenidas se presentan en el Cuadro 3. Se observó mayor concentración de Mn ( $p < 0.01$ ), Pb ( $p < 0.01$ ) y Zn ( $p < 0.01$ ) en los sitios catalogados como contaminados con respecto a los sitios de referencia. En el caso del As y Cu no se realizó el análisis estadístico debido a que en el sitio de referencia no se obtuvieron valores, más bien se obtuvo no detectables. El Pb y Zn registraron las mayores concentraciones en el sitio contaminado (Cuadro 3). El Pb es un elemento que no tiene alguna función biológica y el Zn es un elemento esencial para las plantas y animales, pero en alta concentración suele tener un efecto tóxico (OMS, 2015; Osman, 2013 y Reinhold, 1975). Este sitio ha sido objeto de estudio debido a la presencia de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT), Rodríguez (2011), registró concentraciones medias de Pb de 31 a 37,364 mg/Kg, As de 1 a 43,228 mg/Kg, Cd de 0.2 a 54 mg/Kg, Cu de 6 a 603 mg/Kg, Zn de 32 a 5,053 mg/Kg y Mn de 75 a 1,261 mg/Kg en suelo. Esta información indica una relación de concentraciones altas en los sitios en donde se sentaron haciendas de beneficio. Otro estudio realizado por Ortega (2012), en Cerro de San Pedro

reporta concentraciones de As de 216.9 mg/Kg que superan la Norma Oficial Mexicana de uso agrícola la cual es de 22 mg/Kg, para Cd encontró una concentración media de 19 mg/Kg solo en algunos puntos de muestreo se superó la Norma Oficial Mexicana de uso agrícola/residencial que es de 37 mg/Kg y por último el Pb registró 1,726 mg/Kg el cual superó la Norma oficial Mexicana para uso agrícola/residencial que es de 400 mg/Kg. Se creó que las actividades metalúrgicas realizadas por más de 400 años en Monte Caldera, son la principal causa del aumento de las concentraciones de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT), debido a que el método de procesamiento de los metales en bruto se realizaba a través de haciendas de beneficio que consistía en la separación del metal de la piedra principalmente por el método de patio en el cual se utilizaba sulfato de cobre o magistral<sup>74</sup> y mercurio; y el método de toneles y cloruración, aquí se utilizaban cedazos metálicos, sal, mercurio y hierro (Gámez, 2004).

*Cuadro 3 Concentración de metales pesados en una localidad de Cerro de San Pedro.*

<i>Cerro de San Pedro</i>		
<i>Parámetro</i>	<i>Referencia (n=25)</i>	<i>Contaminado (n=25)</i>
<i>As (mg/kg)</i>	N.D.	1,483.2 (128.7 – 3,028.0)
<i>Cd (mg/kg)</i>	N.D.	N.D.
<i>Cu (mg/kg)</i>	N.D.	128.3 (6.5 - 286.8)
<i>Mn (mg/kg)</i>	583.3 (454.5 - 862.5)	258.5* (25.0 – 1,763.1)
<i>Pb (mg/kg)</i>	65.7 (34.5 - 100.6)	6,485.1** (1,124.5 – 18,537.8)
<i>Zn (mg/kg)</i>	92.4 (77.6 - 113.7)	3,509.2** (360.7 – 17,080.1)

*Mediana (Min-Max), p>0.05\*, p<0.01\*\*, N.D.: No detectable.*

### 8.1.2. Charcas

En el municipio de Charcas, en el sitio catalogado como referencia solo se registró la presencia de Mn, Pb y Zn y en el sitio catalogado como contaminado se registró la presencia de Cd, Cu, Mn, Pb y Zn, en el Cuadro 4 se muestran las concentraciones obtenidas por tipo de sitio. Se encontró que los valores de Cd, Cu, Mn (p<0.01), Pb

( $p < 0.01$ ) y Zn ( $p < 0.01$ ) presentaron concentraciones elevadas en el sitio contaminado con respecto al sitio de referencia. Solo no se realizó el análisis estadístico en Cd y Cu debido a que se obtuvieron valores no detectables en el sitio de referencia. Las mayores concentraciones registradas en el sitio contaminado fueron de Zn y Pb (Cuadro 4). El Pb es un elemento de cual no se tiene registrado que realice alguna función biológica y el Zn es un elemento esencial para las plantas y animales, pero en alta concentración suele tener un efecto tóxico (Reinhold, 1975; Osman, 2013; OMS, 2015). Al tomar en cuenta las concentraciones medias en la corteza continental encontramos que el As es de 2 mg/Kg (Márquez, 2008), para Cu es de 100 mg/Kg, el Pb es de 15 mg/Kg, el Mn es de 350 a 2,000 mg/Kg y por último el Zn es de 10 a 300 mg/Kg, y las concentraciones medias de suelos de diferentes sitios del mundo para As es de 7 mg/Kg, para Cd es de 0.4 mg/Kg, en el caso del Cu es de 39 mg/Kg, el Mn es de 488 mg/Kg, el Pb es de 27 mg/Kg y el Zn muestra concentraciones de 70 mg/Kg (Kabata-Pendias, 2011), observamos que los valores obtenidos en el sitio contaminado son superiores. Esto nos indica que las actividades metalúrgicas presentes en este poblado han ocasionado el aumento de los Elementos Potencialmente Tóxicos. Debido a que los procesos de separación del metal de la piedra (patio, toneles y cloruración) utilizaba sulfato de cobre o magistral<sup>74</sup>, mercurio, cedazos metálicos, sal, y hierro (Gámez, 2004).

*Cuadro 4 Concentración de metales pesados en una localidad de Charcas.*

<i>Parámetro</i>	<i>Charcas</i>	
	<i>Referencia (n=25)</i>	<i>Contaminado (n=25)</i>
<i>As (mg/kg)</i>	N.D.	N.D.
<i>Cd (mg/kg)</i>	N.D.	455.1 (6.0 - 695.2)
<i>Cu (mg/kg)</i>	N.D.	9,095.8 (6.5 - 13,927.5)
<i>Mn (mg/kg)</i>	844.3 (716.1 - 1,027.2)	3,092.6** (716.0 - 3,898.9)
<i>Pb (mg/kg)</i>	32.7 (19.4 - 42.8)	34,128.4** (153.5 - 43,201.7)
<i>Zn (mg/kg)</i>	104.0 (82.8 - 119.8)	68,970.1** (400.9 - 95,892.7)

*Mediana (Min-Max),  $p > 0.05$ \*,  $p < 0.01$ \*\* , N.D.: No detectable.*

### 8.1.3. Cedral

En el municipio de Cedral, en el sitio de referencia se registró la presencia de As, Mn, Pb y Zn y en el sitio contaminado se encontró Cd, Cu, Mn, Pb y Zn, las concentraciones obtenidas se muestran en el Cuadro 5. Se determinó que las concentraciones de Cd, Cu, Mn ( $p < 0.01$ ), Pb ( $p < 0.01$ ) y Zn ( $p < 0.01$ ) están elevadas en el sitio contaminado con respecto al sitio de referencia y la concentración de As esta elevada en el sitio de referencia con respecto al contaminado. Para el Cd y Cu no se realizó el análisis estadístico debido a que se obtuvieron no detectables en los sitios de referencia. Las concentraciones más altas las registró el Pb y Zn en el sitio contaminado (Cuadro 5). Del Pb no se tiene registro de que cumpla alguna función biológica importante y el Zn es un elemento esencial para las plantas y animales, en altas concentraciones suelen ser tóxicos (OMS, 2015; Osman, 2013 y Reinhold, 1975). En este sitio Flores-Ramírez *et al.*, (2011), realizaron un estudio en el cual tomo 49 muestras de polvo en las cuales encontró concentraciones de 98 a 4,225 mg/Kg de Plomo. Flores-Ramírez *et al.* (2011), menciona que las altas concentraciones de plomo son causadas por los pasivos mineros históricos existentes en Cedral. Se sabe que las haciendas de beneficio procesaban los metales en bruto a través del método de patio (amalgamación con mercurio) (Flores-Ramírez *et al.*, 2011). Este método genero residuos y estos residuos fueron apilados en dos sitios conocidos como: “El caballo” y “Jesús María” (Morton-Bermea *et al.*, 2015). Por lo tanto se creó que las elevadas concentraciones de Elementos Potencialmente Tóxicos registradas en Cedral son producto de los procesos metalúrgicos llevados a cabo en las haciendas de beneficio.

*Cuadro 5 Concentración de metales pesados en una localidad de Cedral.*

<i>Parámetro</i>	<i>Cedral</i>	
	<i>Referencia (n=25)</i>	<i>Contaminado (n=25)</i>
<b>As (mg/kg)</b>	28.2 (3.5 - 49.7)	N.D.
<b>Cd (mg/kg)</b>	N.D.	6.0 (6.0 - 309.3)
<b>Cu (mg/kg)</b>	N.D.	1,828.9 (1,107.5 – 2,619.7)
<b>Mn (mg/kg)</b>	701.7 (482.1 - 879.0)	4,165.1** (1,870.4 – 6,218.4)
<b>Pb (mg/kg)</b>	26.3	8,272.3**

	(8.0 - 55.7)	(5,814.6 – 10,108.0)
<b>Zn (mg/kg)</b>	113.6	4,539.4**
	(101.0 - 138.6)	(3,109.3 – 7,277.4)

*Mediana (Min-Max), p>0.05\*, p<0.01\*\*, N.D.: No detectable.*

#### 8.1.4. Villa de la Paz

En el municipio de Villa de la Paz se encontró la presencia de As, Mn, Pb y Zn en el sitio de referencia y se registró la presencia de As, Cu, Mn, Pb y Zn en el sitio contaminado, las concentraciones obtenidas se muestran en el Cuadro 6. Se observó una elevada ( $p<0.01$ ) concentración de As, Mn, Pb y Zn en el sitio catalogado como contaminado con respecto al sitio de referencia. Solo en el caso de Cu no se realizó el análisis estadístico debido a que en el sitio de referencia se obtuvieron valores no detectables. El As y el Zn registraron las concentraciones más altas en los sitios contaminados (Cuadro 6). El As es catalogado como altamente tóxico y tiene la capacidad de inhibir el sistema inmune y dañar el sistema nervioso central (ATSDR, 2007). El Zn es un elemento esencial para las plantas y animales en bajas concentraciones, y en altas suele ser tóxico (OMS, 2015; Osman, 2013 y Reinhold, 1975). En la actualidad la zona de Villa de la Paz pertenece al distrito minero Santa María de la Paz. En este lugar se han realizado numerosos estudios como el presentado por: González-Mille (2006), quien reportó las siguientes concentraciones medias  $\pm$  desviación estándar en un sitio impactado de este distrito minero: encontró  $222.1 \pm 53.1$  mg/Kg de As,  $231.9 \pm 55.7$  mg/Kg de Cu,  $204.3 \pm 80.1$  mg/Kg de Pb y  $175.4 \pm 35.9$  mg/Kg de Zn. También encontró que los valores del sitio impactado fueron más altos que los sitios de referencia, y el As fue 345 veces más alto, el Cu 27 veces, el Pb 52 veces y el Zn 40 veces. Chiprés, (2008), encontró concentraciones de metales pesados de interés ambiental relacionados con el panorama geoquímico del altiplano. Al comparar el horizonte “A” contra el horizonte “C” encontró un aumento de la concentración de estos metales en el horizonte “A” mostrando los siguientes rangos de concentraciones: As 4 a 324 mg/Kg, Cd de 0.18 a 10.35 mg/Kg, Cu de 6.8 a 828 mg/Kg, Mn de 27 a 1,560 mg/Kg, y Zn de 7 a 506 mg/Kg con respecto al horizonte “C” As 1 a 351mg/Kg, Cd de 0.01 a 4.97 mg/Kg, Cu de 1.6 a 383 mg/Kg, Mn de 2.5 a 850 mg/Kg, y Zn de 1 a 434 mg/Kg. Márquez (2008), determino las concentraciones totales de As (13,443.4 mg/Kg), Cd (397.6 mg/Kg), Fe

(22,983.3 mg/Kg), Cu (201.33 mg/Kg), Pb (1,301.7 mg/Kg) y Zn (8,236.7 mg/Kg) en el distrito minero de Villa de la Paz. Márquez (2008), también menciona que el As y Pb presenta concentraciones por arriba de la Norma Oficial Mexicana de uso agrícola/residencial (As 22 mg/Kg y Pb 400 mg/Kg), lo cual considera que es un grave riesgo para la población. En este distrito minero se encuentra un yacimiento tipo skarn de Pb-Zn-Ag (Cu-Au), en este lugar existen dos diferentes tipos de mineralización: una mena de Pb-Zn-Ag y otra de Cu-Au (Zn) (Razo, 2002, Chiprés, 2008). La actividad metalúrgica llevada a cabo por más de 200 años probablemente sea la fuente de las concentraciones altas de Elementos Potencialmente Tóxicos los cuales han generado a lo largo de este periodo una contaminación en suelo, agua y sedimento (Razo, 2002, Chiprés, 2008).

*Cuadro 6 Concentración de metales pesados en una localidad de Villa de la Paz.*

<i>Parámetro</i>	<i>Villa de la Paz</i>	
	<i>Referencia (n=25)</i>	<i>Contaminado (n=25)</i>
<i>As (mg/kg)</i>	10.6 (3.5 - 31.9)	7,188.2** (3.5 – 28,274.0)
<i>Cd (mg/kg)</i>	N.D.	N.D.
<i>Cu (mg/kg)</i>	N.D.	1,456.6 (208.1 – 2,345.2)
<i>Mn (mg/kg)</i>	744.1 (586.4 - 862.2)	3,101.4** (1,442.5 – 9,615.8)
<i>Pb (mg/kg)</i>	22.9 (4.0 - 47.863)	1,053.7** (466.1 – 3,486.4)
<i>Zn (mg/kg)</i>	88.9 (69.4 - 109.7)	3,781.1** (1,165.9 – 13,684.7)

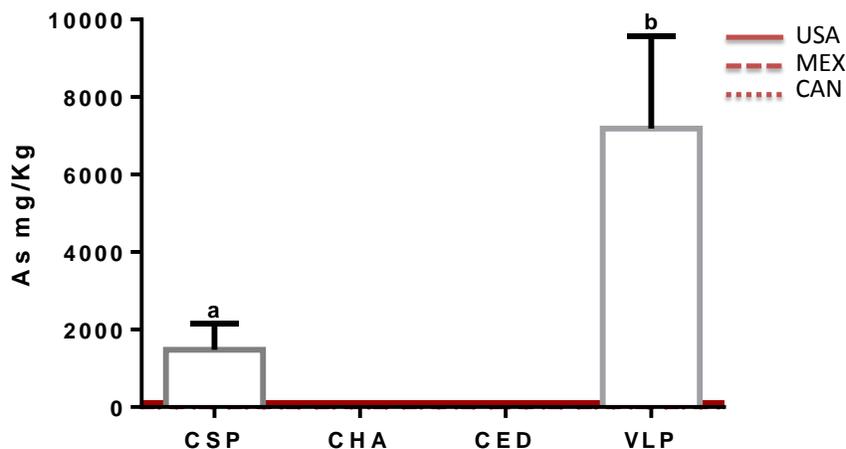
*Mediana (Min-Max), p>0.05\*, p<0.01\*\*, N.D.: No detectable.*

### 8.1.5. Comparación de Sitios

#### 8.1.5.1. As

La mayor concentración de As por sitio contaminado la mostró Villa de la Paz seguido por Cerro de San Pedro, solo en Cedral y Charcas no se encontró presencia de este metaloide (Fig. 18). Tomando en cuenta las normas que existen para controlar la concentración permitida en el suelo, se encontró que de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana para uso de suelo agrícola/residencial de As (22 mg/kg), las concentraciones están por encima de la

norma 72 veces en Cerro de San Pedro y en Villa de la Paz 399 veces. Basándonos en las Guías de Calidad del Medio Ambiente de Canadá para As (12 mg/kg) encontramos que las concentraciones están 132 veces por arriba de esta norma en Cerro de San Pedro y en Villa de la Paz 732 veces. Si tomamos en cuenta las normas de la NOAA de As (100 mg/kg) para microorganismos en suelo encontramos que las concentraciones están 16 veces por encima en Cerro de San Pedro y en Villa de la Paz 87 veces. Al tomar en cuenta la normativa existente nacional e internacional observamos que los valores encontrados rebasan de la más laxa a la más rigurosa normativa. Existen diversos estudios que relacionan la actividad minera con residuos mineros (jales) y altas concentraciones de Elementos Potencialmente Tóxicos como: Puga *et al.* (2006), encontraron la presencia de As en el estado de Chihuahua, México, en donde se localiza una industria minera la cual cuenta con una presa de jales que cubre una superficie de 140 ha. Este autor realizó determinaciones en un trayecto alejándose de la zona contaminada y encontró concentraciones de 2,687 ppm en 300 m, 1,566 ppm en 1,200 m y 727 ppm en 2,400 m. Con estos datos determinó que entre más se alejaba del sitio problema disminuía la concentración del contaminante en el suelo. Zhang *et al.* (2013), realizaron un estudio en tierras de labranza que están cerca de una mina de plomo y cinc en China. El autor cuantificó arsénico (19.9 mg/Kg) y encontró que existía contaminación por arsénico en suelo. En los artículos citados anteriormente se puede observar una asociación entre el aumento de metales pesados en el suelo con la actividad minera. Las concentraciones reportadas en este estudio nos indican que los valores registrados están por arriba de las normativas, así como de los valores de fondo de los sitios y esto probablemente se deba a los residuos mineros presentes en los sitios.

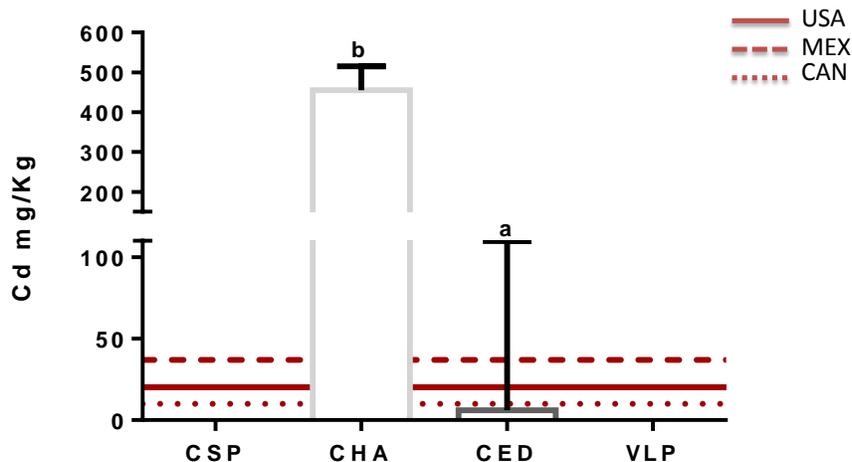


*Figura 15 Concentración de Arsénico en sitios problema. En el gráfico se expresa la mediana y el rango intercuartil. Las letras a y b representan la diferencia significativa obtenida mediante el análisis Kruskal Wallis. Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) y Villa de la Paz (VLP). Límite permisible de la norma Estados Unidos (USA), límite permisible de la norma Canadiense (CAN) y límite permisible de norma Mexicana (MEX).*

#### 8.1.5.2. Cd

En el caso del cadmio se encontró presencia de este metal en los 4 sitios seleccionados, siendo Charcas el de mayor concentración seguida por Cedral, Villa de la Paz y Cerro de San Pedro (Fig. 19). De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana para uso de suelo agrícola/residencial de Cd (37 mg/kg), las concentraciones encontradas están por encima de la norma 11 veces en Charcas, 1.6 veces en Cedral, 1.1 veces Villa de la Paz y solo Cerro de San Pedro se encuentra cumpliendo esta normativa. Al basarnos en las Guías de Calidad del Medio Ambiente de Canadá de Cd (10 mg/kg), se encontró que las concentraciones están 42 veces por arriba de esta norma en Charcas, 6 veces en Cedral, 4 veces en Villa de la Paz y 1.7 veces en Cerro de San Pedro. Si tomamos en cuenta las normas de la NOAA de Cd (20 mg/kg) para microorganismos en suelo, se encontró que las concentraciones están 21 veces por arriba de la norma en Charcas, 3 veces en Cedral, 2 veces en Villa de la Paz y las concentraciones encontradas en Cerro de San Pedro no sobrepasan los valores establecidos por la norma. Al tomar en cuenta la normativa existente nacional e internacional observamos que los valores encontrados rebasan la normativa en algunos de los sitios catalogados como problema. Al revisar la literatura en donde se mide la

concentración de Elementos Potencialmente Tóxicos en suelo se observa una relación directa entre el aumento de estos en presencia de actividades mineras o residuos mineros. Entre los estudios existentes se encuentra el de Lou *et al.* (2015), quienes encontraron concentraciones medias de Cd ( $16.70 \pm 1.05$  mg/Kg) en suelo, en una mina de Mn abandonada en Xiangtan, provincia de Hunan, China. Zhang *et al.* (2013), realizaron un estudio en tierras de labranza que están cerca de una mina de plomo y cinc en China. Zhang *et al.* (2013), cuantificaron concentraciones medias de cadmio ( $28.9 \pm 24.3$  mg/kg) y determinaron que existe contaminación por cadmio en suelo. Yao *et al.* (2010), realizaron un estudio en la ciudad de Huainan, China, en ese estudio se tomaron muestras de suelo a una profundidad de 0-20 cm para cuantificar la concentración media de Cd en tres sitios mineros: Mina de Datong ( $0.31 \pm 0.12$  mg/kg), Mina Xinzhuangzi ( $0.51 \pm 0.14$  mg/kg) y Mina Panyi ( $0.43 \pm 0.16$  mg/kg); se concluyó que existe contaminación debido a que los valores son más altos que los valores de fondo. Li *et al.* (2014), analizaron suelos en el norte del condado de Miyun, Beijín, China, estos suelos fueron tomados en el área donde se encuentra una mina de oro, al analizar los suelos se encontraron valores de Cd de  $0.65$  mg/kg, estos valores están por arriba de los valores de fondo de esta ciudad lo cual mostró una contaminación por este metal. Todos los estudios anteriores concuerdan en que el aumento de las concentraciones de Elementos Potencialmente Tóxicos debido a la presencia de actividades metalúrgicas ya que estas concentraciones sobrepasan los valores de fondo.

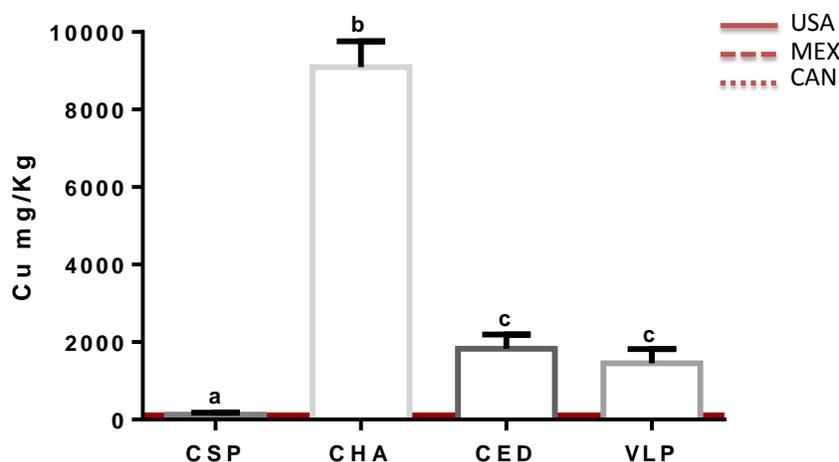


**Figura 16** Concentración de Cadmio en sitios problema. En el gráfico se expresa la mediana y el rango intercuartil. Las letras a y b representan la diferencia significativa obtenida mediante el análisis Kruskal Wallis. Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) y Villa de la Paz (VLP). Límite permisible de la norma Estados Unidos (USA), límite permisible de la norma Canadiense (CAN) y límite permisible de norma Mexicana (MEX).

### 8.1.5.3. Cu

Se encontró presencia de cobre en los 4 sitios seleccionados, siendo Charcas el que presentó la mayor concentración, seguido por Cedral, Villa de la Paz y Cerro de San Pedro (Fig. 20). De acuerdo con la norma Guías de Calidad del Medio Ambiente de Canadá para Cu (63 mg/Kg), las concentraciones están 134 veces por arriba de esta norma en Charcas, 28 veces en Cedral, 21 veces en Villa de la Paz y 2 veces en Cerro de San Pedro. Al tomar en cuenta las normas de la NOAA de Cu (100 mg/Kg) para microorganismos en suelo encontramos que las concentraciones están 84 veces por arriba de la norma en Charcas, 17 veces en Cedral, 13 veces en Villa de la Paz y 1.3 veces Cerro de San Pedro. Al tomar en cuenta la normativa internacional observamos que los valores encontrados rebasan la normativa en algunos de los sitios catalogados como problema. Estudios realizados con anterioridad encuentran valores similares y Elementos Potencialmente Tóxicos en zonas mineras como: Rout *et al.* (2015), encontraron la presencia de Cu en una mina de carbón de la India, obteniendo un rango de concentraciones de 23.69 a 83.33 mg/Kg. Sieghardt, (1990), analizó muestras de suelo de una mina en el área de Carinthia, Australia, las

muestras de suelo tomadas las tamizó con un malla de 2.0-0.2 mm, en esta zona el encontró concentraciones de 200 mg/Kg de Cu. Yao *et al.* (2010), realizaron un estudio en la ciudad de Huainan, China. Se tomaron muestras de suelo a una profundidad de 0-20 cm para cuantificar la concentración media de Cu en tres sitios mineros: Mina de Datong ( $32.06 \pm 5.13$  mg/Kg), Mina Xinzhuangzi ( $43.52 \pm 9.87$  mg/Kg) y Mina Panyi ( $40.28 \pm 7.66$  mg/Kg), se determinaron que existe un grado de contaminación debido a que los valores son más altos que los valores de fondo. Li *et al.* (2014), analizaron suelos en el norte del condado de Miyun, Beijín, China, estos suelos fueron tomados en el área donde se encuentra una mina de oro, al analizar los suelos se encontraron valores de Cu de 58.30 mg/Kg dicho valor se encuentra por arriba de los valores de fondo de esta ciudad lo cual indica una contaminación por este metal.

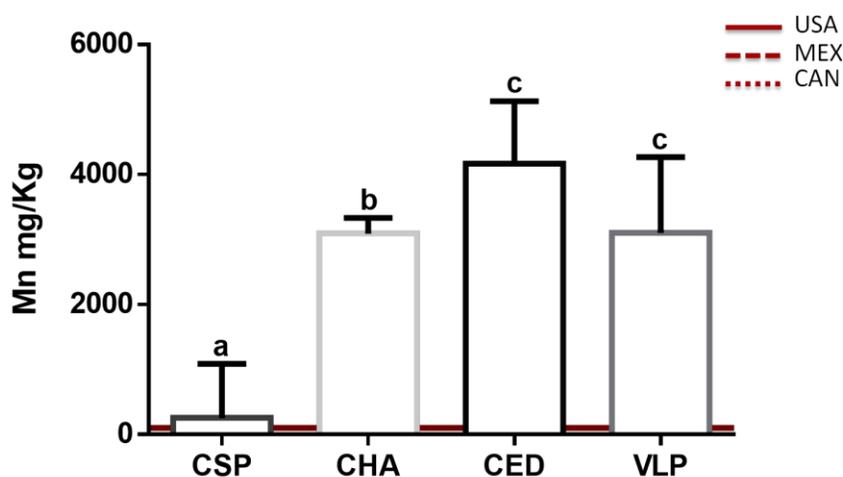


**Figura 17** Concentración de Cobre en sitios problema. En el gráfico se expresa la mediana y el rango intercuartil. Las letras a y b representan la diferencia significativa obtenida mediante el análisis Kruskal Wallis. Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) Y Villa de la Paz (VLP). Límite permisible de la norma Estados Unidos (USA), límite permisible de la norma Canadiense (CAN) y límite permisible de norma Mexicana (MEX).

#### 8.1.5.4. Mn

En el caso del magnesio se encontró presencia de este metal en los 4 sitios seleccionados, siendo Cedral el de mayor concentración, seguido por Villa de la Paz, Charcas y Cerro de San Pedro (Fig. 21). Al basarnos en la norma de la NOAA para Mn (100 mg/Kg) para

microorganismos en suelo encontramos que las concentraciones están 41 veces por arriba de la norma en Cedral, 40 veces en Villa de la Paz, 29 veces en Charcas y 5 veces en Cerro de San Pedro. Al tomar en cuenta la normativa internacional se observa que los valores encontrados rebasan la normativa en todos de los sitios catalogados como problema, se utilizó esta norma debido a que en México no existe normativa para el Mn. Estudios realizados anteriormente demuestran que podemos encontrar altas concentraciones de Elementos Potencialmente Tóxicos en sitios mineros. Lou *et al.* (2015), analizaron la concentración de metales pesados en una mina de Mn abandonada en Xiangtan, provincia de Hunan, China, el encontró concentraciones de  $6,195.53 \pm 16.66$  mg/Kg de Mn en suelos cercanos a la mina. Sieghardt (1990), analizó muestras de suelo de una mina en el área de Carinthia, Australia las muestras de suelo tomadas las tamizó con un tamiz de 2-0.2 mm, en esta zona el encontró concentraciones de 300 mg/Kg de Mn. En nuestro estudio encontramos una alta concentración de Mn cuyos niveles superan las normas mexicanas, canadiense y estadounidense, al comparar los datos obtenidos en los sitios contaminados con los sitios de referencia se encontró una mayor concentración de Mn. La característica que comparten estos lugares señalados por Lou *et al.* (2015) y Sieghardt (1990) son la actividad minera lo que explica la contaminación por la presencia de residuos o jales mineros.



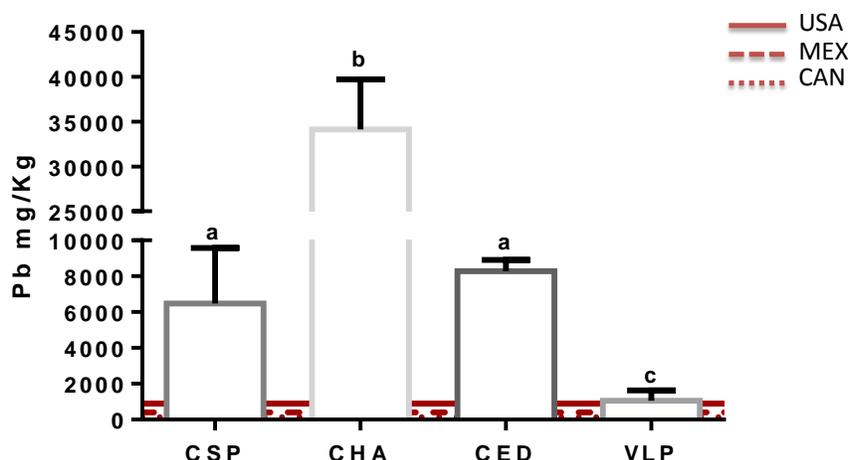
**Figura 18** Concentración de Magnesio en sitios problema. En el gráfico se expresa la mediana y el rango intercuartil. Las letras a y b representan la diferencia significativa obtenida mediante el análisis Kruskal Wallis. Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) Y Villa de la

*Paz (VLP). Límite permisible de la norma Estados Unidos (USA), límite permisible de la norma Canadiense (CAN) y límite permisible de norma Mexicana (MEX).*

#### **8.1.5.5. Pb**

Se encontró plomo en los 4 sitios seleccionados, el gradiente de concentración es: Charcas> Cedral> Cerro de San Pedro> Villa de la Paz (Fig. 22). De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana de uso de suelo agrícola/residencial de Pb (400 mg/Kg), las concentraciones encontradas están por encima de la norma 79 veces en Charcas, 19 veces en Cedral, 18 veces Cerro de San Pedro y 3 veces Villa de la Paz. Al basarnos en las Guías de Calidad del Medio Ambiente de Canadá de Pb (140 mg/Kg), se encontró que las concentraciones están 228 veces por arriba de esta norma en Charcas, 56 veces en Cedral, 52 veces en Cerro de San Pedro y 9 veces en Villa de la Paz. Si se toman en cuenta las normas de la NOAA de Pb (900 mg/Kg) para microorganismos en suelo encontramos que las concentraciones están 35 veces por arriba de la norma en Charcas, 8 veces en Cedral, 8 veces en Cerro de San Pedro y 1 vez en Villa de la Paz. Al tomar en cuenta la normativa existente nacional e internacional observamos que las concentraciones encontradas sobrepasan las normativas existentes en los sitios contaminados. Se han realizado estudios en zonas similares a las de Cerro de San Pedro, Charcas, Cedral y Villa de la Paz como: Puga *et al.* (2006), encontraron la presencia de Pb en el estado de Chihuahua, México, en donde se localiza una industria minera la cual cuenta con una presa de jales que cubre una superficie de 140 ha. Realizó determinaciones en un trayecto alejándose de la zona contaminada, encontró concentraciones de 1,115 ppm en 300 m, 1,115 ppm en 1200 m y 823 ppm en 2400 m determinó que entre más se alejaba del sitio problema disminuía la concentración del contaminante en el suelo. Lou *et al.* (2015), determinaron que existe concentración de Pb ( $596.99 \pm 3.65$  mg/Kg) en suelo cercano a una mina de Mn abandonada en Xiangtan, provincia de Hunan, China. Sieghardt (1990), analizó muestras de suelo de una mina en el área de Carinthia, Australia las muestras de suelo tomadas las tamizó con un tamiz de 2.0-0.2 mm, en esta zona el encontró concentraciones de 17, 500 mg/Kg de Pb. Zhang *et al.* (2013), realizaron un estudio en tierras de labranza que están cerca de una mina de plomo y cinc en China. El cuantificó plomo ( $1,001.7 \pm 1,080.4$  mg/Kg) y determinó que existe

contaminación por plomo en suelo. Yao *et al.* (2010), realizaron un estudio en la ciudad de Huainan, China. Se tomaron muestras de suelo a una profundidad de 0-20 cm para cuantificar la concentración de Pb en tres sitios mineros: Mina de Datong ( $44.75 \pm 7.83$  mg/Kg), Mina Xinzhuangzi ( $42.58 \pm 13.81$  mg/Kg) y Mina Panyi ( $52.93 \pm 17.72$  mg/Kg), se determinó que existe un grado de contaminación debido a que los valores son más altos que los valores de fondo. Li *et al.* (2014), analizaron suelos en el norte del condado de Miyun, Beijin, China, estos suelos fueron tomados en el área donde se encuentra una mina de oro, al analizar los suelos se encontraron valores de Pb de 109.0 mg/Kg, estos valores están por arriba de los valores de fondo de esta ciudad, lo cual mostró contaminación por este metal. Con estos estudios se demuestra que es común encontrar concentraciones elevadas de Elementos Potencialmente Tóxicos en zonas con actividad minera.



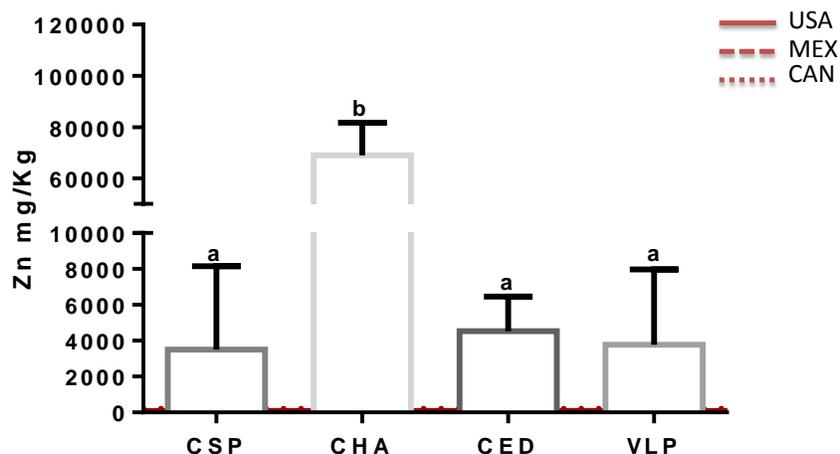
**Figura 19** Concentración de Plomo en sitios problema. En el gráfico se expresa la mediana y el rango intercuartil. Las letras a y b representan la diferencia significativa obtenida mediante el análisis Kruskal Wallis. Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) Y Villa de la Paz (VLP). Límite permisible de la norma Estados Unidos (USA), límite permisible de la norma Canadiense (CAN) y límite permisible de norma Mexicana (MEX).

#### 8.1.5.6. Zn

En el caso del cinc se encontró presencia de este metal en los 4 sitios seleccionados. Siendo Charcas el de mayor concentración seguido por Villa de la Paz, Cerro de San Pedro y Cedral (Fig. 23). De acuerdo con la norma Guías de Calidad del Medio Ambiente de

Canadá de Zn (200 mg/Kg) se encontró que las concentraciones están 327 veces por arriba de esta norma en Charcas, 25 veces en Villa de la Paz, 25 veces en Cerro de San Pedro y 23 veces en Cedral. Si tomamos en cuenta las normas de la NOAA de Zn (100 mg/Kg) para microorganismos en suelo encontramos que las concentraciones están 655 veces por arriba de la norma en Charcas, 51 veces en Villa de la Paz, 51 veces en Cerro de San Pedro y 47 veces en Cedral. Al tomar en cuenta la normativa internacional observamos que los valores encontrados rebasan las normas en los sitios catalogados como problema. Puga *et al.* (2006), encontró la presencia de Pb en el estado de Chihuahua, México, en donde se localiza una industria minera la cual cuenta con una presa de jales que cubre una superficie de 140 ha. Este autor realizó determinaciones en un trayecto alejándose de la zona contaminada, y encontró concentraciones de 1,836 ppm en 300 m, 1,787 ppm en 1200 m y 1,064 ppm en 2400 m; con estos datos determinó que entre más se alejaba del sitio problema disminuía la concentración del contaminante en el suelo.

La presencia de un determinado elemento tóxico generado mediante la actividad minera generalmente es indicador de otro u otros elementos tóxicos. Rout *et al.* (2015), encontraron concentraciones de Cu en una mina de carbón de la India, obteniendo concentraciones media de 75.97 mg/Kg. Lou *et al.* (2015), encontraron concentraciones totales de Zn de 621.84 mg/Kg, en suelo en una mina de Mn abandonada en Xiangtan, provincia de Hunan, China. Sieghardt (1990), analizó muestras de suelo de una mina en el área de Carinthia, Australia, las muestras de suelo tomadas las tamizó con un tamiz de 2-0.2 mm, en esta zona el encontró concentraciones de 8, 900 mg/Kg de Zn. Zhang *et al.* (2013), realizaron un estudio en tierras de labranza que están cerca de una mina de plomo y zinc en China. Zhang *et al.* (2013), cuantificaron concentraciones medias de cinc (461 mg/kg) y determinó que existe una contaminación por plomo en suelo. Esta información muestra la asociación de los Elementos Potencialmente Tóxicos con las actividades mineras basádonos en los estudios realizados en estas zonas.



*Figura 20 Concentración de Zinc en sitios problema. En el gráfico se expresa la mediana y el rango intercuartil. Las letras a y b representan la diferencia significativa obtenida mediante el análisis Kruskal Wallis. Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) Y Villa de la Paz (VLP). Límite permisible de la norma Estados Unidos (USA), límite permisible de la norma Canadiense (CAN) y límite permisible de norma Mexicana (MEX).*

## 8.2. Propiedades Físicoquímicas

Las propiedades físicas y químicas del suelo pueden influir sobre la toxicidad de los elementos traza. El impacto de estos metales sobre el suelo y sus consecuencias sobre la biota depende de la cantidad del metal y la forma química al igual que algunas propiedades que pueden influir en el medio como el contenido de materia orgánica, arcilla y el pH (Acosta y Tabatabai, 2000, Adamo *et al.*, 2006).

### 8.2.1. Cerro de San Pedro

Las propiedades fisicoquímicas del suelo del sitio contaminado con respecto al de referencia muestran diferencias importantes. Los niveles de arcilla, MO Y pH en los sitios contaminados fueron significativamente menores en los sitios contaminados con respecto a los sitios de referencia. En el caso de la CE ( $p < 0.01$ ) en el sitio contaminado fue considerablemente mayor con respecto al sitio de referencia. Se sugiere que existe una tendencia a un menor contenido de materia orgánica en el sitio contaminado con respecto al sitio de referencia. Para la CE observamos que el sitio de referencia tiene una salinidad muy ligera y el sitio contaminado es similar pero existe un aumento en la CE (Cuadro 8). Rodríguez, 2011 registró un rango de CE de 0.116-1.003 ds/m en una zona impactada por metales en Cerro de San Pedro. Se encontró una acidificación en el suelo, determinando que el pH en el sitio de referencia es medianamente alcalino y en el sitio contaminado obtuvimos un pH fuertemente ácido Rodríguez, 2011 midió el pH en este sitio encontrando valores de 4.5-8.1 de esta manera observando que el rango va de ácidos a alcalinos.

*Cuadro 7 Características fisicoquímicas del suelo en una localidad de Cerro de San Pedro.*

<i>Parámetro</i>	<i>Cerro de San Pedro</i>	
	<i>Referencia</i> ( <i>n=25</i> )	<i>Contaminado</i> ( <i>n=25</i> )
<i>Arcilla (%)</i>	16.0 (12.0 - 22.0)	10.0** (6.0 - 16.36)
<i>MO (%)</i>	3.897 (2.031 - 5.138)	1.927** (1.086 - 3.580)
<i>CE (ds/m)</i>	0.089	1.357**

	(0.051 - 0.308)	(1.015 - 4.25)
<i>pH</i>	8.340	4.40**
	(7.470 - 8.700)	(1.5 - 6.7)

*Mediana (Min-Max), p>0.05\*, p<0.01\*\**

### 8.2.2. Charcas

Observamos diferencias de las propiedades fisicoquímicas, se encontró una menor cantidad de arcilla, MO y pH ( $p<0.01$ ) en los sitios contaminados con respecto a los sitios de referencia. En el caso de la CE ( $p<0.01$ ) en el sitio contaminado se elevó considerablemente con respecto al sitio de referencia. Se determinó que existe un empobrecimiento de MO ya que encontramos en el sitio de referencia un nivel alto y en el sitio contaminado un nivel medio. Para la CE observamos que el sitio de referencia tiene una salinidad muy ligera y el sitio contaminado es similar pero existe un aumento en la salinidad. Se encontró que el sustrato muestreado (residuos mineros) de esta zona ha sufrido cambios, determinando que el pH en el sitio de referencia es medianamente alcalino y en el sitio contaminado obtuvimos un pH similar. Sin embargo se logra observar una ligera disminución, aunque significativa, de este parámetro en el sitio contaminado. (Cuadro 9).

*Cuadro 8 Características fisicoquímicas del suelo de una localidad de Charcas.*

<i>Parámetro</i>	<i>Charcas</i>	
	<i>Referencia</i> ( <i>n=25</i> )	<i>Contaminado</i> ( <i>n=25</i> )
<i>Arcilla (%)</i>	24.0 (22.0 - 30.0)	8.0** (4.0 - 46.0)
<i>MO (%)</i>	4.634 (4.294 - 5.190)	2.819** (2.053 - 4.461)
<i>CE (ds/m)</i>	0.062 (0.050 - 0.140)	0.844** (0.111 - 2.451)
<i>pH</i>	8.40 (7.70 - 8.60)	7.60** (7.30 - 8.10)

*Mediana (Min-Max), p>0.05\*, p<0.01\*\**

### 8.2.3. Cedral

Las propiedades fisicoquímicas determinadas indican diferencias en las propiedades físicas y químicas en el sitio contaminado. Se encontró una diferencia significativa en la arcilla, MO y pH ( $p < 0.01$ ) lo cual nos indica que existe una menor cantidad de arcilla, MO y pH en los sitios contaminados con respecto a los sitios de referencia. En el caso de la CE ( $p < 0.01$ ) en el sitio contaminado se elevó considerablemente con respecto al sitio de referencia. Se determinó que existe un empobrecimiento de materia orgánica ya que encontramos en el sitio de referencia un nivel alto y en el sitio contaminado un nivel bajo. Para la CE observamos que el sitio de referencia tiene una salinidad muy ligera y el sitio contaminado es similar pero existe un aumento en la salinidad. Se determinó que el pH en el sitio de referencia es fuertemente alcalino y en el sitio contaminado obtuvimos un pH medianamente alcalino (Cuadro 10). En base a estos resultados observamos que el sustrato muestreado (Residuos mineros) de esta zona ha sufrido cambios importantes.

*Cuadro 9 Características fisicoquímicas del suelo de una localidad de Cedral.*

<i>Parámetro</i>	<i>Cedral</i>	
	<i>Referencia</i> ( <i>n=25</i> )	<i>Contaminado</i> ( <i>n=25</i> )
<i>Arcilla (%)</i>	18.36 (2.0 - 22.0)	6.360** (1.640 - 16.360)
<i>MO (%)</i>	3.715 (3.198 - 4.824)	0.489** (0.331 - 2.957)
<i>CE (ds/m)</i>	0.064 (0.053 - 0.128)	0.739** (0.435 - 1.035)
<i>pH</i>	8.60 (8.50 - 9.00)	8.0** (7.90 - 8.10)

*Mediana (Min-Max),  $p > 0.05$ \*,  $p < 0.01$ \*\**

### 8.2.4. Villa de la Paz

Las propiedades fisicoquímicas obtenidas en Villa de la Paz indican que existen diferencias en los sitios contaminados con respecto al sitio de referencia, se encontraron diferencias significativas en la cantidad de arcilla, MO y pH ( $p < 0.01$ ) lo cual nos indica que hay una

menor cantidad de arcilla, MO y pH en los sitios contaminados con respecto a los sitios de referencia. En el caso de la CE ( $p < 0.01$ ) en el sitio contaminado se elevó considerablemente con respecto al sitio de referencia. Se determinó que existe un empobrecimiento de materia orgánica ya que encontramos en el sitio de referencia un nivel alto y en el sitio contaminado un nivel medio. Para la CE observamos que el sitio de referencia tiene una salinidad muy ligera y el sitio contaminado es similar pero existe un aumento en la salinidad. Se determinó que el pH en el sitio de referencia es medianamente alcalino y en el sitio contaminado obtuvimos un pH similar. Sin embargo se logra observar una ligera disminución de este parámetro en el sitio contaminado. (Cuadro 11).

*Cuadro 10 Características Fisicoquímicas del suelo de una localidad de Villa de la Paz.*

<i>Villa de la Paz</i>		
<i>Parámetro</i>	<i>Referencia</i>	<i>Contaminado</i>
	<i>(n=25)</i>	<i>(n=25)</i>
<i>Arcilla (%)</i>	26.360 (20.36 - 28.36)	6.360** (3.640 - 25.640)
<i>MO (%)</i>	3.831 (2.950 - 7.030)	2.029** (1.207 - 11.613)
<i>CE (ds/m)</i>	0.058 (0.048 - 0.085)	0.708** (0.225 - 1.225)
<i>pH</i>	8.40 (8.30 - 8.60)	7.80** (7.10 - 8.20)

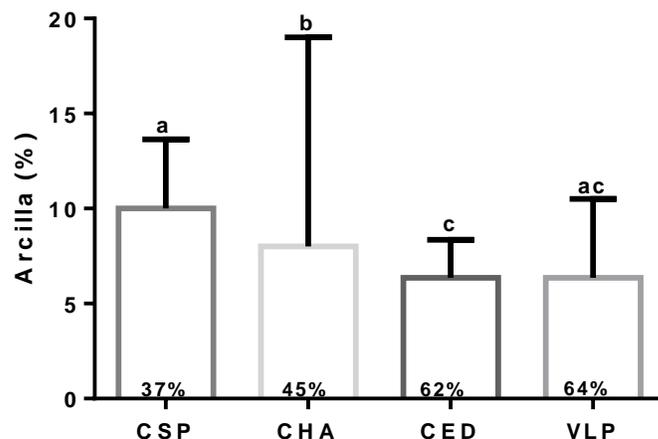
*Mediana (Min-Max),  $p > 0.05$ \*,  $p < 0.01$ \*\**

## 8.2.5. Comparación de sitios

### 8.2.5.1. Arcilla

Se encontró que el porcentaje de arcilla de los sitios de referencia esta entre el 2 y el 30 % mostrándonos que el mayor porcentaje en promedio lo tienen en el siguiente orden Villa de la paz > Charcas > Cedral > Cerro de San Pedro. Los porcentajes de arcilla obtenidos para los sitios impactados muestran claras diferencias, estos valores se encuentran entre 1.6 a 46.0 %, el estudio nos arrojó los siguientes resultados Charcas > Cerro de San Pedro > Villa de la Paz > Cedral. Y se encontró un empobrecimiento de la fracción de arcilla en los sitios contaminados que va de 37% en Cerro de San Pedro hasta 64% en Villa de la Paz (Fig. 24).

Si hablamos de los metales las arcillas pueden hacer que la toxicidad del metal sea baja. Se ha demostrado que los coloides del suelo pueden ayudar al control de los metales pesados debido a la unión arcilla-metal esta unión evita la movilidad de este complejo en el suelo y en la solución del suelo (Chibuike and Obiora, 2014). El Cr y el Cu pueden formar agregados con las arcillas. Los silicatos estratificados extensibles de la arcilla pueden tener un papel importante en los sedimentos y suelos contaminados ya que actúan como reservorios de Cr y Cu (Adamo *et al.*, 2006). Mecanismos de intercambio catiónico, adsorción, fuerzas de Van Der Waals, enlaces iónicos o hidrofóbicos pueden mantener las enzimas y los metales en las superficie de arcillas (Zimmerman and Mi-Youn, 2011), considerando lo anterior es posible que las propiedades anteriores reduzcan la toxicidad de los metales pesados en el suelo. En nuestro caso encontramos que más del 90 % de los suelos son franco arenosos lo que indica que existe una porcentaje bajo de arcilla. La arena actúa de manera contraria a la arcilla debido a que tienen una capacidad de retención muy baja y esto permite que los metales pesados pasen al medio acuoso o se filtren quedando más disponibles en el medio y de esta manera se causa una mayor toxicidad que inhibe a la actividad enzimática. Un ejemplo de esto lo propone Dar (1996), quien realizó un bioensayo adicionando Cd a dos tipos de suelo diferentes y encontró que existía una mayor inhibición de la actividad enzimática en suelo franco arenoso que en franco arcillosos. El Pb es un metal que se puede oxidar lentamente y tiene capacidad de formar carbonatos, así como puede ser fijado por las arcillas, hidróxidos y materia orgánica del suelo (Kabata-Pendias, 2011).



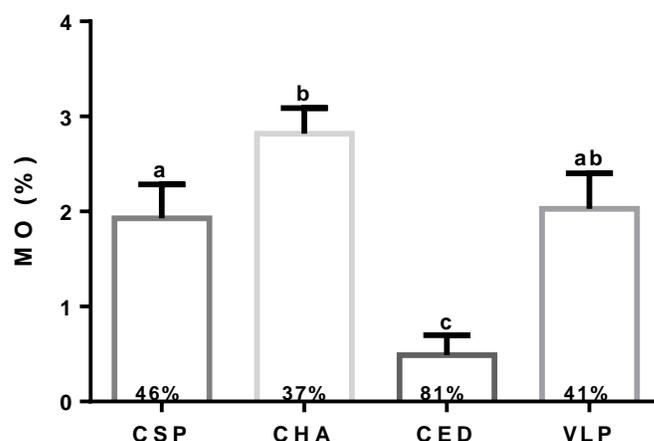
*Figura 21 Porcentajes de arcilla en sitios problema. En el gráfico se presenta la mediana, el rango intercuartil y el porcentaje dentro de las barras indica el decremento con respecto al sitio de referencia. Las letras a y b representan la diferencia significativa obtenida mediante el análisis Kruskal Wallis. Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) y Villa de la Paz (VLP).*

#### 8.2.5.2. *Materia Orgánica*

Se encontró en los sitios de referencia valores que van del 2.0 al 7.0 %, determinando un mayor porcentaje en promedio de MO en: Charcas > Villa de la Paz > Cerro de San Pedro > Cedral. También se observó un decremento de la MO en los sitios impactados en estos lugares, con intervalos que van desde 0.3 al 11.6 %. Los mayores porcentajes en promedio fueron de Charcas > Villa de la Paz > Cerro de San Pedro > Cedral. Al determinar la disminución de la MO en el sitios contaminado con respecto al sitio de referencia observamos que el sitio con menor disminución es Charcas con un 37% y el de mayor Cedral con un 81 % (Fig. 25).

Al igual que la arcilla la materia orgánica puede ayudar a reducir el efecto de los metales sobre las enzimas, el intercambio de iones, el atrapamiento de las redes orgánicas, enlace iónico o covalente pueden explicar la asociación estable entre las enzimas y materiales húmicos (Zimmerman y Mi-Youn, 2011). La materia orgánica está formada por ácidos húmicos (Laren *et al.*, 1996) que aportan una capacidad de intercambio catiónico amplia, distintos autores han demostrado que el Cr y Cu se asocia principalmente a la materia

orgánica y las fracciones reducibles y residuales, la interacción de la materia orgánica con la formación de órgano arcillas, puede mejorar la capacidad de adsorción del suelo para contaminantes inorgánicos. El Cu y Cr se extrajeron con oxalato de amonio en suelo y sedimentos, esto nos muestra algún tipo de asociación o formación de complejos órgano-minerales, la cantidad de estos agregados aumentan con el grado de contaminación del suelo (Adamo *et al.*, 2006). Se ha demostrado a través de estudios que agregarle materia orgánica al suelo (composta, residuos, hojarasca) puede ayudar a reducir la toxicidad de los metales pesados en la actividad enzimática del suelo (Karaca *et al.*, 2006). La materia orgánica puede considerarse como un reservorio de Pb en sitios contaminados (Kabata-Pendias, 2011). Se debe de tomar en cuenta que el método de Walkley y Black está sujeto a interferencias ocasionadas por componentes del suelo, como: iones cloruros o iones ferroso, estos pueden reaccionar con el dicromato y de esta manera se puede sobre estimar la existencia de MO. En este estudio se procesaron todas las muestras por el mismo método, probablemente hallamos sobre estimado las concentraciones de MO, sin embargo creemos que la tendencia es la misma ya que en todos los sitios contaminados se observaron valores bajos de esta variable.

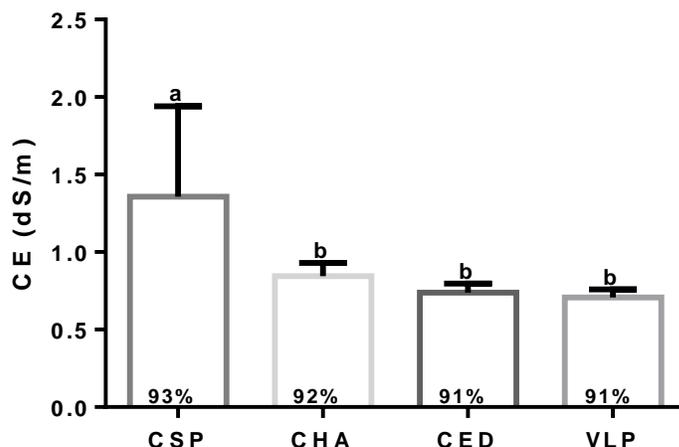


**Figura 22** Porcentaje de Materia Orgánica en sitios problema. En el gráfico se presenta la mediana, el rango intercuartil y el porcentaje dentro de las barras indica el decremento con respecto al sitio de referencia. Las letras a y b representan la diferencia significativa obtenida mediante el análisis Kruskal Wallis. Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) y Villa de la Paz.

### 8.2.5.3. *Conductividad eléctrica*

Para el caso de la conductividad eléctrica se determinó que en los sitios de referencia existe una conductividad baja que va desde 0.048 a 0.053 ds/m, basándonos en la CE promedio observamos que los sitios mostraron el siguiente orden: Cerro de San Pedro> Charcas=Cedral> Villa de la paz. Los sitios contaminados mostraron una mayor conductividad eléctrica de más de 10 veces con respecto a los sitios de referencia. Los valores de CE encontrados en estos sitios van de 0.111 hasta 4.25 ds/m esto nos indica que tenemos una alta conductividad,. Las conductividades encontradas en los sitios de referencia no presentan alguna alteración debido a que tiene un bajo contenido de sales solubles, sin embargo los sitios contaminados tienen una alta presencia de sales solubles y al determinar el porcentaje de aumento encontramos rangos de 91 al 93 % de aumento en los sitios contaminados (Fig. 26).

Los metales pesados al estar en el ambiente pueden formar compuestos y estos compuestos pueden alterar las propiedades químicas del suelo como: el arsénico en el ambiente se combina con oxígeno, cloro y azufre para formar compuestos inorgánicos de arsénico. El cadmio es un elemento que puede formar compuestos en el ambiente y generalmente se encuentra como mineral combinado con otros elementos tales como oxígeno (óxido de cadmio), cloro (cloruro de cadmio) o azufre (sulfato de cadmio, sulfuro de cadmio) (ATSDR, 2009; SEMARNAT, 2009). El comportamiento de estos metales en el ambiente nos explica del porque la conductividad eléctrica se elevó en los sitios contaminados, esto debido a la formación de sales en el suelo.



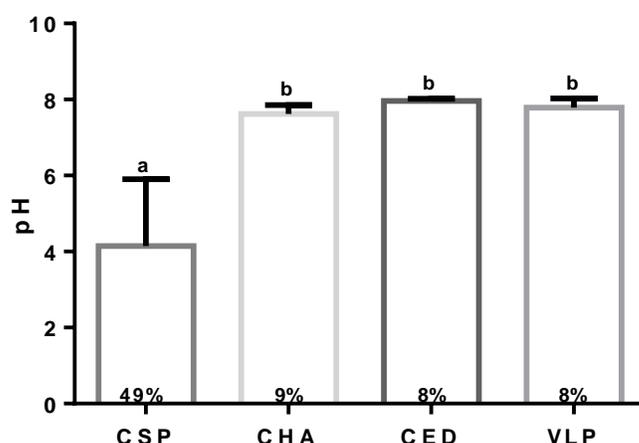
*Figura 23 Conductividad Eléctrica en sitios problema. En el gráfico se presenta la mediana, el rango intercuartil y el porcentaje dentro de las barras indica el aumento con respecto al sitio de referencia. Las letras a y b representan la diferencia significativa obtenida mediante el análisis Kruskal Wallis. Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED), Villa de la Paz (VLP).*

#### 8.2.5.4. pH

Al determinar el pH de los sitios de referencia encontramos que va desde 7.4 hasta 9.0 lo cual nos indica que es medianamente alcalino hasta fuertemente alcalino, se observó que los sitios más alcalinos en promedio fueron: Cedral > Villa de la Paz > Charcas > Cerro de san pedro. En los sitios contaminados se observó una acidificación del suelo ya que se encontró un pH de 1.5 hasta 8.20 que va desde fuertemente acido hasta medianamente alcalino, se puede observar que el sitio más acidificado en promedio es Cerro de San pedro, este sitio tiene el mayor porcentaje de decremento de la acidez (49%) de los cuatro sitios, probablemente al drenaje acido de la mina sea la causa debido a que genera una acidificación del medio (Fig. 27).

La acidificación registrada en los jales mineros podría deberse al drenaje acido de mina. Rodríguez (2011) determinó que existe acidificación del suelo en el Cerro de San Pedro encontrando valores de 4.5 a 8.1 que van desde ácidos a alcalinos. Uno de los factores que pueden llegar a afectar el pH del suelo puede ser la erosión, se ha demostrado que la

erosión es un factor importante en los cambios de pH del suelo. A mayor erosión aumenta el pH, esto probablemente por una disminución en la concentración de hierro, sulfatos y ácidos húmicos. (Romero *et al.*, 2009). El tipo de forma química del Pb en el suelo esta mediada por el pH, valores altos ocasionan formas precipitadas de este metal como hidróxidos, fosfatos y carbonatos lo cual indica que reduce la solubilidad de este elemento y cuando el pH es bajo la precipitación decrece y aumenta el intercambio catiónico (Siegel, 2002).



*Figura 24 pH en sitios problema. En el gráfico se presenta la mediana, el rango intercuartil y el porcentaje dentro de las barras indica el decremento con respecto al sitio de referencia. Las letras a y b representan la diferencia significativa obtenida mediante el análisis Kruskal Wallis. Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) y Villa de la Paz (VLP).*

### 8.3. Análisis de correlación

Con base en el análisis de correlación se puede señalar que los metales pesados afectan las propiedades fisicoquímicas del suelo. Los valores de arcilla, MO y pH muestran una correlación negativa con relación a los metales encontrados en los sitios. Esto indica que algunas propiedades de los suelos presentes sobre los jales mineros como la textura, la materia orgánica y pH son diferentes de las de los suelos que no están expuestos a la contaminación. En contraste la conductividad eléctrica se asoció de forma positiva con todos los metales encontrados en el estudio. Esto indica que los metales promueven la

elevada conductividad eléctrica en el suelo (Cuadro 12), suponemos que al estar esos metales en el suelo forman mezclas o compuestos salinos. Observamos que altas concentraciones de metales pesados y metaloides está afectando la salud del suelo ya que pueden persistir durante decenas de años afectando a largo plazo las propiedades físicas y químicas del suelo. La disminución de la materia orgánica puede deberse al contenido alto de metales pesados, debido a que indujeron una acumulación de C orgánico, lo que sugiere una disminución en el volumen de la materia orgánica, ya que los metales interfieren en la mineralización de C, que conduce gradualmente a la acumulación de C orgánico (Valsecchi *et al.*, 1995). La modificación del pH puede deberse al drenaje ácido de mina resultado de una serie compleja de reacciones geoquímicas, principalmente el drenaje ácido de mina es generado por la pirita, cuando la pirita está expuesta a la atmosfera en un entorno oxidante, genera acidificación del suelo con altas concentraciones de hierro, sulfato y metales tóxicos. La oxidación de sulfuro y liberación de metales pesados es un proceso que puede durar décadas (Gutiérrez-Ruiz *et al.*, 2007; Ríos *et al.*, 2007). Los metales pesados al estar en el ambiente pueden formar compuestos y estos compuestos pueden alterar las propiedades químicas del suelo, algunos de estos metales son: el arsénico en el ambiente se combina con oxígeno, cloro y azufre para formar compuestos inorgánicos de arsénico. (ATSDR, 2009; SEMARNAT, 2009).

*Cuadro 11 Análisis de correlación entre Propiedades Fisicoquímicas y metales pesados.*

<i>Parámetro</i>	<i>As</i>	<i>Cd</i>	<i>Cu</i>	<i>Mn</i>	<i>Pb</i>	<i>Zn</i>
<b>Arcilla</b>	-0.2139	-0.3314	-0.6207	-0.4099	-0.6405	-0.6504
<b>MO</b>	-0.2333	-0.2650	-0.6903	-0.4324	-0.6386	-0.6248
<b>CE</b>	0.2311	0.3542	0.6947	0.2731	0.8417	0.7485
<b>pH</b>	-0.2426	-0.3491	-0.6900	-0.2971	-0.8096	-0.6945

Para determinar las diferencias significativa se utilizó una  $p < 0.01$  para todas las variables.

## 8.4. Propiedades Biológicas

### 8.4.1. Cerro de San Pedro

La actividad de las enzimas del suelo fue mayor en los sitios de referencia que en los sitios contaminados. La actividad de la Deshidrogenasa, Ureasa,  $\beta$ -Glucosidasa y Arilsulfatasa presentaron una diferencia significativa ( $p < 0.01$ ) entre el sitio contaminado y de referencia. En cambio la  $\beta$ -Galactosidasa y Fosfatasa no presentaron diferencias significativas ( $p \geq 0.01$ ) entre ambos sitios (Cuadro 13).

Al determinar el porcentaje de inhibición de cada una de las enzimas encontramos que la que presenta una mayor inhibición es la Arilsulfatasa > Ureasa >  $\beta$ -Glucosidasa > Deshidrogenasa. La Arilsulfatasa y la Ureasa son enzimas que poseen una sensibilidad alta a la mezcla de metales pesados en este sitio (Cuadro 13).

*Cuadro 12 Actividad enzimática por tipo de sitio.*

<i>Parámetro</i>	<i>Cerro de San Pedro</i>		
	<i>Referencia</i> (n=25)	<i>Contaminado</i> (n=25)	<i>Inhibición</i> %
<i>Deshidrogenasa</i> (nM INTF g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	2.112 (1.769 - 2.814)	1.387** (1.357 - 4.007)	34.3
<i>Galactosidasa</i> (nM p-nitrofenol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	20.690 (15.611 - 40.955)	15.379 (6.532 - 102.233)	25.6
<i>Fosfatasa</i> (nM p-nitrofenol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	36.697 (20.167 - 77.652)	39.351 (20.369 - 106.1320)	7.2
<i>Ureasa</i> (nM NH <sub>4</sub> -N g <sup>-1</sup> 2h <sup>-1</sup> )	62.541 (53.592 - 73.155)	0.728** (0.0 - 25.703)	98.8
<i>Glucosidasa</i> (nM p-nitrofenol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	56.142 (22.615 - 84.009)	10.30** (5.088 - 103.777)	81.6
<i>Arilsulfatasa</i> (nM p-nitrofenol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	363.229 (125.997 - 380.0)	13.954** (1.415 - 34.583)	96.1

Mediana (Min-Max),  $p > 0.05^*$ ,  $p < 0.01^{**}$

#### 8.4.2. Charcas

La actividad enzimática medida en el suelo del municipio de Charcas muestra una mayor actividad en el sitio de referencia que en el sitio contaminado. La actividad de la Deshidrogenasa,  $\beta$ -Galactosidasa, Fosfatasa, Ureasa,  $\beta$ -Glucosidasa y Arilsulfatasa, presentaron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) entre sitios contaminados y de referencia. Se encontró que la mayor actividad enzimática en sitios contaminados la obtuvo la Ureasa y la menor actividad fue de la Deshidrogenasa (Cuadro 14).

Al determinar el porcentaje de inhibición encontramos que la que presenta una mayor inhibición es la Arilsulfatasa > Ureasa >  $\beta$ -Glucosidasa > Fosfatasa >  $\beta$ -Galactosidasa > Deshidrogenasa. La Arilsulfatasa y la Ureasa son enzimas que poseen una sensibilidad alta a la mezcla de metales pesados en este sitio (Cuadro 14).

*Cuadro 13 Actividad enzimática por tipo de sitio.*

Parámetro	Charcas		
	Referencia (n=25)	Contaminado (n=25)	Inhibición %
<i>Deshidrogenasa</i> (nM INTF g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	2.322 (2.071 - 2.735)	1.394** (1.359 - 1.664)	39.9
<i>Galactosidasa</i> (nM p-nitrofenol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	11.296 (7.843 - 23.262)	2.914** (1.470 - 21.337)	74.2
<i>Fosfatasa</i> (nM p-nitrofenol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	50.034 (39.122 - 64.005)	14.805** (12.151 - 45.346)	70.4
<i>Ureasa</i> (nM NH <sub>4</sub> -N g <sup>-1</sup> 2h <sup>-1</sup> )	348.089 (254.016 - 390.963)	31.946** (15.713 - 115.613)	90.0
<i>Glucosidasa</i> (nM p-nitrofenol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	43.744 (32.358 - 54.316)	4.607** (2.930 - 27.113)	89.4
<i>Arilsulfatasa</i> (nM p-nitrofenol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	410.756 (271.410 - 590.550)	7.280** (2.224 - 46.313)	98.2

Mediana (Min-Max),  $p > 0.05^*$ ,  $p < 0.01^{**}$

### 8.4.3. Cedral

La actividad enzimática en el sitio contaminado fue baja comparada con el sitio de referencia. La actividad de la Deshidrogenasa,  $\beta$ -Galactosidasa, Fosfatasa, Ureasa,  $\beta$ -Glucosidasa y Arilsulfatasa presentaron diferencias significativas importantes ( $p < 0.01$ ) entre el sitio contaminado y de referencia, de esta manera evidenciando una menor actividad enzimática en el sitio contaminado. Se encontró que la mayor actividad enzimática en sitios contaminados la obtuvo la Ureasa y la menor actividad fue de la Deshidrogenasa (Cuadro 15).

Al determinar el porcentaje de inhibición de cada una de las enzimas encontramos que la que presenta una mayor inhibición es la Arilsulfatasa > Ureasa >  $\beta$ -Glucosidasa >  $\beta$ -Galactosidasa > Fosfatasa > Deshidrogenasa. La Arilsulfatasa y la Ureasa son enzimas que poseen una sensibilidad alta a la mezcla de metales pesados en este sitio (Cuadro 15).

*Cuadro 14 Actividad enzimática por tipo de sitio.*

<i>Parámetro</i>	<i>Cedral</i>		
	<i>Referencia</i> (n=25)	<i>Contaminado</i> (n=25)	<i>Inhibición</i> %
<i>Deshidrogenasa</i> (nM INTF g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	1.814 (1.719 - 2.511)	1.373** (1.339 - 1.605)	24.3
<i>Galactosidasa</i> (nM p-nitrofenol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	7.262 (5.403 - 30.117)	3.760** (2.283 - 8.823)	48.2
<i>Fosfatasa</i> (nM p-nitrofenol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	21.797 (16.489 - 55.894)	14.023** (10.090 - 19.466)	35.6
<i>Ureasa</i> (nM NH <sub>4</sub> -N g <sup>-1</sup> 2h <sup>-1</sup> )	251.968 (213.015 - 290.854)	29.449** (4.890 - 68.368)	88.3
<i>Glucosidasa</i> (nM p-nitrofenol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	25.968 (19.113 - 46.001)	4.856** (3.312 - 15.594)	81.3
<i>Arilsulfatasa</i> (nM p-nitrofenol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	126.199 (85.144 - 276.264)	8.494** (1.617 - 21.033)	93.2

Mediana (Min-Max),  $p > 0.05$ \*,  $p < 0.01$ \*\*

#### 8.4.4. Villa de la Paz

La actividad de las enzimas en el suelo del sitio de referencia fue mayor con respecto al sitio contaminado. La enzimas que mostraron diferencias entre el sitio contaminado y de referencia son: Deshidrogenasa,  $\beta$ -Galactosidasa, Fosfatasa, Ureasa,  $\beta$ -Glucosidasa y Arilsulfatasa ( $p < 0.01$ ). Haciendo evidente la inhibición enzimática en el sitio contaminado Se encontró que la mayor actividad enzimática en sitios contaminados la obtuvo la Fosfatasa y la menor actividad fue de la Deshidrogenasa (Cuadro 16).

Al determinar el porcentaje de inhibición de cada una de las enzimas encontramos que la que presenta una mayor inhibición fue la Ureasa > Arilsulfatasa >  $\beta$ -Glucosidasa >  $\beta$ -Galactosidasa > Deshidrogenasa > Fosfatasa. La Ureasa y la Arilsulfatasa son enzimas que poseen una sensibilidad alta a la mezcla de metales pesados en este sitio (Cuadro 16).

*Cuadro 15 Actividad enzimática por tipo de sitio.*

<i>Parámetro</i>	<i>Villa de la Paz</i>		
	<i>Referencia</i> ( <i>n=25</i> )	<i>Contaminado</i> ( <i>n=25</i> )	<i>Inhibición</i> %
<i>Deshidrogenasa</i> ( <i>nM INTF g<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup></i> )	2.154 (1.998 - 3.168)	1.756** (1.635 - 1.829)	18.4
<i>Galactosidasa</i> ( <i>nM p-nitrofenol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></i> )	19.445 (15.561 - 59.760)	4.042** (3.030 - 19.262)	79.2
<i>Fosfatasa</i> ( <i>nM p-nitrofenol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></i> )	30.163 (20.719 - 103.612)	29.637 (17.890 - 74.553)	1.7
<i>Ureasa</i> ( <i>nM NH<sub>4</sub>-N g<sup>-1</sup> 2h<sup>-1</sup></i> )	193.035 (111.450 - 635.093)	0.0** (0.0 - 49.221)	100
<i>Glucosidasa</i> ( <i>nM p-nitrofenol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></i> )	31.677 (22.018 - 132.590)	4.291** (2.997 - 24.607)	86.4
<i>Arilsulfatasa</i> ( <i>nM p-nitrofenol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></i> )	109.818 (64.313 - 688.638)	1.213** (0.0 - 47.527)	98.8

*Mediana (Min-Max), p > 0.05\*, p < 0.01\*\**

#### 8.4.5. Comparación de Sitios

##### 8.4.5.1. *Deshidrogenasa*

Al medir la actividad de la deshidrogenasa se encontró que los sitios con mayor presencia fueron Charcas> Villa de la Paz> Cerro de San Pedro> Cedral esto en el caso de las referencias. Efectivamente en los sitios impactados encontramos una baja actividad de esta enzima en el siguiente orden Villa de la Paz> Cerro de San Pedro> Charcas> Cedral. Al determinar el porcentaje de inhibición de cada una de las enzimas por los distintos sitios muestreados encontramos que la deshidrogenasa presenta una inhibición del 39.9 % en Charcas, 34.3 % en Cerro de San Pedro, 24.3 % en Cedral y 18.4 % en Villa de la Paz (Fig. 28). Se han reportado estudios donde se demuestra que la presencia de metales pesados inhibe la actividad enzimática del suelo. Kucharski *et al.* (2009), en un ensayo realizado bajo condiciones de laboratorio descubrieron que el Ni puede causar la inhibición de la deshidrogenasa en un 49 %. Se ha encontrado poca literatura sobre inhibición ocasionado por metales pesados. Sin embargo en este estudio se encontró que el sitio más afectado fue Charcas, que mostró un 34.3 % de inhibición. Determinamos que la deshidrogenasa muestra una sensibilidad baja en presencia de metales como As, Cd, Cu, Mn, Pb y Zn.

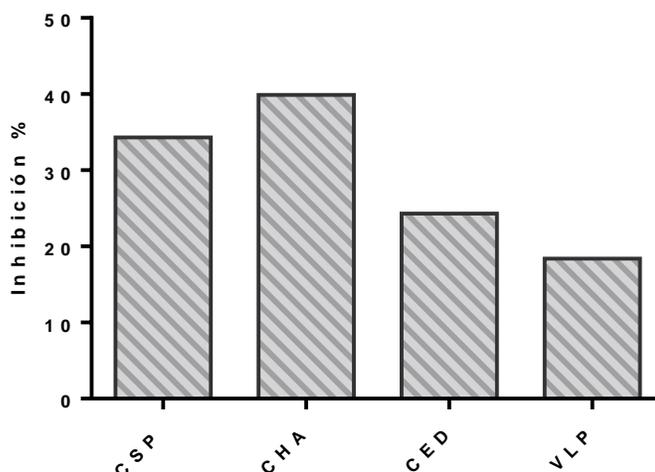


Figura 25 Inhibición de la actividad enzimática por sitios Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) y Villa de la Paz (VLP). n=200.

Al realizar el análisis multivariado encontramos que el Pb fue el metal que afectó en mayor medida a la deshidrogenasa mostró, una  $R^2:0.591$ , lo cual indica que esta variable explica el comportamiento de la deshidrogenasa. Las variables que presentaron un efecto negativo fueron: Pb, Zn, Mn y CE. Y las variables que presentaron un efecto positivo fueron: MO y pH (Cuadro17). En la Figura 29 se observa que entre mayor concentración de Pb la actividad de la deshidrogenasa comienza a disminuir y entre menor concentración de Pb la actividad de la deshidrogenasa comienza a aumentar.

Se han reportado numerosos estudios sobre el comportamiento de esta enzima con los metales, estos muestran una disminución de la actividad enzimática en presencia de metales. Bartkowiak y Lemanowicz (2014), encontraron una correlación negativa entre el Zn (-0.577) y la deshidrogenasa, solo en el caso del Cu no se encontró una correlación. Las concentraciones reportadas de Cu fueron 1.60 mg/Kg y de Zn fueron 18.58 mg/Kg. Quilchano y Marañón (2002), realizaron un estudio en el bosque donde una se dejó sin arbustos. El resultado fue que la actividad de la deshidrogenasa tiene una correlación positiva con pH (0.55,  $p<0.01$ ). Mocek-Plóciniak (2009), realizó un estudio en el cual observo el efecto del Cu y Pb sobre la actividad de la deshidrogenasa, las muestras fueron tomadas en hornos de cuba de las Obras de cobre Legnica. Se observó una correlación negativa de la deshidrogenasa con Cu (-0.38,  $p<0.05$ ) y Pb (-0.39,  $p<0.05$ ). Trevors (1984), realizó un estudio para observar el efecto del pH sobre la actividad de la deshidrogenasa, el encontró una correlación positiva de 0.982. Marzadori *et al.* (1996), realizó un ensayo bajo condiciones del laboratorio en el cual encontró disminución de la actividad de la deshidrogenasa causada por la adición de Pb, el suelo fue colectado en Italia. El sitio Porto Teulada, el control mostró una actividad de  $9.2 \mu\text{g triphenylformazan g}^{-1} \text{ suelo } 24 \text{ h}^{-1}$  y el contaminado con  $5,000 \mu\text{g g suelo de Pb}$  mostró  $1.1 \mu\text{g triphenylformazan g}^{-1} \text{ suelo } 24 \text{ h}^{-1}$  de actividad. D'Ascoli *et al.* (2006), realizaron un estudio en suelos volcánicos de Italia, encontró que la deshidrogenasa mostro un coeficiente de correlación de Pearson es de 0.41 con respecto al Cu  $229.34 \pm 17.02 \text{ mg/Kg}$ . En estos estudios se observa que la actividad de la deshidrogenasa se ve afectada de manera negativa en presencia de metales y al revisar nuestros resultados encontramos que altas concentraciones de Pb puede llegar afectar de manera significativa la actividad de la ureasa.

Cuadro 16 Modelo lineal basado en distancia (DistLM) para la actividad enzimática de la Deshidrogenasa.

AIC	R <sup>2</sup>	RSS	No	Co-variables	Pseudo-F	Prop	Cumul	Efecto
-221.79	0.690	61.52	6	Pb	287.07	0.591	0.591	-
				MO	26.02	0.047	0.639	+
				Zn	9.72	0.017	0.656	-
				Mn	14.63	0.023	0.680	-
				pH	4.24	0.006	0.687	+
				CE	2.21	0.003	0.690	-

AIC: Criterio de información Akaike´s. RSS: Suma residual de errores al cuadrado. Prop: Proporcional. Cumul: Proporcional acumulada. (-): Efecto inhibidor. (+): Efecto inductor.

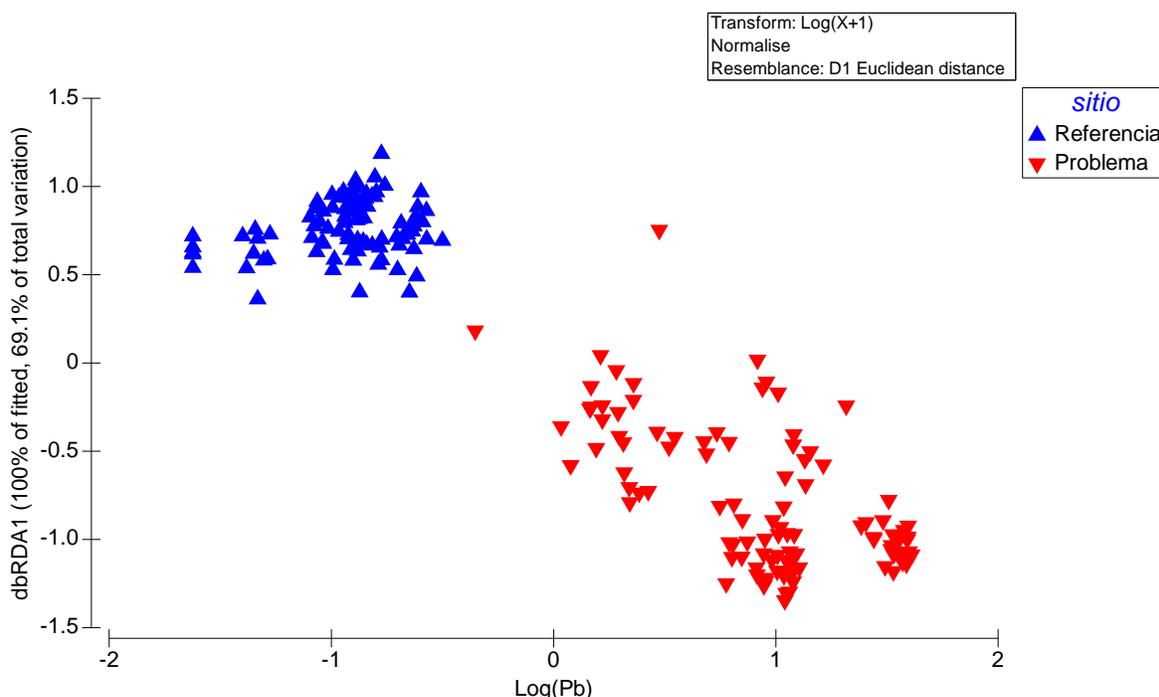
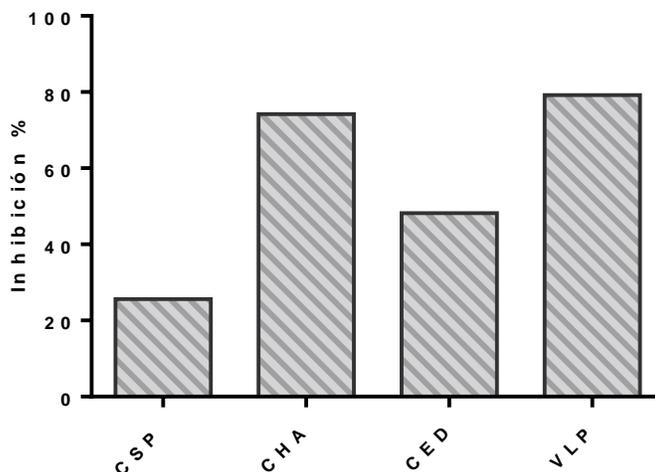


Figura 26 Efecto del Pb sobre la actividad de la Deshidrogenasa.

#### 8.4.5.2. B-Galactosidasa

Al medir la actividad de la  $\beta$ -galactosidasa se encontró que los sitios con mayor presencia de esta enzima fueron Villa de la Paz> Charcas> Cedral> Cerro de San pedro esto en el caso de las referencias, efectivamente en los sitios contaminados encontramos una baja actividad de esta enzima en el siguiente orden Villa de la Paz> Charcas> Cedral> Cerro de San pedro. Al determinar el porcentaje de inhibición de cada una de las enzimas por los distintos sitios muestreados se encontró que la deshidrogenasa presenta una inhibición del

79.2 % en Villa de la Paz, 74.2 % en Charcas, 48.2 % en Cedral y Cerro de San Pedro 25.6 % (Figura 30). Lo cual indica que la mezcla de metales pesados, pH, CE, así como las condiciones que existen en Villa de la Paz están afectado la actividad de la  $\beta$ -Galactosidasa, seguido por el municipio de Charcas el cual también tiene un alto porcentaje de inhibición.



**Figura 27** Inhibición de la actividad enzimática por sitios, Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) y Villa de la Paz (VLP).  $n=200$ .

Al observar los resultados que nos arrojó el análisis multivariado encontramos que las variables que afectaron de manera negativa a la  $\beta$ -galactosidasa fueron: Mn, Cu, pH, Zn, Pb, CE y Cd y las variables que afectaron de manera positiva fueron: Arcilla y MO (Cuadro 18), todas juntas explican el comportamiento de la  $\beta$ -galactosidasa ( $R^2:0.771$ ). En la Figura 31 se observa que la variable que explicó en mayor proporción el comportamiento de la  $\beta$ -galactosidasa fue Mn. Observamos que entre mayor concentración de Mn menor actividad enzimática y que a menor concentración de Mn mayor actividad enzimática. Se puede observar que existen algunos puntos que no siguen la tendencia pero puede ser debido a que variables como la MO o la arcilla estén potenciando la actividad de la  $\beta$ -galactosidasa.

Cuadro 17 Modelo lineal basado en distancia (DistLM) para la actividad enzimática de la Galactosidasa.

AIC	R <sup>2</sup>	RSS	No	Co-variables	Pseudo-F	Prop	Cumul	Efecto
-275.87	0.771	45.558	9	Mn	260.88	0.568	0.568	-
				Cu	55.82	0.095	0.663	-
				pH	23.27	0.035	0.699	-
				Arcilla	18.51	0.026	0.725	+
				Zn	13.83	0.018	0.743	-
				Pb	8.23	0.010	0.754	-
				MO	5.74	0.007	0.761	+
				CE	5.71	0.006	0.768	-
				Cd	2.25	0.002	0.771	-

AIC: Criterio de información Akaike´s. RSS: Suma residual de errores al cuadrado. Prop: Proporcional. Cumul: Proporcional acumulada. (-): Efecto inhibidor. (+): Efecto inductor.

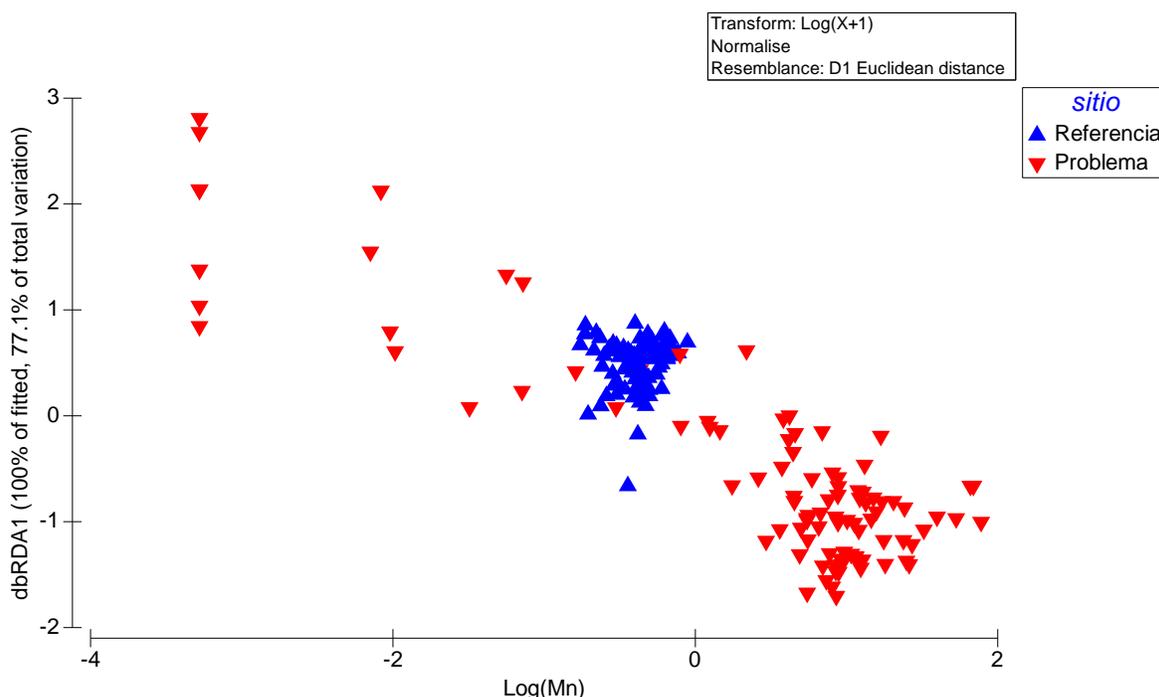
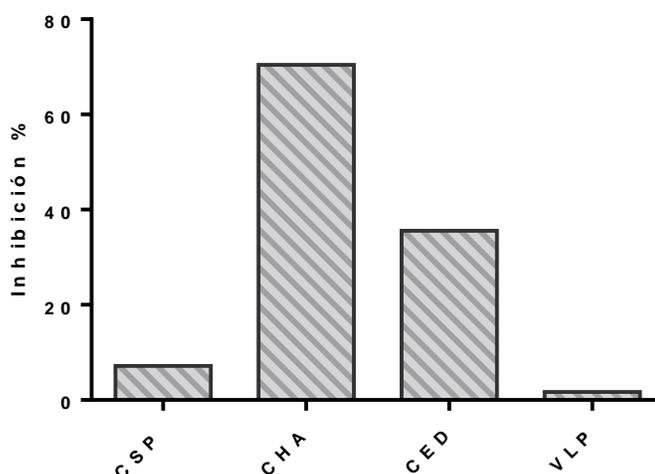


Figura 28 Efecto del Mn sobre la actividad de la Galactosidasa.

### 8.4.5.3. Fosfatasa

Al medir la actividad de la fosfatasa en los sitios de referencia se encontró que los sitios con mayor presencia fueron Charcas>Villa de la Paz> Cerro de San Pedro> Cedral. Y efectivamente en los sitios contaminados encontramos una disminución de la actividad de esta enzima en el siguiente orden Cerro de San Pedro> Villa de la Paz> Charcas> Cedral. Al determinar el porcentaje de inhibición de cada una de las enzimas por los distintos sitios

muestreados encontramos que la fosfatasa presentó una inhibición de 70.4 % en Charcas, 35.6 % en Cedral, Cerro de San Pedro 7.2 % y Villa de la Paz 1.7 %. Blum y Schwedt, 1998, realizaron un estudio con la Fosfatasa en la cual encontraron que el Cd ocasionó una inhibición del 40 % en esta enzima. El sitio que arrojó mayor porcentaje de inhibición es Charcas (Figura 32), esto pudiera ser por la mezcla de metales pesados que existen y que están teniendo un efecto tóxico con la actividad enzimática.



*Figura 29 Actividad enzimática en sitios problema, Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) y Villa de la Paz (VLP). n=200.*

Al realizar el análisis multivariado encontramos que las variables que afectan de manera negativa a la fosfatasa son Mn, Cu y Pb y de manera positiva As y MO, estas variables explican el comportamiento de la fosfatasa ( $R^2:0.516$ ) (Cuadro 19). En la Figura 33 se puede observar que en el sitio de referencia, la actividad se ve aumentada cuando existen bajas concentraciones de Mn y en el sitio contaminado se observa que la actividad se dispersó probablemente porque el Mn también actuó de manera positiva con esta enzima interactuando con la MO y las arcillas.

Se han reportado estudios donde se relaciona la actividad enzimática con la presencia de metales pesados, en los cuales se encontró que ciertos metales pueden disminuir o aumentar la actividad enzimática, algunos de estos estudios se señalan enseguida: Cerón y Melgarejo

(2005), determinaron que los suelos con altas concentraciones de Cadmio, mostraron un aumento en la actividad metabólica lo cual indica condiciones de estrés de la microflora, descensos en la biomasa microbiana y en las actividades enzimáticas (fosfatasa alcalina). Kandeler *et al.* (2000) descubrieron que la actividad de la fosfatasa, disminuyó después de 10 años de contaminación con diferentes niveles de Zn, Cu y Cd. Mocek-Plóćiniak (2009), realizaron un estudio en el cual observaron el efecto del Cu y Pb sobre la actividad de la fosfatasa. Las muestras fueron tomadas en hornos de cuba de las Obras de cobre Legnica. Se observó una correlación negativa de la deshidrogenasa con Cu (-0.65,  $p < 0.01$ ) y Pb (-0.59,  $p < 0.01$ ). Kuperman y Carrero (1997), realizaron un estudio en suelos de USA en los cuales encontraron As (4.8 mg/Kg), Cd (0.20 mg/Kg) Cu (11.0 mg/Kg), Pb (19.4 mg/Kg) y Zn (50.8 mg/Kg) en un sitio de referencia y un sitio contaminado, encontraron concentraciones de As (5.64 mg/Kg), Cd (0.88 mg/Kg), Cu (123.6 mg/Kg), Pb (250 mg/Kg) y Zn (222.2 mg/Kg). En el sitio de referencia obtuvieron concentraciones de la actividad de la fosfatasa de  $1.782 \text{ g}^{-1} \text{ dry wt h}^{-1}$  y en el sitio contaminado  $0.402 \text{ g}^{-1} \text{ dry wt h}^{-1}$ , lo cual indica un decremento de esta actividad por la presencia de metales pesados. En este mismo estudio se obtuvieron correlaciones de pearson en las cuales se encontró una correlación positiva con materia orgánica (0.946,  $p < 0.0001$ ), y una negativa con pH (-0.693,  $p < 0.004$ ) y total de metales pesados (-0.254,  $p < 0.003$ ). En este estudios encontramos que el Mn tiene mayor afectación sobre la fosfatasa que el Cu, Pb, Zn y Cd.

**Cuadro 18 Modelo lineal basado en distancia (DistLM) para la actividad enzimática de la Fosfatasa.**

<i>AIC</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>RSS</i>	<i>No</i>	<i>Co-variables</i>	<i>Pseudo-F</i>	<i>Prop</i>	<i>Cumul</i>	<i>Efecto</i>
-134.49	0.516	96.148	5	Mn	87.10	0.305	0.305	-
				MO	20.36	0.065	0.370	+
				As	21.43	0.062	0.432	+
				Cu	14.74	0.039	0.472	-
				Pb	17.79	0.044	0.516	-

*AIC: Criterio de información Akaike's. RSS: Suma residual de errores al cuadrado. Prop: Proporcional. Cumul: Proporcional acumulada. (-): Efecto inhibidor. (+): Efecto inductor.*

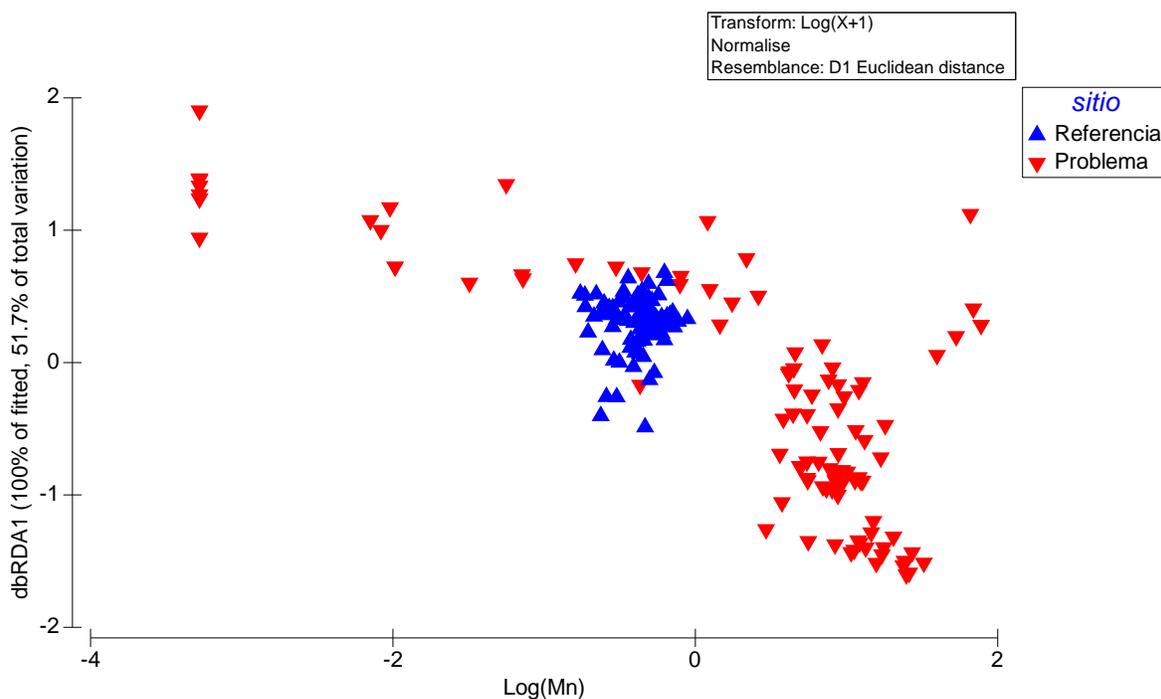


Figura 30 Efecto del Mn sobre la actividad de la Fosfatasa.

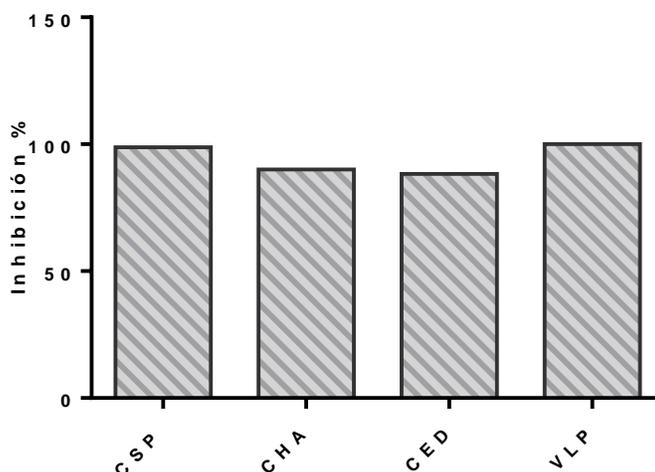
#### 8.4.5.4. Ureasa

Al medir la actividad de la ureasa se encontró que los sitios con mayor presencia fueron Charcas> Cedral> Villa de la Paz> Cerro de San Pedro esto en el caso de las referencia. Efectivamente en los sitios contaminados encontramos una disminución de la actividad de esta enzima en el siguiente orden Charcas> Cedral> Villa de la Paz> Cerro de San Pedro. Al determinar el porcentaje de inhibición de cada una de las enzimas por los distintos sitios muestreados encontramos que la ureasa presenta una inhibición del 100 % Villa de la Paz, 98.9 % Cerro de San pedro, 90.0 Charcas y 88.3% Cedral (Figura 34).

Se han reportado estudios donde se demuestra que la presencia de metales pesados pueden inhibir la actividad enzimática del suelo, Balyaeva *et al.* (2005), encontraron una inhibición de la ureasa de 82.35 y 93.6 % por Zn (8, 100 mg/Kg) en suelos agrícolas. Yang *et al.* (2009), demostraron que la ureasa se inhibió un 75.15 % con la presencia de Cd (100 mg/Kg) y Pb (500 mg/Kg) en suelo agrícola en un ensayo controlado. Bojeong *et al.* (2008), encontró inhibición causada por Cu (200 mg/Kg) en la actividad de la ureasa en dos

tipos de suelo agrícola en Arkport (37.73 % de inhibición) y Hudson (21.55 % de inhibición). Bin *et al.* (2013), observaron una inhibición de la Ureasa (65.38 %) causado por Cu (800 mg/Kg) en suelos agrícolas. Borowik *et al.* (2014), realizaron un ensayo en el cual determinó que el suelo utilizado era de textura franco arenoso, determinó que la ureasa puede ser inhibida (74.77 %) por altas concentraciones de Zn (2,400 mg/Kg). Wyszowska *et al.* (2006), encontraron que la actividad de la ureasa en suelo agrícola puede verse inhibida por diferentes mezclas de metales pesados, en la primera solo se agregó Cu ( 50 mg/Kg) y se encontró una inhibición de 34.6%, en la segunda se adicionó Cu (450 mg/Kg) mostrando una inhibición del 84.9 %, a la tercera mezcla se adicionó Cu, Zn y Cd (450 mg/Kg) encontrando una inhibición del 78.3%.

En nuestro estudio se encontró una mezcla de metales (As, Cd, Cu, Mn, Pb, V y Zn) con una elevada concentración. El municipio de Villa de la Paz fue el sitio que mostró una mayor inhibición de las enzimas, la más inhibida fue la ureasa, con valores mayores que 80%, esto nos indica que en estos sitios la concentración de metales está afectando de manera importante la actividad enzimática edáfica y los procesos en los que interactúa esta enzima, como puede ser el ciclo del nitrógeno.



**Figura 31. % de inhibición de la ureasa en sitios problema, Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) y Villa de la Paz (VLP). N=200.**

Al realizar el análisis multivariado encontramos que el parámetro de mayor afectación en la ureasa fue la CE, seguido por el As y el Pb, estas variables actúan de manera negativa. La arcilla es una variable que actúa de manera positiva para la actividad de la ureasa. Estas cuatro variables explican el 84 % de los que está sucediendo en el suelo y como se está afectando esta enzima (Cuadro 20). En la Figura 35 se observa que entre mayor CE la actividad de la ureasa comienza a decrecer. Se han realizado distintos estudios donde se demuestra que diferentes metales pueden llegar a afectar de manera negativa la actividad enzimática de la ureasa. Balyaeva *et al.* (2005), encontraron que el Zinc disminuyó las actividades de la ureasa. En el estudio de Cerón y Melgarejo (2005), se determinaron que los suelos con altas concentraciones de Cadmio, mostraron un aumento en el contenido metabólico lo cual indica condiciones de estrés de la microflora, descensos en la biomasa microbiana y en las actividades enzimáticas ureasa. Kandeler *et al.*, (2000), descubrieron que las actividad de la ureasa disminuyeron después de 10 años de contaminación con diferentes niveles de Zn, Cu y Cd. Shen *et al.*, (2005), mostraron que el orden de inhibición de la actividad de la ureasa en general, disminuyó de acuerdo con la secuencia Cd> Zn> Mn> Pb. Balyaeva *et al.* (2005), encontraron una disminución de la actividad de la ureasa en suelos agrícolas contaminados por Zn, indicó que la concentración de Zn era de 8,100 mg/Kg y utilizo un suelo control el cual arrojó una concentración de ureasa de  $3,400 \pm 220$  nmol NH<sub>4</sub><sup>+</sup>N g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y el suelo contaminado tuvo una concentración de  $600 \pm 20$  nmol NH<sub>4</sub><sup>+</sup>N g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> demostrando que el Zn puede afectar la actividad de la ureasa. Yang *et al.* (2009), realizaron un estudio en suelos agrícolas contaminados por plomo (500 mg/kg) y cadmio (100 mg/kg), utilizaron un suelo control para comparar, encontró que en el suelo control existía una actividad de  $4.99 \pm 0.08$  nmol NH<sub>4</sub><sup>+</sup>N g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y en el suelo contaminado  $1.24 \pm 0.03$  nmol NH<sub>4</sub><sup>+</sup>N g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> lo cual indica una pérdida de la actividad enzimática. Bin *et al.* (2013), realizaron un ensayo en el cual utilizó suelo agrícola contaminado por Cu (800 mg/Kg). Con la finalidad de comprar se utilizó un suelo control en el cual obtuvo una actividad enzimática de  $0.026 \pm 0.003$  nmol NH<sub>4</sub><sup>+</sup>N g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y en el suelo contaminado registró  $0.009 \pm 0.0008$  nmol NH<sub>4</sub><sup>+</sup>N g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

Cuadro 19 Modelo lineal basado en distancia (DistLM) para la actividad enzimática de la Ureasa.

AIC	R <sup>2</sup>	RSS	No	Co-variables	Pseudo-F	Prop	Cumul	Efecto
-357.67	0.840	31.817	4	CE	332.3	0.626	0.626	-
				As	227.3	0.200	0.826	-
				Pb	8.3	0.007	0.833	-
				Arcilla	7.7	0.006	0.840	+

AIC: Criterio de información Akaike´s. RSS: Suma residual de errores al cuadrado. Prop: Proporcional. Cumul: Proporcional acumulada. (-): Efecto inhibidor. (+): Efecto inductor.

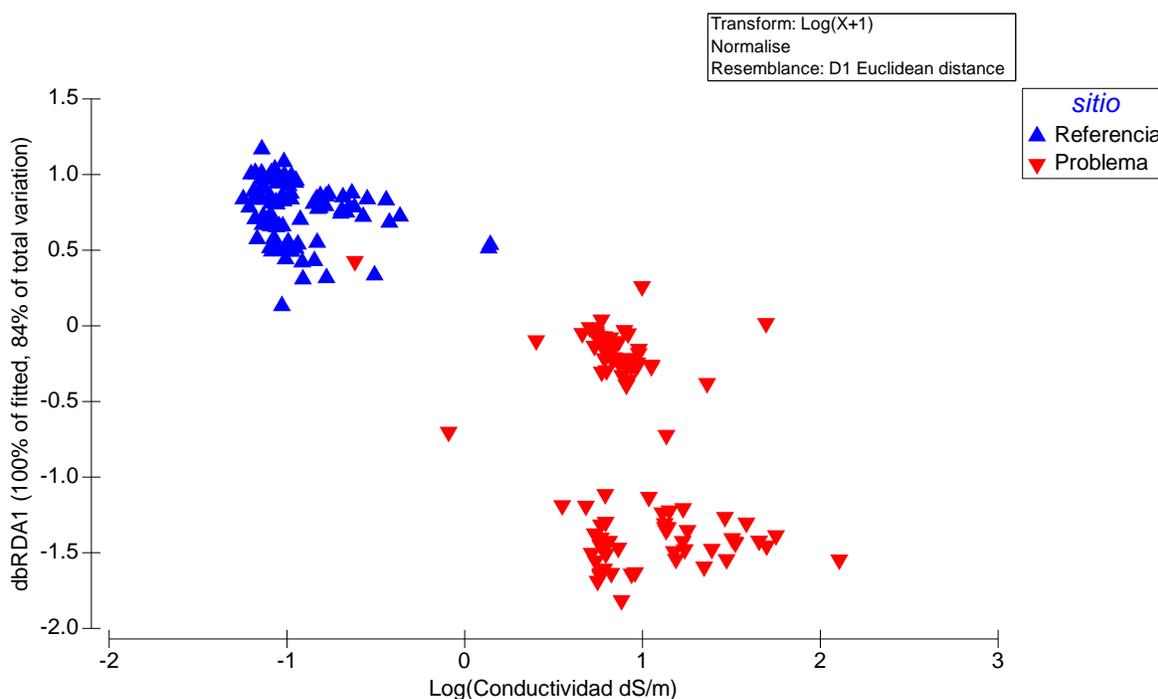
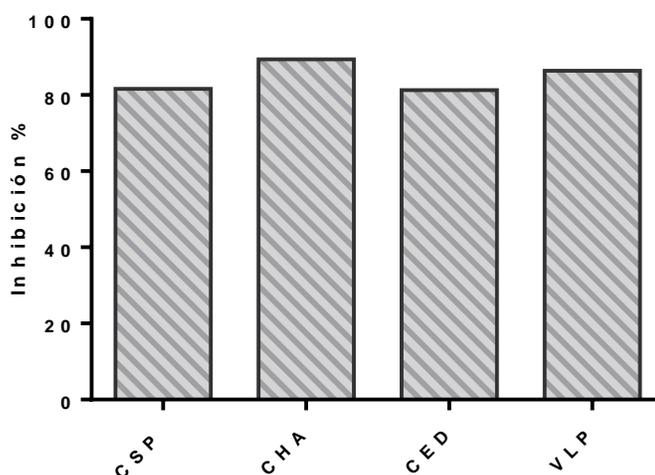


Figura 32 Efecto de la CE sobre la actividad de la Ureasa.

#### 8.4.5.5. $\beta$ -Glucosidasa

Al medir la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa se encontró que los sitios con mayor presencia fueron Cerro de San Pedro> Villa de la Paz> Charcas> Cedral esto en el caso de las referencias, efectivamente en los sitios impactados encontramos una disminución de la actividad de esta enzima en el siguiente orden Cerro de San Pedro> Villa de la Paz>

Charcas> Cedral. Al determinar el porcentaje de inhibición de cada una de las enzimas por los distintos sitios muestreados encontramos que la  $\beta$ -glucosidasa presenta una inhibición 89.4 % Charcas, 86.4 % Villa de la Paz, 81.3 % Cedral y 81.6 % Cerro de San Pedro (Figura 36). Jadwiga *et al.* (2010), realizaron un ensayo en suelo agrícola donde encontró inhibición de la  $\beta$ -Glucosidasa la cual indicó un 37.5 % de inhibición causada por Cu (450 mg/Kg). Borowik *et al.* (2014), determinaron que la  $\beta$ -Glucosidasa (36.29 %) se ve inhibida por el Zn (2,400 mg/Kg), el ensayo lo realizó en suelo franco arenoso. Hernández *et al.* (2006), encontraron inhibiciones de la  $\beta$ -glucosidasa de 86.9 % de inhibición en un suelo moderadamente contaminado por Zn: 890, Pb: 340, Cd: <0.3., Cu: 3.47 mg/Kg y un 89 % de inhibición en un suelo altamente contaminado por Zn: 18,900, Pb: 4,930, Cd: 15.10, Cu: 11.90 mg/Kg. Se determinó que la ureasa es una de las enzimas más sensibles a la presencia de metales pesados debido a que arrojó los más altos porcentajes de inhibición, lo cual indica que esta enzima está siendo afectada de manera importante.



**Figura 33** Actividad enzimática en sitios problema, Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) y Villa de la Paz (VLP).n=200.

Al realizar el análisis multivariado nos damos cuenta que las variables que interactúan con la  $\beta$ -Glucosidasa fueron Cu, Mn, As Zn, pH, Pb y CE estas variables actúan de manera negativa para la actividad de esta enzima y las variables como: Arcilla y MO actúan de manera positiva o beneficiosa. La actividad de la  $\beta$ -Glucosidasa es afectada principalmente por el Cu la cual explica el 72 % del comportamiento (Cuadro 21), debido a que entre

mayor concentración de Cu la actividad de la enzima comienza a disminuir y a menor concentración de Cu la actividad de esta enzima aumenta, se puede observar en la Figura 37 que el sitio impactado presenta menor actividad enzimática y el sitio de referencia presenta una mayor actividad.

Se han realizado numerosos estudios donde se determina que metales pesados afectan la actividad de la  $\beta$ -Glucosidasa. Balyaeva *et al.* (2005), encontraron que el Cinc disminuyó las actividades de la B-D-glucosidase. En el estudio de Cerón y Melgarejo (2005), determinaron que los suelos con altas concentraciones de Cadmio, mostraron un aumento en el contenido metabólico lo cual indica condiciones de estrés de la microflora, descensos en la biomasa microbiana y en las actividades enzimáticas  $\beta$ -Glucosidasa. Geiger *et al.* (1998), encontraron que el cobre inhibe la actividad  $\beta$ -Glucosidasa. Hernández *et al.* (2006), demostró que la actividad de la  $\beta$ -Glucosidasa puede verse afectada de manera negativa por concentraciones elevadas en suelo de: Zn: 18,900, Pb: 4,930, Cd: 15.10, Cu: 11.90 mg/Kg obtuvo una concentración de 0.106 nmol PNP  $g^{-1} h^{-1}$  y en el sitio control obtuvo una concentración de 0.969 nmol PNP  $g^{-1} h^{-1}$ . Jadwiga *et al.* (2010), en su estudio utilizaron suelo agrícola contaminado con Cu (450 mg/Kg), midieron la actividad de la  $\beta$ -Glucosidasa en un suelo control y uno contaminado. El suelo control mostró una actividad de  $709.0 \pm 28.0$  nmol PNP  $g^{-1} h^{-1}$  y el contaminado  $443.0 \pm 12.0$  nmol PNP  $g^{-1} h^{-1}$ , lo cual indica que el suelo contaminado está sufriendo alteraciones por Cu. Borowik *et al.* (2014), encontró un decremento de la actividad de la  $\beta$ -Glucosidasa en suelo contaminado por Zn (2,400 mg/Kg). Utilizó un suelo control el cual arrojó una actividad de 416.0 nmol PNP  $g^{-1} h^{-1}$  y el suelo contaminado mostró una actividad de 265.0 nmol PNP  $g^{-1} h^{-1}$ . D'Ascoli *et al.* (2006), realizaron un estudio en suelos volcánicos de Italia, encontró que la  $\beta$ -Glucosidasa mostró un coeficiente de correlación de Pearson es de 0.27 con respecto al Cu  $229.34 \pm 17.02$  mg/Kg. Kuperman and Carrero (1997), realizó un estudio en suelos de USA en los cuales encontró contaminación por As (4.8 mg/Kg), Cd (0.20 mg/Kg) Cu (11.0 mg/Kg), Pb (19.4 mg/Kg) y Zn (50.8 mg/Kg) en el sitio de referencia y el sitio contaminado mostro concentraciones de As (5.64 mg/Kg), Cd (0.88 mg/Kg), Cu (123.6 mg/Kg), Pb (250 mg/Kg) y Zn (222.2 mg/Kg). En el sitio de referencia obtuvieron concentraciones de la actividad de la  $\beta$ -Glucosidasa de 0.629  $g^{-1} dry wt h$  y en el sitio contaminado 0.089  $g^{-1} dry wt$

h, lo cual indica un decremento de esta actividad por la presencia de metales pesados. En este mismo estudio se obtuvieron correlaciones de pearson en las cuales se encontró una correlación positiva con materia orgánica (0.954,  $p < 0.0001$ ), y una negativa con pH (-0.643,  $p < 0.025$ ) y total de metales pesados (-0.673,  $p < 0.006$ ). Nuestro estudio y los citados anteriormente concuerdan en que la actividad enzimática de la  $\beta$ -Glucosidasa puede disminuir su actividad, debido al efecto toxico de las altas concentraciones de metales pesados.

*Cuadro 20 Modelo lineal basado en distancia (DistLM) para la actividad enzimática de la Glucosidasa.*

<i>AIC</i>	<i>R<sup>2</sup></i>	<i>RSS</i>	<i>No</i>	<i>Co-variables</i>	<i>Pseudo-F</i>	<i>Prop</i>	<i>Cumul</i>	<i>Efecto</i>
-360.82	0.850	29.791	9	Cu	522.14	0.725	0.725	-
				Arcilla	39.70	0.046	0.771	+
				Mn	11.56	0.012	0.783	-
				As	19.77	0.019	0.803	-
				Zn	7.85	0.007	0.811	-
				pH	11.91	0.010	0.822	-
				MO	22.52	0.018	0.841	+
				Pb	8.89	0.007	0.848	-
				CE	2.74	0.002	0.850	-

*AIC: Criterio de información Akaike´s. RSS: Suma residual de errores al cuadrado. Prop: Proporcional. Cumul: Proporcional acumulada. (-): Efecto inhibidor. (+): Efecto inductor.*

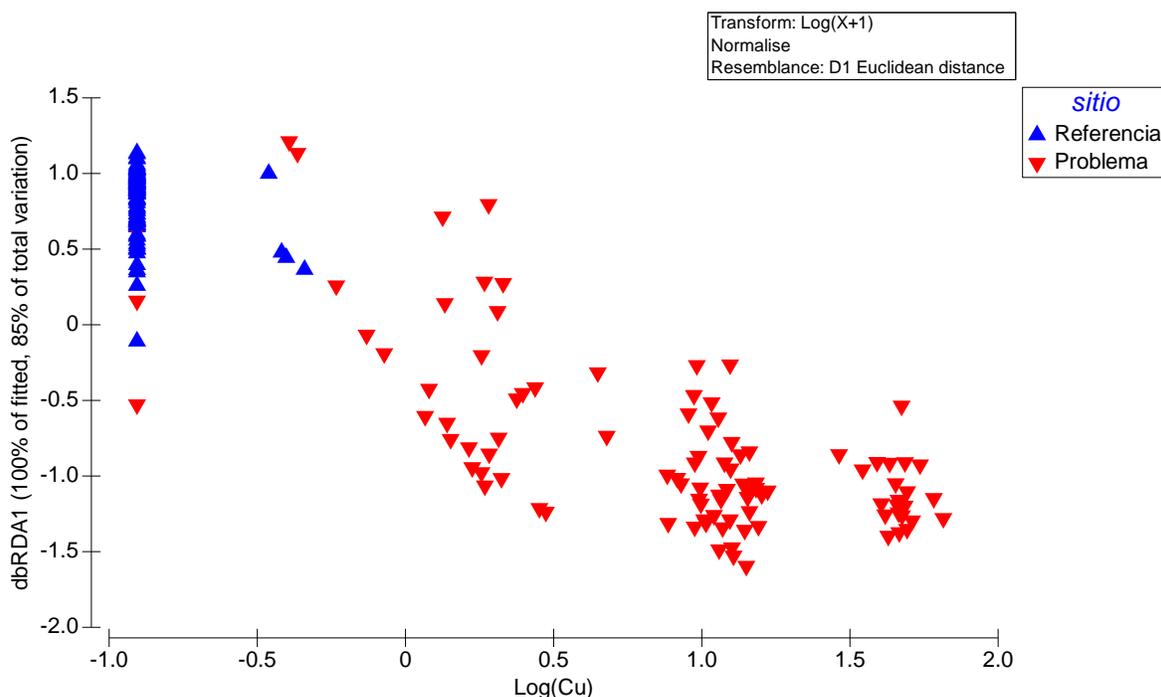
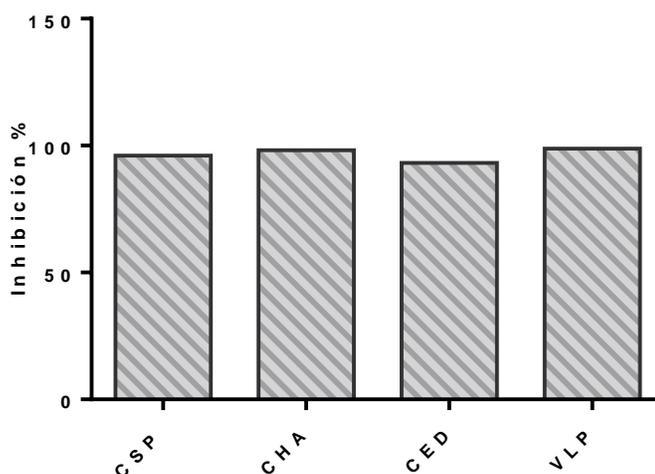


Figura 34 Efecto del Cu sobre la actividad enzimática de la Glucosidasa.

#### 8.4.5.6. Arilsulfatasa

Al medir la actividad de la arilsulfatasa se encontró que los sitios con mayor presencia fueron Charcas > Cerro de San Pedro > Villa de la paz > Cedral esto en el caso de las referencias, efectivamente en los sitios impactados encontramos una disminución de la actividad de esta enzima en el siguiente orden Cerro de San pedro > Charcas Villa de la Paz > Cedral. Al determinar el porcentaje de inhibición de cada una de las enzimas por los distintos sitios muestreados encontramos que la arilsulfatasa presenta una inhibición 98.8 % Villa de la Paz, 98.2 % Charcas, 96.1 en Cerro de San Pedro y 93.2 % en Cedral (Figura 38). Jadwiga *et al.* (2010), encontraron inhibición del 46.89 % de la arilsulfatasa en suelo agrícola causada por el Cu (450 mg/Kg). Borowik *et al.* (2014), determinaron que la Arilsulfatasa puede ser inhibida por altas concentraciones de Zn (2,400 mg/Kg) en este ensayo encontró un 85.71 % de inhibición, el ensayo lo realizó en suelo franco arenoso. Hernández *et al.* (2006), encontraron inhibición en la actividad de la arilsulfatasa en dos tipos de suelo contaminado con metales pesados en el primero moderadamente

contaminado por Zn: 890, Pb: 340, Cd: <0.3, Cu: 3.47 mg/Kg mostró un 36.3 % de inhibición y el segundo altamente contaminado por Zn: 18900, Pb: 4930, Cd: 15.10, Cu: 11.90 mg/Kg arrojó un 64.3 % de inhibición. Al determinar los porcentajes de inhibición nos damos cuenta que la arilsulfatasa es la enzima con mayor sensibilidad a los metales pesados debido a que los porcentajes de inhibición fueron los más altos al compararlos con la deshidrogenasa, galactosidasa,  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa y ureasa.



*Figura 35 Actividad enzimática en sitios problema, Cerro de San Pedro (CSP), Charcas (CHA), Cedral (CED) y Villa de la Paz (VLP).*

Al realizar el análisis multivariado se encontró que las variables que afectan de manera negativa la actividad de la arilsulfatasa son: Ce, Cu, As, Mn, Cd, Pb y Zn y las que la afectan de manera positiva son: MO, arcilla y pH. Estas variables explican el 87 % del comportamiento de esta enzima en el suelo (Cuadro 22). En la Figura 39 se puede observar el efecto de la CE sobre la arilsulfatasa, esta enzima se comporta de manera ascendente en presencia de una CE bajas y de manera decreciente en presencia de una CE baja.

En algunos estudios se ha reportado el efecto de los metales sobre la actividad enzimática y todos concluyen que en presencia de metales la actividad enzimática disminuye. En el estudio de Cerón y Melgarejo (2005), se determinó que los suelos con altas concentraciones de Cadmio, mostraron un aumento en el contenido metabólico lo cual indica condiciones de estrés de la microflora, descensos en la biomasa microbiana y en las actividades

enzimáticas como la arilsulfatasa. Kandeler *et al.* (2000), descubrieron que las actividad de la Arilsulfatasa, disminuyeron en fracciones de partículas de tamaño después de 10 años de contaminación con diferentes niveles de Zn, Cu y Cd. Renella *et al.* (2004), encontraron que las actividades de arilsulfatasa fue significativamente reducida en suelos contaminados con Cd durante unos 15 años. Speir *et al.* (1999), encontraron que la arilsulfatasa fue inhibida por As (V), pero que la ureasa no se vio afectada. Hernández *et al.* (2006), determinaron que la actividad de la Arilsulfatasa puede ser afectada negativamente al estar en presencia de altas concentraciones de metales pesados. Realizaron un estudio en el cual se contaba con un suelo control y suelo altamente contaminado este último mostró tener concentraciones de Zn: 18900, Pb: 4930, Cd: 15.10, Cu: 11.90 mg/Kg las cuales dieron una actividad enzimática de 0.259 nmol PNP g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y el suelo control arrojó una actividad de 0.726 nmol PNP g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, al observar las concentraciones obtenidas nos damos cuenta que la actividad de la arilsulfatasa disminuyó en presencia de metales pesados. Jadwiga *et al.* (2013), encontraron que el suelo contaminado por Cu (450 mg/Kg) puede alterar la actividad de la arilsulfatasa, realizaron mediciones en suelo control encontrando 258.0 ± 15.0 nmol PNP g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y en suelo contaminado 137.0 ± 9.0 nmol PNP g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, lo cual indica una disminución de la actividad enzimática causada por Cu. Borowik *et al.* (2014), utilizaron un suelo de textura franco arenoso el cual estaba contaminado por Zn (2,400 mg/Kg), midió la actividad de la arilsulfatasa en un suelo control arrojando una concentración de 98.0 nmol PNP g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y el suelo contaminado mostró una concentración de 14.0 nmol PNP g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, esto nos dice que la actividad enzimática se está alterando por la presencia de altas concentraciones de metales en suelo. En nuestro estudio encontramos que los metales pesados pueden afectar de manera negativa la actividad enzimática sin embargo no solo estas variables sino también pueden alterar propiedades del suelo como la CE.

**Cuadro 21 Modelo lineal basado en distancia (DistLM) para la actividad enzimática de la Arilsulfatasa.**

AIC	R <sup>2</sup>	RSS	No	Co-variables	Pseudo-F	Prop	Cumul	Efecto
-397.03	0.876	24.61	10	CE	435.46	0.687	0.687	-
				Cu	64.22	0.076	0.764	-
				As	76.27	0.066	0.830	-

MO	33.09	0.024	0.854	+
Mn	6.71	0.0048	0.859	-
Cd	6.00	0.0042	0.864	-
Arcilla	4.04	0.0028	0.866	+
Pb	3.02	0.0020	0.868	-
Zn	9.29	0.0061	0.875	-
pH	2.02	0.0013	0.876	+

AIC: Criterio de información Akaike´s. RSS: Suma residual de errores al cuadrado. Prop: Proporcional. Cumul: Proporcional acumulada. (-): Efecto inhibidor. (+): Efecto inductor.

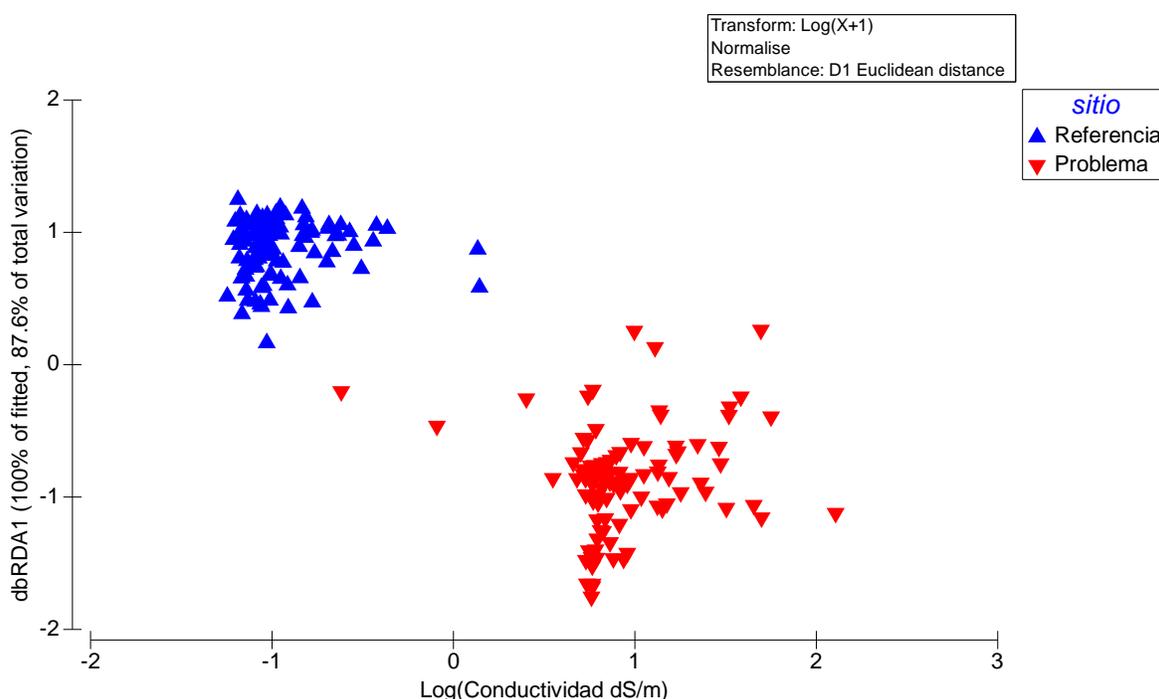


Figura 36 Efecto de la CE sobre la actividad enzimática de la Arilsulfatasa.

La actividad enzimática puede presentar variaciones en la concentración del suelo, ligado a la presencia de minería, industria, fertilizantes etc. Estas actividades pueden afectar directamente su actividad, así como la composición del suelo durante una exposición crónica a través de la disminución de la MO, acidificación del medio o disminución de la arcilla del suelo las cuales son propiedades ligadas a una elevada presencia enzimática.

Distintos estudios muestran que las enzimas del suelo son inhibidas por elementos traza, por ejemplo las  $\alpha$  y  $\beta$ -glucosidasas,  $\alpha$  y  $\beta$ -galactosidasas, ureasa, fosfatasas, arilsulfatasa,

nitrate reductase, L-glutaminase, L-asparaginase, L-asparaginase and cellulase (Acosta y Tabatabai, 2000). Heavy metals can modify the biological properties of soil such as microbial activity and enzymatic activity (Chibuike and Obiora, 2014). Heavy metals are a fundamental part for the functioning of an ecosystem, but when the concentration of these metals increases it can cause large alterations from micro to macro scale. Enzymatic activity can be seriously affected due to concentrations of certain heavy metals such as: Cu, Ni, Cd, Zn, Cr and Pb. Various authors have reported that heavy metals cause harmful effects in the soil ecosystem (Karaca *et al.*, 2010). Heavy metals can inhibit enzymatic activity in a reversible or irreversible way by occupying the active site of the enzyme that would occupy the substrate in this way preventing the union with the substrate avoiding the formation of the products. Different authors have documented that inhibition occurs at the level of the sulfhydryl group (SH). This mechanism occurs in each one of the enzymes (Lorenz *et al.*, 2006, D'Ascoli *et al.*, 2006; Khan *et al.*, 2007).

Various authors have mentioned that the mechanisms of enzymatic inhibition are the following: 1. Through interaction with the enzyme-substrate complex, 2. Through denaturation of the enzymatic protein, 3. Interaction with the active groups of proteins (Dick, 1997; D'Ascoli *et al.*, 2006). This indicates that concentrations found in contaminated sites can be causing an inhibition of enzymatic activity of soil for more than 400 years.

Inhibition of enzymatic activity not only can be attributed to heavy metals but also to other variables that can have an effect on this activity such as pH, Acosta-Martínez y Tabatabai (2000) found that  $\beta$ -Glucosidase is sensitive to changes in the pH of the soil and to soil management practices, as well as Romero *et al.* (2009), determined that pH can affect the biological activity of soil in the same way as the availability of nutrients.

Another property that must be taken into account is clay and organic matter because they can form complexes with heavy metals and with enzymes. In a certain point the quantity of organic matter and clay can be beneficial for the activity

enzimática debido a que pueden formar complejos con los metales y así minimizar su toxicidad. Khan *et al.* (2007), encontraron que el Cd era más tóxico para las enzimas que el Pb, debido a su mayor movilidad y menor afinidad por los coloides del suelo. Dar (1996), encontró una disminución en la actividad enzimática mayor en suelos franco arenoso que en suelos franco arcillosos.

## CAPITULO 7

### 9. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

- i.* Los metales detectados en los 4 sitios son As, Cd, Cu, Mn, Pb, V y Zn de los cuales se encontraron altas concentraciones en los sitios impactados por la minería, se determinó que las concentraciones están por arriba de la norma mexicana, canadiense y estadounidense, al igual que los valores de referencia con excepción del V. Esta situación nos indica que existe una contaminación por metales pesados, siendo el sitio contaminado del municipio de Charcas el que presenta una mayor concentración de Cd, Cu, Pb y Zn y del cual no existe amplia literatura sobre la presencia de estos elementos. En el sitio contaminado en Cedral mostró la más alta concentración de Mn al compararlo con los demás municipios, este suceso nos llama la atención debido a que la intensidad de la explotación minera en este sitio ha sido mínima comparada con la ocurrida en Cerro de San Pedro, Villa de la Paz y Charcas. Después en Villa de la Paz se encontró la mayor concentración de As. Para el caso del V todos los sitios mostraron el mismo nivel de concentración, esta concentración se encontraba por debajo de la normativa. En el caso del sitio contaminado en Cerro de San Pedro se obtuvieron altas concentraciones de metales pero estuvieron por debajo de las obtenidas para los demás sitios, sin embargo esto no significa que este sitio este menos contaminado. La característica que comparten los 4 sitios es que existe o existió actividad minera la cual dejó jales mineros ricos en metales pesados, esto ocasionó un problema de contaminación causando afectaciones a la salud del suelo, plantas, animales y humanos. Se recomienda realizar un monitoreo a largo plazo con el fin de determinar si las concentraciones de metales pesados y metaloides incrementan y en qué proporción. El monitoreo nos ayudara a tomar medidas para controlar la movilidad de los contaminantes, así como evaluar si los valores permisibles de las normas mexicanas son suficientes o se deben de tomar medidas más severas. Se debe de comenzar a realizar planes para la remediación de los sitios, al igual que delegar responsabilidades a las empresas correspondientes, ya que las concentraciones presentes en estos sitios representan un riesgo nacional.

- II.* La contaminación por metales pesados en los sitios contaminados de Cerro de San Pedro, Charcas, Cedral y Villa de la Paz a lo largo del tiempo ha ocasionado que las propiedades fisicoquímicas de los suelos desarrollados sobre los jales mineros como son el porcentaje de arcilla, materia orgánica, conductividad eléctrica y pH, sean significativamente distintas que aquellas de los suelos sin influencia de contaminación. La diferencia en estas propiedades se debe a la alta concentración de metales como As, Cd, Cu, Mn, Pb y Zn. Estas propiedades están involucradas en las interacciones entre microorganismos, enzimas, y radícula las cuales se encargan de mantener una adecuada salud del suelo. Se recomienda realizar ensayos para evaluar el grado de degradación e identificar puntualmente las alteraciones ocasionadas para así proponer métodos de recuperación de suelo.
- III.* La actividad enzimática de los suelos desarrollados sobre los jales mineros se ve inhibida por la presencia de metales pesados en el suelo como son: As, Cd, Cu, Mn, Pb, V y Zn. Concentraciones como las registradas disminuyen la actividad enzimática del suelo por lo tanto se está afectando su salud, al igual que los ciclos biogeoquímicos y los servicios ambientales que este nos proporciona. Se determinó que no solo los metales pueden afectar de manera negativa a la actividad enzimática sino que también la CE y el pH. La MO y Arcilla actúan de manera positiva, ayudan a incrementar la actividad enzimática. Estas variables se deben de tomar en cuenta en posteriores estudios para tener resultados adecuados sobre el comportamiento de la actividad enzimática en suelo.
- IV.* Las enzimas con mayor sensibilidad a la presencia de metales pesados en suelo son: la arilsulfatasa y ureasa, las cuales recomendamos para evaluar la salud en suelo contaminado por metales pesados. Se determinó que en Charcas se encontraron las mayores inhibiciones de deshidrogenasa, fosfatasa y glucosidasa. Y Villa de la Paz registró las mayores inhibiciones de galactosidasa, ureasa y arilsulfatasa. Se recomienda comenzar a realizar estudios con el fin de tratar de recuperar estos suelos ya que se están interrumpiendo los ciclos biogeoquímicos como el del Carbono y Nitrógeno que contribuyen al descenso del CO<sup>2</sup> en la atmósfera.

- v. Los datos obtenidos de la actividad enzimática al igual que las propiedades físicas y químicas nos sirven como valores de referencia ya que estudios como estos en México son escasos, por lo tanto los valores reportados ayudarían a comparar estudios futuros en zonas similares.
- vi. En el presente estudio se utilizó para la determinación de metales pesados el analizador ambiental Thermo Scientific Niton XL3t Gold Serie 500 de fluorescencia de rayos X (XRF), como un método innovador, rápido, de bajo costo y confiable debido a los límites permisibles que maneja el aparato. Sin embargo este método no es legal por lo cual se recomienda usar estos datos de una manera cuidadosa, debido a que la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 no lo tiene registrado para la determinación de metales pesados en suelo.
- vii. Al analizar los resultados obtenidos encontramos que la actividad enzimática de la  $\beta$ -glucosidasa, ureasa y arilsulfatasa son ideales para evaluar la salud del suelo por contaminación a metales pesados, por lo anterior recomendamos realizar un monitoreo a nivel nacional en sitios con presencia de jales mineros. También se puede utilizar como un requisito para empresas mineras al momento de cierre y restauración del sitio, con el fin de monitorear el grado de restauración que se les exige.
- viii. Este estudio se puede complementar con la cuantificación de la masa microbiana, así como realizando la medición de la actividad enzimática y propiedades físicas y químicas a través de un transecto tomando como punto de partida el sitio identificado como contaminado hacia fuera de estos residuos con el fin de determinar a qué distancia se está afectado el suelo. Este estudio se puede replicar en sitios en donde exista la presencia de metales pesados ya sea lugares con presencia de actividades metalúrgicas, actividades agrícolas, actividades industriales etc. Y por último debido a la cantidad elevada de metales pesados en estas zonas se recomienda comenzar a tratar de restaurar los sitios a través de técnicas como la biorremediación o restauración química.

## **10. BIBLIOGRAFIA**

Acosta-Martínez, V., Tabatabai, M. A. 2000. Arylamidase activity in soils: effect of trace elements and relationships to soil properties and activities of amidohydrolases. *Soil Biology & Biochemistry*, 33 17-23.

Adamo, P., Zampella, M., Gianfreda, L., Renella, G., Rutigliano, F. A., Terribile, F. 2006. Impact of river overflowing on trace element contamination of volcanic soils in south Italy: Part I. Trace element speciation in relation to soil properties. *Environmental Pollution*, 144 308-316.

Adriano, D.C. 2006. Em Anais do International Symposium on Trace Elements in the Food Chain, Budapest, Hungria.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2007. Toxicological Profile for Arsenic (Update). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2007. Toxicological Profile for Lead (Update). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2008. Toxicological Profile for Cadmium (Draft for Public Comment). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR). 2004. Reseña Toxicológica del Cobre. Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU., Servicio de Salud Pública.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2012. Toxicological Profile for Manganese. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2012. Toxicological Profile for Vanadium. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). 2009. Obtenido en: <http://www.atsdr.gov/es/>, Consultado el 02 de Abril del 2014.

Aguilera, C. M. y Martínez E. R. 1996. Relaciones agua suelo planta atmosfera, Universidad Autónoma de Chapingo, Cuarta Edición, Editorial UACH, pp. 250.

Alcalá, J. J., Beltrán M. F. A., Ávila C. C., Rodríguez F. H., Rodríguez O. J. C., Loya R. J. G. y Hernández M. A. 2012. Metales pesados como indicador de impacto de un sistema ecológico fragmentado por usos de suelo, San Luis Potosí, México, *Rev. fca uncuvo*. 44(2): 15-29.

Alcalá, J. J., Rodríguez, O.C., Villseñor, Z. E., Hernández, M. A., García, A. E., Beltrán, M. A., Rodríguez, F. H. 2013. Vegetación bioindicadora de metales pesados en un sistema semiárido. *rev. fca uncuvo*, 45(1): 27-42.

- Alloway, B.J. 1995. *Heavy Metals in Soils*. 2th ed., Blackie Academic & Professional: London.
- Alvear, M., Urra C., Huaiquilao R., Astorga M. y Reyes F. 2007. Actividades biológicas y estabilidad de agregados en un suelo del bosque templado chileno bajo dos etapas sucesionales y cambios estacionales, *R.C.Suelo Nutr. Veg.* 7(3):38-50 y *J. Soil Sc. Plant Nutr.* 7(3):38-50.
- Cordinación General de Minería. 2012. Anuario Estadístico de la Minería Mexicana. Secretaria de Economía. Publicación No. 42.
- Bartkowiak, A., Lemanowicz, J. 2014. Application of Biochemical Tests to Evaluate the Pollution of the Unislaw Basin soils with Heavy Metals, *Int. J. Environ. Res.*, 8(1):93-100.
- Blum, U., Schwedt, G. 1998. Inhibition behavior of acid phosphatase, phosphodiesterase I and adenosine deaminase as tools for trace metal analysis and speciation. *Analytica Chimica Acta*, 360 101-108.
- Bohn, Hinrich; McNeal, Brian L.; O'Connor, George A. 1993. *Química del suelo*. México. Limusa. 1993. 370 p.
- Burns, R. G., Dick, P.R. 2002. *Enzymes in the Enviroment, Activity, Ecology, and Applications*. Copyright by Marcel Dekker, Inc. All Rights Reserved.
- Cañizares-Villanueva, O. R. 2000. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42:131-143.
- Cary, R. S. y Hervé D. 1994. El estado microbiológico del suelo, indicador de una restauración de la fertilidad, *Dinámicas del descanso de la tierra en los Andes* 1(1):185-197.
- Cásseres, E. 1966. *Producción de hortalizas*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Lima. pp. 280.
- Cerón, L., Megarejo L. 2005. Soil Enzymes: Health and Quality Indicators. *Acta Biológica Colombiana*, 10 (1), 14. 2014, De Universidad Nacional de Colombia Base de datos.
- Chen, P., Parmalee, N., Aschner, M. 2014. Genetic factors and manganese-induced neurotoxicity, mini review article. doi: 10.3389/fgene.2014.00265.
- Chibuike, G. U., Obiora, S. C. 2014. Heavy Metal Polluted Soils: Effect on Plants and Bioremediation Methods. *Hindawi Publishing Corporation Applied and Environmental Soil Science*, pp. 12.
- Chiprés de la Fuente, J. A. 2008. Cartografía Geoquímica Multiescalar de Valores de Fondo y Lineas Base en el Altiplano Potosino, S.L.P., México. Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. pp. 50-114.
- Calus-Henn, B., Schnaas, L., Ettinger, A., Schwartz, J., Lamadrid-Figueroa, H, Hernández-Avila, M., Amarasiriwardena, C., Hu, W., Bellinger, D., Wright, R., Téllez-Rojo, M. 2012. Associations of Early Childhood Manganese and Lead Coexposure with Neurodevelopment. *Environmental Health Perspectives*, Vol. 120, No1. pp 126-131.

- Coordinación general de minería. 2011. Panorama Minero del Estado de Zacatecas, Gobierno federal, pp. 57.
- Cotler, H., Sotelo, E., Dominguez, J., Zorrilla, M., Cortina, S., Quiñones, L. 2008. La conservación de suelos como un asunto de interés público. Instituto Nacional de Ecología. <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/gacetas/522/conservacion.html>. Consultado El 28 de septiembre de 2015.
- Dar, G. H. 1996. Effects of cadmium and sewage-sludge on soil microbial biomass and enzyme activities. *Bioresour Technol*, 56:141–145
- D’Ascoli, R., Rao, M. A., Adamo, P., Renella, G., Landi, L., Rutigliano, F. A., Terribile, F., Gianfreda, L.. 2006. Impact of river overflowing on trace element contamination of volcanic soils in SouthItaly: Part II. Soil biological and biochemical properties in relation to trace element speciation. *Environ Pollut* 144:317–326
- Dick, R. P. 1997. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. In: Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR (eds) *Biological indicators of soil health*. CAB International, NewYork, pp 121–156.
- Edwards, C. A. 2000. Earthworms. Chapter 8 Edwards, C.A. In: Soil Biology Primer. *Soil and Water Conservation Society*. Rev. Edition. Ankeny Iowa.
- Egamberdieva, D., Renella, G., Wirth, S., Islam, R. 2011. Soil Enzymology, Soil Biology. Uzbekistan: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Capítulo 8, pp 156-158.
- ENGLAND (Sin año). Contaminated Soils, Sediments & Water: Science In The Real World, 189-249.)
- FAO. 2015. La biodiversidad del suelo. <http://www.fao.org/soils-portal/biodiversidad-del-suelo/es/>.
- FAO. 2015. La biota del suelo y la biodiversidad. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/i0112s/i0112s07.pdf>.
- Flores-Ramírez, R., Rico-Escobar, E., Núñez-Monreal, J. E., García-Nieto, E., Carrizales, L., Ilizaliturri-Hernández, C., Díaz-Barriga, F. 2011. Exposición infantil al plomo en sitios contaminados. *salud pública de méxico* ,vol. 54, no. 4.
- Font-Quer, P. 2000. Diccionario de botánica. 2ª ed. Ediciones Península. Barcelona. 1244 p.
- Frac, M., Oszutz, K. y Lipiec., 2012, Community Level Physiological Profiles (CLPP), Characterization and Microbial Activity of Soil Amended with Dairy Sewage Sludge, *Sensors* 2012, 12, 3253-3268.
- SEMARNAT. 2008. [http://www.semarnat.gob.mx/informacionambiental/Documents/pdf/cap\\_3\\_suelos.pdf](http://www.semarnat.gob.mx/informacionambiental/Documents/pdf/cap_3_suelos.pdf). [http://www.semarnat.gob.mx/informacionambiental/Documents/pdf/cap\\_3\\_suelos.pdf](http://www.semarnat.gob.mx/informacionambiental/Documents/pdf/cap_3_suelos.pdf) [www.semarnat.gob.mx](http://www.semarnat.gob.mx). Consultado el 15 de agosto 2015.
- Galán, H. E. y Romero B. A. 2008. Contaminación de Suelos por Metales Pesados, *Revista de la Sociedad Española de Mineralogía*, 10(1): 48-60.

- Gamiño-Gutiérrez, S., González-Pérez, I., Gonsebatt, M. E., Monroy-Fernández, M. G. 2013. Arsenic and lead contamination in urban soils of Villa de la Paz (Mexico) affected by historical mine wastes and its effect on children's health studied by micronucleated exfoliated cells assay. *Environ Geochem Health*, 35:37–51
- Geiger G, Brandi H, Furner G, Schulin R. 1998. The effect of copper on the activity of cellulose and b -glucosidase in the presence of montmorillonite or Al-montmorillonite. *Soil Biol Biochem*, 30:1537–1544.
- Gianfreda L, Ruggiero P. 2006. Enzyme Activities in Soil. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Capítulo 12, pp 279-281.
- González-Mille, 2006. Riesgo ecológico en la zona minera de Villa de la Paz, San Luis Potosí. Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. pp. 15-35.
- González, R. J. J. 2011. Minería en México. Referencias generales, régimen fiscal, concesiones y propuestas legislativas, Centro de Estudios Sociales y de Opinión Pública 121(1): 17-52.
- González Ramírez, César A.; Román Gutiérrez, Alma D.; Prieto García, Francisco; Prieto Méndez, Judith; (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 29-44.
- Hernández, A., Ascanio, M., Morales, M., Bojórquez, I., García, N., García, D. 2006. El suelo: Fundamentos sobre su formación, los cambios globales y su manejo. Primera edición, Universidad Autónoma de Nayarit. 261 pp.
- Hozumi, I., Hasegawa, T., Honda, A. 2011. Patterns of levels of biological metals in CSF differ among neurodegenerative diseases. *J Neurol Sci*; 303: 95–9.
- Iannacone, J., Alvaríño, L. 2005. Efecto Ecotoxicológico de tres Metales Pesados Sobre el Crecimiento Radicular de Cuatro Plantas Vasculares. Agricultura Técnica (Chile). Investigación Recursos Naturales. Pp. 9.
- INIFAP. 2010. Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género Capsicum que crecen y se cultivan en México.
- Jackson, W.R. 1993. Humic, fulvic and microbial balance: organic soil conditioning. *Research Center*. 946 p.
- Juma, N.G. 1998. The pedoshere and its dynamics: a systems approach to soil science. Volume 1. *Quality Color Juma*, N.G. Press Inc. Edmonton, Canada. 315pp.
- Kabata-Pendias, A.; Pendias, H. 2001. Trace Elements in Soils and Plants, 3th ed., CRC press: Florida.
- Kandeler. E., Tschierko. D., Bruce, K. D., Stemmer, M., Hobbs, P. J., Bardgett, R. D., Amelung, W. 2000. Structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. *Biol Fertil Soils*, 32:390–400.

- Karaca, A., Camci, S., Can, O., Kizilkaya, R. 2010. Effects of Heavy Metals on Soil Enzyme Activities. En Sherameti and A. Varma (eds.), *Soil Heavy Metals, Soil Biology* (237-262). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Khan, S., Cao, Q., Hesham, A. E. L., Xia, Y., He, J. 2007. Soil enzymatic activities and microbial community structure with different application rates of Cd and Pb. *J Environ Sci*, 19:834–840.
- Kucharski, J., Boros, E., Wyszowska, J. 2009. Biochemical Activity of Nickel Contaminated Soil, *Polish J. of Environ. Stud.* Vol. 18, No. 6, 1039-1044
- Kuperman, G. R., Carreiro, M. M. 1997. Soil heavy metal concentrations, microbial, biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem, *Soil Biol. Biochem*, Vol. 29, No 2, pp. 179-190.
- Li, Q., Ji, H., Qin, F., Tang, L., Guo, X., & Feng, J. 2014. Sources and the distribution of heavy metals in the particle size of soil polluted by gold mining upstream of Miyun Reservoir, Beijing: implications for assessing the potential risks. *Environmental Monitoring & Assessment*, 186 (10), 6605-6626
- Lira, S. R. H. 2007. Fisiología Vegetal, Universidad Autónoma Agraria Antonio Marro, Segunda Edición, Editorial Trillas, pp. 212.
- López, L. A. 2015. Suelos y Salud. Departamento de Edafología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. *Rev. salud ambient.* 15 (1):74-75.
- Lorenz, N., Hintemann, T., Kramarewa, T., Katayama, A., Yasuta, T., Marschner, P., Kandeler, E. 2006. Response of microbial activity and microbial community composition, in soils to long-term arsenic and cadmium exposure. *Soil Biol Biochem* 38:1430–1437.
- Lugo, F. J., Chavez, N. M., Evangelista, S. B., Vaca, P. R., Del Aguila, J. P., Hernández, R. D. 2003. Metales pesados totales y disponibles en suelos adicionados con lodos residuales después de 12 meses de aplicación. Lab. de Edafología y Ambiente. Fac. de Ciencias UAEM. Instituto Literario 100.
- Luo, Z., Tian, D., Ning, C., Yan, W., Xiang, W., & Peng, C. 2015. Roles of *Koelerutera bipinnata* as a suitable accumulator tree species in remediating Mn, Zn, Pb, and Cd pollution on Mn mining wastelands in southern China. *Environmental Earth Sciences*, 4(5), 4549-4559. doi:10.1007/s12665-015-4510-8
- Macias, V. L., Valadez, M. C. 1999. Guía para cultivar chile en Aguascalientes. Folleto para Productores Núm. 23. Inifap.
- Márquez, Reyes, J.A. 2008. Modificación de la Bioaccesibilidad de Residuos Mineros en Presencia de Materia Orgánica Empleando Bacterias Reductoras de Sulfatos. Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Pp 60.
- Martínez, S. A., Cancela L. M. y Virgolini M. B. 2011. El estrés oxidativo como mecanismo de acción del plomo. Implicancias terapéuticas, *Acta toxicol. Argent* 19(2):2-34.
- Marzadori, C., Ciavatta, C., Montecchio, D., Gessa, C. 1996. Effects of lead pollution on different soil enzyme activities, *Biol Fertil Soils*, 22:53-58

- Mayr, C., Winding, A. y Hendriksen, N., B. 1999. Community level physiological profile of soil bacteria unaffected by extraction method, *Journal of Microbiological Methods*, Vol.36 29–33.
- Mc Laren, R.G. and K.C. Cameron.1994. *Soil Science. An introduction to the properties and management of N.Z. soil.* Ed Oxford University Press.
- MEJÍA et al. (1999). Un método para la evaluación de riesgos para la salud en zonas mineras. *Salud Pública de México*, Vol. 41 no.2.
- Mocek-Plócinia, A. 2009. Effect of Mineral Xenobiotics on the Enzymatic Activity of Anthropogenically Changed Soils, *Polish J. of Environ. Stud.* Vol. 18, No. 3, 421-427.
- Malavolta, E.; Vitti, G.C.; Oliveira. 1992. Evaluación del estado nutricional de las plantas. Principios y aplicaciones. *Boletín de PROMECAFE (Guatemala)* No.56:16.
- Monroy, M., Díaz-Barriga, F., Razo, I., Carrizales, L. 2002. Evaluación de la contaminación por arsénico y metales pesados (Pb, Cu, Zn) y análisis de riesgo en salud en Villa de la Paz-Matehuala, S.L.P. Instituto de Metalurgias, U. A. S. L. P. Nota informativa. S.L.P.
- Navarro, G. G. y Navarro, B. S. 2003. *Química agrícola, el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*, Segunda edición, México.
- Núñez, Solís, J. 1997. *Fundamentos de la edafología.* Editorial Universidad Estatal a Distancia, San José, Costa Rica. 189 pp.
- Ochoa, V., Hinojosa B., Gómez-Muñoz B. y García-Ruiz R. 2007. Actividades enzimáticas como indicadores de calidad del suelo en agroecosistemas ecológicos, *Iniciación a la investigación*, 2(1): r1.
- Olalde, P. V. y Aguilera, G. L. 1998. *Microorganismos y Biodiversidad*, Terra volumen 16 numero 3.
- Ortega, Morales, B. N. 2012. Asociación entre la fracción bioaccesible y la bioacumulación en algunas especies vegetales que crecen en el cauce del arroyo de San Pedro. Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Ortega, T. E. 1981. *Química de Suelos*, Universidad Autónoma de Chapingo, Primera Edición, Editorial UACH pp. 416.
- Ortiz-Cano, H. G., Trejo-Calzada, R., Valdez-Cepeda, R. D., Arreola-Ávila, J. G., Flores-Hernández, A., & López-Ariza, B. 2009. Fitoextracción de plomo y cadmio en suelos contaminados usando quelite (*Amaranthus hybridus* L.) y micorrizas. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 15 (2), 161-168. Recuperado en 10 de abril de 2014, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1027152X2009000200009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027152X2009000200009&lng=es&tlng=es).
- Osman, K. T. 2013. *Soils Principles, Properties and Management.* Springer Science Business Media, Dordrecht. The Netherlands, pp 113-114.
- Plaster, J.E. 2000. *La Ciencia del Suelo y su manejo.* Trad. al español por P. Scott. Editorial Paraninfo. Madrid, España.

- Puga, S., Sosa M., Lebgue T., Quintana C. y Campos A. 2006. Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la Industria minera, *Ecología Aplicada*, 5(1,2):8.
- Quilchano, C. y Marañón, T. 2002. Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils, *Biol Fertil Soils*, 35:102–107. DOI 10.1007/s00374-002-0446-8.
- Rafael, M. N. M., Ruiz G. Y., Fernández M. O. y Águila A. E. 2009. Evaluación del impacto tecnológico sobre el recurso suelo, en sistemas agrícolas representativos del municipio de Santa Clara, *Centro Agrícola*, 36(2): 57-63.
- Raskin, P. B. A. N., Kumar, S. Dushenkov, and D. E. Salt. 1994. “Bioconcentration of heavy metals by plants,” *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 5, no. 3, pp. 285–290.
- Raven, P. H. y Curtis, H. 1975. *Biología vegetal*, Primera edición, Ediciones Omega, S.A., Barcelona, España.
- Razo, I., Carrizales, L., Castro, J., Díaz-Barriga, F., & Monroy, M. 2004. Arsenic and heavy metal pollution of soil, water and sediments in a semi-arid climate mining area in Mexico. *Water, Air & Soil Pollution*, 152(1-4), 129-152.
- Reinhold, J.C. 1975. Trace elements a selective survey. *Clin.Chem*, 21:476–500
- Renella, G., Mench, M., Van der Lelie, D., Pietramellara, G., Ascher, J., Ceccherini, M. T., Landi, L., Nannipieri, P. 2004. Hydrolase activity, microbial biomass and community structure in long-term Cd-contaminated soils. *Soil Biol Biochem* 36:443–451.
- Renella, G., Mench, M., Landi, L., Nannipieri, P. 2005. Microbial activity and hydrolase synthesis in long-term Cd-contaminated soils. *Soil Biol Biochem* 37:133–139.
- Reyes, C. P. 1981. *Historia de la agricultura, información y síntesis*, Primera edición, AGT EDITOR, México.
- Rico, R. M. A., Otazo S. E. M., Prieto G. F., Acevedo S. O. A. y Román G. A. O. 2013. Caracterización de tres suelos en Hidalgo y Querétaro, México: disponibilidad y daño tóxico por arsénico en garbanzo (*Cicer arietinum* L.), *Rev. FCA UNCUYO*, 45(1): 225-246.
- Rodríguez y Rodríguez, Y. 2011. Evaluación de la contaminación por metales en pasivos ambientales de actividades metalúrgicas históricas en el distrito minero cerro de san pedro, S.L.P. (México). Programas Multidisciplinarios de Posgrado en Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. S.L.P. pp. 10-15, 70-90.
- Romero, M. P.; Santamaría, D. M.; Zafra, C. A. 2009. Bioingeniería y suelo: abundancia microbiológica, ph y conductividad eléctrica bajo tres estratos de erosión. *Umbral Científico*, Junio-Sin mes, 67-74.
- Rosa-Guzmán, A., Sánchez E. S., Flores G. D., Quevedo P. N. y Váldez C. R. 2006. La Biorremediación, un método para descontaminar áreas agrícolas, Tesis para obtención de título Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria de la Habana.
- Rout, T., Masto, R., Padhy, P., Ram, L., George, J., & Joshi, G. 2015. Heavy metals in dusts from commercial and residential areas of Jharia coal mining town. *Environmental Earth Sciences*, 73(1), 347-359.

- Ruiz, H. E. A. y Armienta H. M. A. 2012. Acumulación de arsénico y metales pesados en maíz en suelos cercanos a jales o residuos mineros, *Rev. Int. Contam. Ambie.* 28 (2):103-117.
- Saavedra, D., Vallecillo, M., Rodríguez, M. 2004. Cebolla para exportación. Edit. Editarte. Managua, Nicaragua.
- Santillana, Morato, C. 2009. Caracterización del Polvo como Medio en la Ruta de Exposición en la Zona Minero-Metalúrgica de Matehuala-Villa de la Paz, S.L.P. Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Pp.6-51.
- SGM. 2011. Panorama Minero del estado de San Luis Potosí. Coordinación General de Minería. pp. 70
- SGM. 2014. Panorama Minero del estado de San Luis Potosí. Coordinación General de Minería. pp. 59.
- SEMARNAT. 2009. Metales Pesados. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. Última actualización en Lunes, 17 de Agosto de 2009 18:03. <http://www.inecc.gob.mx/sqre-temas/763-aqre-metales>
- Shen, G., Lu, Y., Zhou, Q., Hang, J. (2005). Interaction of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals on soil enzyme. *Chemosphere* 61:1175–1182.
- Shonkor, K. and Ajit, V. 2011. Soil Enzymology. Role of Enzymes in Maintaining Soil Health. Chapter 2. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Shukla, G., Varma, A. 2011. Soil Enzymology. Biological, Geological & Environmental Sciences. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Sieghardt, H. 1990. Heavy-metal uptake and distribution in *Silene vulgaris* and *Minuartia verna* growing on mining-dump material containing lead and zinc. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands. *Plant and Soil*, 123, 107-111.
- Simonín, C. T. 2011. Diagnóstico del Manejo Agronómico del Cultivo de Cebolla en el Rancho “El Cebollal”, del Municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz. Facultad de Ciencias Agrícolas. pp. 86.
- Sombroek, W. G., Nachtergaele; F. O., Hebel, A. 1993. Amounts, dynamics and sequestering of carbon in tropical and subtropical soils. *Ambio* (12)7: 417-426.
- Speir, T. W., Kettles, H. A., Parshotam, A., Searle, P. L., Vlaar, L. N. C. 1999. Simple kinetic approach to determine the toxicity of As[V] to soil biological properties. *Soil Biol Biochem*, 31:705–713.
- Stone, A. D. & O'Shaughnessy, J. C. 2005. Chapter 15: sorption, desorption and leaching transport of heavy metals in soils common to new.
- Sumner, M. E. 2000, Handbook of Soil Science. CRC Press.
- Torres, M. M. 2007. Diagnóstico y Plan Municipal de Desarrollo Rural Sustentable de Vanegas, S.L.P. Consejo Municipal de Desarrollo Rural Sustentable. pp. 73.

- Trevors, J. T. 1984. Effect of substrate concentration, inorganic nitrogen, O<sub>2</sub> concentration, temperature and pH on dehydrogenase activity in soil, *Plant and Soil*, 77, 285-293.
- Wang, D., Du, X., Zheng, W. 2008. Alteration of saliva and serum concentrations of manganese, copper, zinc, cadmium and lead among career welders. *Toxicol Lett*; 176: 40–7.
- Weber, K. y Legge, R. 2010. Community-Level Physiological Profiling, S.P. Cummings (ed.), *Bioremediation, Methods in Molecular Biology* 599.
- Wei, S., Teixeira da Silva J. A., Zhou Q. 2008. Agro-improving method of phytoextracting heavy metal contaminated soil, *Journal of Hazardous Materials* 150 (1) 662–668.
- Yao, D., Meng, J., Zhang, Z. 2010. Heavy metal pollution and potential ecological risk in reclaimed soils in Huainan mining área. *Journal of Coal Science & Engineering*, 16(3), 316-319.
- Yoon, J., Cao X., Zhou Q., Ma L. Q. 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site, *Science of the Total Environment* 368 (1):456–464.
- Zapata, Hernández, R. D. 2002. Química de la acidez del suelo. Universidad Nacional de Colombia. Capítulo 2. 51-80 pp.
- Zetina, R. C. 2011. La vida cotidiana en un territorio contaminado La Zacatecana, en Guadalupe, Zacatecas. Centro de Investigación y Estudios Superiores en Antropología Social. Pp. 260.
- Zimmerman, R., Mi-Youn, A. 2011. Organo-Mineral–Enzyme Interaction and Soil Enzyme Activity. Chapter 15. *Soil Enzymology, Soil Biology* 22. pringer-Verlag Berlin Heidelberg 2.
- Zhang, C., Li, Z., Yang, W., Pan, L., Gu, M., & Lee, D. 2013. Assessment of Metals Pollution on Agricultural Soil Surrounding a Lead-Zinc Mining Area in the Karst Region of Guangxi, China. *Bulletin Of Environmental Contamination & Toxicology*, 90(6), 736-741.

## 11. ANEXO 1

### DESHIDROGENASA

Metodo Benefield et al., 1977; von Mersi and Schinner, 1991; von Mersi, 1996; and Shaw and Burns, 2006.

**Nota: El suelo debe ser analizado en fresco lo antes posible después de la colecta, mantenerse refrigerado a 4°C.**

### MATERIALES Y METODOLOGIA

- Baño de ultrasónico.
- Agitador.
- Matraz de 50 mL (50 unidades).
- Matraz Volumétrico aforado (2 de 100 mililitros, 3 de un litro).
- Vaso de Precipitado (3 de 50 mililitros, 3 de 100 mililitros y 2 de 1 litro).
- Pipetas (1 mL, 5 mL, 10 mL).
- Balanza analítica.
- Espectrofotómetro
- Celdillas

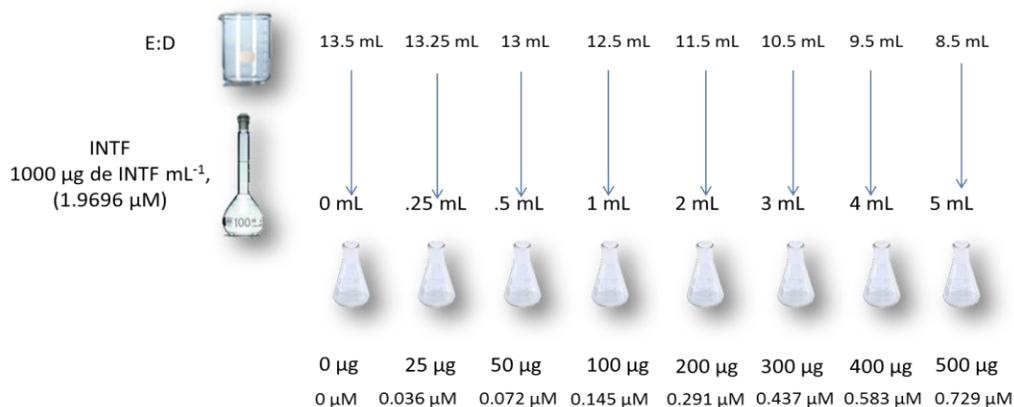
#### *Preparación de la curva de calibración*

#### *Reactivos*

Estándar stock 100  $\mu\text{g}$  de INTF  $\text{mL}^{-1}$ , (1.9696  $\mu\text{M}$ ): Pesar 10 mg de iodonitrotetrazolium formazan ( $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{IN}_5\text{O}_2$ ) disolver en 80 mL de Etanol:Dimetilformamida en un matraz aforado y completar a 100 mL (Nota: Para preparar el INTF de la curva se necesita tener un ambiente oscuro o cubrir el matraz para aforar y los matraz de 50 mL con papel aluminio para evitar el contacto con la luz).

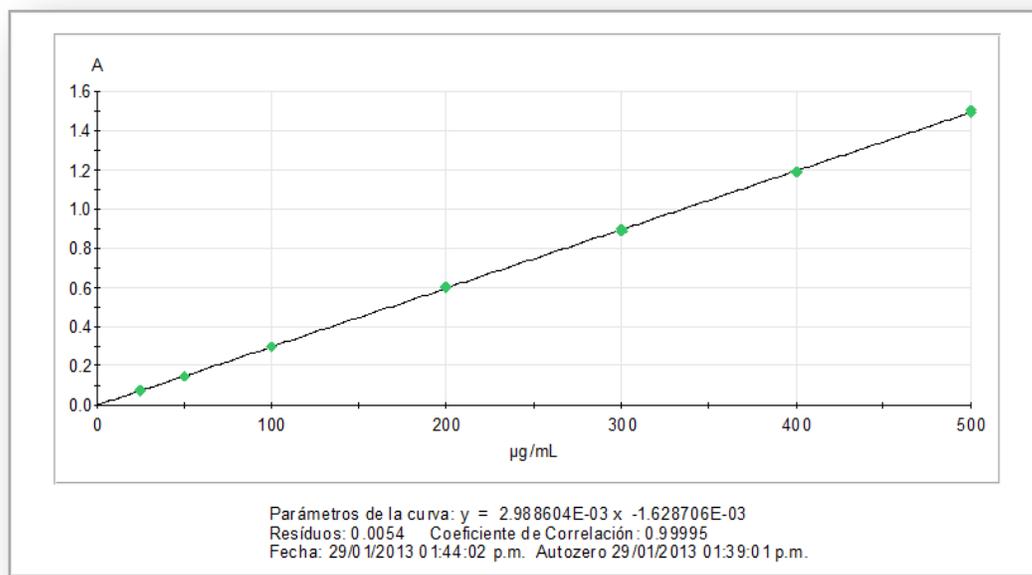
Pipetear volúmenes de 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL del estándar stock de INTF en matraz de 50 mL. Completar el volumen hasta 13.5 mL con Etanol:Dimetilformamida. Estos

volúmenes corresponden a la concentración de 0, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500 µg y 0, 0.036, 0.072, 0.145, 0.291, 0.437, 0.583, 0.729 µM de INTF, en 13.5 mL de solución. Tomar 3 mL de cada estándar colocarlos en una celdilla de cuarzo y leer la absorbancia a una longitud de onda de 464nm.



**Figura 1. Metodología para la preparación de la curva de calibración de la deshidrogenasa.**

Al realizar en el laboratorio la curva de calibración para la actividad enzimática de la deshidrogenasa y utilizando una longitud de onda de 464 nm obtuvimos una recta de 5 puntos con un coeficiente de correlación de 0.9999 (Figura 2).



**Figura 2. Curva de calibración de la deshidrogenasa.**

En el cuadro 1 se pueden observar las concentraciones de cada uno de los estándares utilizados para la realización de la curva de calibración (Figura2), así como las absorbancias obtenidas en cada uno de los puntos la curva se realizó por duplicado.

**Cuadro 1 Estándares utilizados para realizar la curva de calibración.**

N°	Concentración [µg/mL]	Ordenadas [A]
1	25.00	0.071
2	25.00	0.075
3	50.00	0.147
4	50.00	0.148
5	100.00	0.299
6	100.00	0.295
7	200.00	0.603
8	200.00	0.598
9	300.00	0.889
10	300.00	0.896
11	400.00	1.183
12	400.00	1.195
13	500.00	1.489
14	500.00	1.504

**Preparación de las muestras**

**Reactivos**

- INT 0.5%: Pesar 0.25gr de INT en 45mL de agua desionizada en un matraz para aforar de 50mL de color ámbar, utilizar el baño de ultrasonidos durante 10 min para disolver y completar a 50 ml (Para disolver el INT se necesita colocar la solución en el baño de ultrasonidos durante 10 min).
- Etanol:Dimetilformamida: Preparar una dilución 1:1 mezclando 50 mL de Etanol y 50 mL de Dimetilformamida.
- Tris-HCL, pH 7.5: Disolver 121.14 g de Tris-hidroximetil-aminometano en, aproximadamente, 800 mL de agua destilada. Llevar el pH a 7.5 con HCL aproximadamente 6 M y enrasar a 1000 mL.

Esterilizar 50 g de la muestra de suelo en la autoclave durante 30 min a 120°C tomar 1 gr del suelo estéril para preparar el blanco o control y para procesar las muestras tomar un 1 gr de suelo fresco sin esterilizar. Añadir 1.5 mL de tampón Tris-HCL 1M pH 7.5. Después adicionar 2 mL de solución de INT solo a las muestras y al blanco se le adicionan 2 mL de agua desionizada. Posteriormente se somete a incubación durante 1 h a 40°C. Después de la incubación se le adicionan 10 mL de solución extractante (Etanol:Dimetilformamida) se agita vigorosamente, se deja reposar en oscuridad durante 10 minutos a temperatura ambiente y a continuación se filtra o se centrifuga. Se lee en un espectrofotómetro a 464 nm (Figura 3).

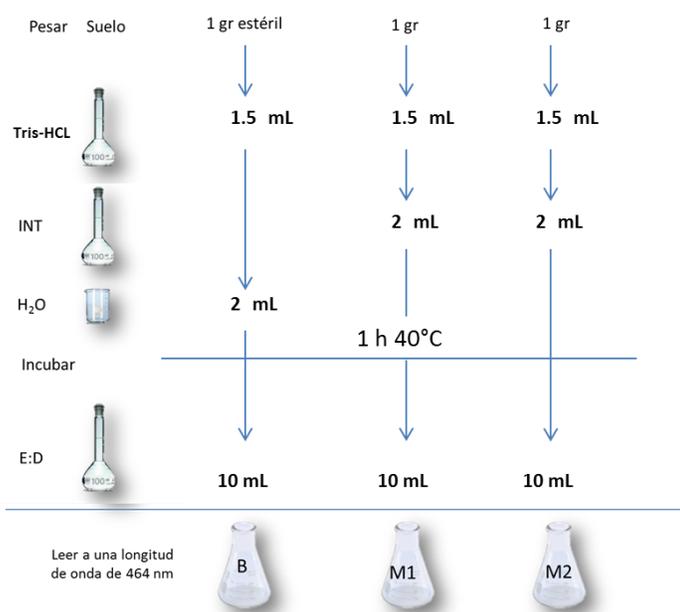


Figura 3. Metodología para el procesamiento de muestras de suelo.

## CALCULOS

La actividad de la deshidrogenasa es expresada en  $\mu\text{g}$  de INTF  $\text{g}^{-1}$  suelo seco  $\text{h}^{-1}$ . Usando la curva de calibración. La actividad se calcula en base a la ecuación de la recta de la siguiente manera:

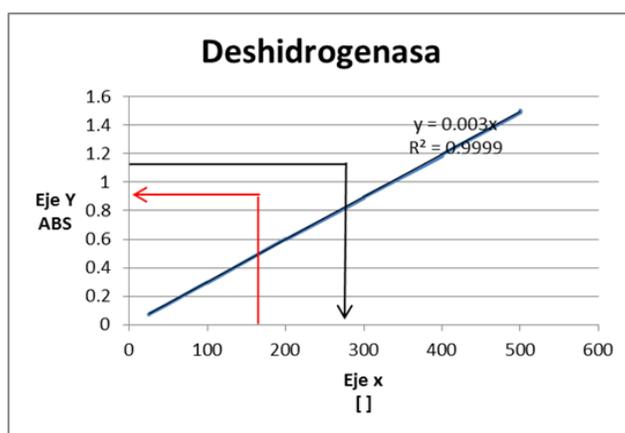
$$y = mx + b$$

**x, y:** son variables en un plano.

**m:** "pendiente de la recta" y está relacionada con la inclinación que toma la recta respecto a un par de ejes que definen el plano.

**b:** "término independiente" u "ordenada al origen" y es el valor del punto en el cual la recta corta al eje vertical en el plano.

Al realizar la curva de calibración a partir de las concentraciones conocidas se obtuvo una absorbancia, como se muestra en la siguiente gráfica el eje de las X respecto al eje de las Y (Figura 4):



**Figura 4. Interpolado de las absorbancias obtenidas.**

Para obtener la concentración de las muestras a partir de la absorbancia dada en cada muestra. Utilizamos la curva de calibración introduciendo las absorbancias para obtener la concentración de acuerdo al rango que se introdujo en la curva.

Para esto se utiliza la siguiente **formula**:

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Una vez obtenida la concentración de cada una de las muestras se utiliza la fórmula para obtener la actividad de la deshidrogenasa ( $\mu\text{g INTF g}^{-1}\text{h}^{-1}$ ) de la siguiente manera:

$$\text{Deshidrogenasa actividad} = \frac{(S - C)}{(1 * DM)}$$

S=Cantidad de INTF  $\mu\text{g}$  de las muestras.

C=Concentración de INTF  $\mu\text{g}$  estéril control.

DM=Suelo pesado seco en cada muestra 1 g.

Para obtener los resultados de cuantificación de deshidrogenasa en unidades de  $\mu\text{mol}$ .

AE=  $\mu\text{mol INTF g}^{-1}\text{h}^{-1}$

$$\text{AE Deshidrogenasa} = \frac{(S)}{(1 * DM * PM)}$$

PM= masa molecular de la deshidrogenasa en este caso es de (mol/g).

## UREASA

Ureasa Determinación Colorimétrica de Amonio Método (Kandeler and Gerber, 1988).

**Nota: El suelo debe ser analizado en fresco lo antes posible después de la colecta, mantenerse refrigerado a 4°C.**

## MATERIALES Y METODOLOGIA

- Baño de ultrasonidos.
- Agitador.
- Matraz de 50 mL (50).
- Matraz Volumétrico aforado (100,500,1000 y 2000 mL).
- Vaso de Precipitado (100,200, 250, 500, 1000 y 2000 mL).
- Pipetas (1mL, 2mL, 5mL y 10 mL).
- Balanza analítica.
- Espectrofotómetro
- Celdillas

### *Preparación de la curva de calibración*

#### *Reactivos*

- Cloruro de Amonio stock, solución para realizar la curva de calibración, teniendo una concentración de  $1000 \mu\text{g NH}_4\text{-N mL}^{-1}$  (0.07142 mM): Disolver 3.8207 g de cloruro de amonio en agua y se afora a 1L con agua. Se puede conservar esta solución a 4°C.

Estándares de Cloruro de Amonio: Para preparar los estándares de amonio se pipetea volúmenes de 0, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5 mL en matraz aforado de 100 mL completar el volumen con KCL (2M)-HCL (0.01 M). Los estándares tendrán una concentración de 0, 10, 15, 20, 25  $\mu\text{g}$  y 0, 0.7142, 1.071, 2.142, 5.356  $\mu\text{M NH}_4\text{-N mL}^{-1}$ .

Se toma 1 mL de cada uno de los estándares y se les añade 9 mL de agua desionizada teniendo una concentración final de: 0, 1, 1.5, 2, 2.5  $\mu\text{g}$  y 0, 0.071, 0.107, 0.214, 0.535  $\mu\text{M}$ .

Para la generación de color en los estándares se les adiciona a cada uno 5 mL de sodium salicylatesodium hydroxide y 2 mL de sodium dichloroisocyanurate (Nota: Después de la coloración es estable durante 8 horas). Después se agitan las muestras por pocos segundos y se dejan reposar durante 30 min a temperatura ambiente posteriormente se lee la absorbancia a 660 nm en el espectrofotómetro (Figura 5).

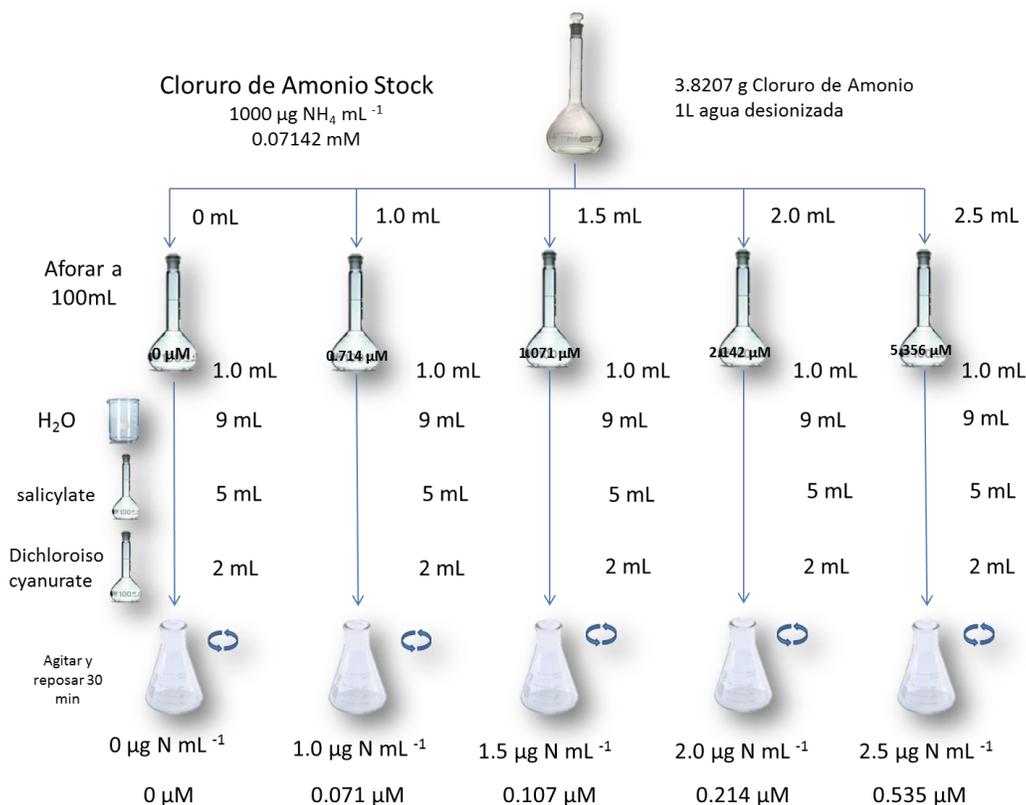
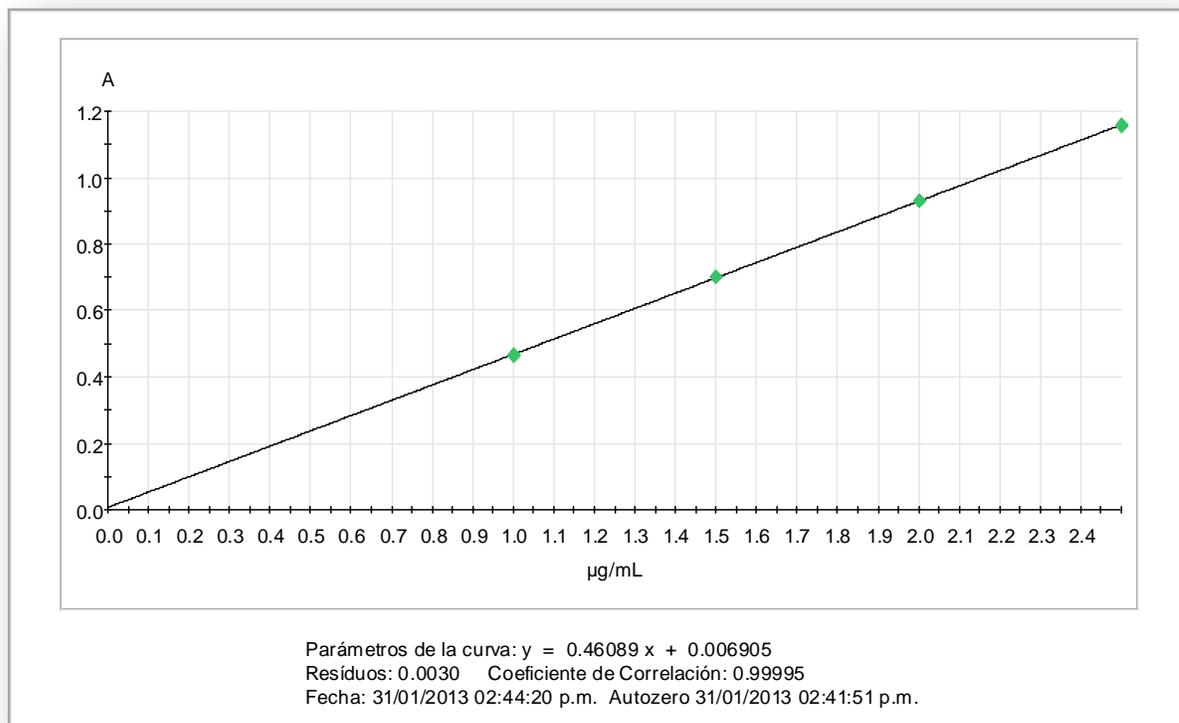


Figura 5. Metodología para preparar la curva de calibración de la Ureasa

Al realizar en el laboratorio la curva de calibración para la actividad enzimática de la ureasa y utilizando una longitud de onda de 660 nm obtuvimos una recta de 4 puntos con un coeficiente de correlación de 0.9999 (Figura 6).



**Figura 6. Curva de calibración de la ureasa.**

En el cuadro 2 se pueden observar las concentraciones de cada uno de los estándares utilizados para la realización de la curva de calibración (Figura 6), así como las absorbancias obtenidas en cada uno de los puntos la curva se realizó por duplicado.

**Cuadro 2. Estándares utilizados para realizar la curva de calibración.**

N°	Concentración [µg/mL]	Ordenadas [A]
1	1.00	0.469
2	1.00	0.463
3	1.50	0.699
4	1.50	0.701
5	2.00	0.931
6	2.00	0.930
7	2.50	1.160
8	2.50	1.155

### *Preparación de las muestras*

#### *Reactivos*

- Solución de Urea, (720 mM): Disolver 21.6 g de urea en agua y aforar a 500 mL con agua, esta solución se debe preparar diariamente.
- Solución de NaOH (0.3 M): Disolver 12 g de NaOH en 500 mL de agua y aforar a 1L.
- Solución salicylate sodium (1.06 M): Disolver 17g de sodium salicylate y 120 mg de sodium nitroprusside en agua y aforar a 100 mL. Esta solución se debe de preparar en el momento del ensayo.
- Sodium salicylate-sodium hydroxide solución: se mezclan 50 mL de sodium salicylate y 50 mL de sodium hydroxide.
- Solución sodium dichloroisocyanurate (3.91 Mm): Disolver 0.1 g de dichloroisocyanurate en agua y aforara a 100 mL con agua. Preparar la solución en el momento de usarse.

- Disolución de KCL 1M acidulada: disolver 75.6 gr de KCL en agua destilada, añadir 10 ml de HCL 1M y enrazar a 1000 ml.

Para preparar el blanco se esteriliza el suelo previamente se pesan 1 g. Se le adicionan 1.5 mL de agua desionizada y se incuba 2 h a 37°C. El amonio liberado en la incubación es extraído añadiendo tras el tiempo de incubación 13.5 mL de potassium chloride (2M) hydrochloric acid (0.01 M) solución. Agitar durante 30 min a 120 oscilaciones por min, después colocar en tubos de ensaye y centrifugar a 2000 rpm. Seguir la metodología de determinación de amonio que se indica en las muestras.

Pesar 1 g de suelo en un matraz de 50 mL, se le añaden 2.5 mL de solución de Urea. Tapar con parafilm los matraz e incubar 2 h a 37°C, adicionar 13.5 mL de potassium chloride (2M) hydrochloric acid (0.01 M) solución. Agitar durante 30 min a 120 oscilaciones por min, después colocar en tubos de ensaye y centrifugar a 2000 rpm.

Para la determinación de amonio, pipetear 1 mL del sobrenadante de los tubos centrifugados adicionar 9 mL de agua desionizada, para la generación de color en las muestras y blanco se les adiciona a cada uno 5 mL de sodium salicylatesodium hydroxide y 2 mL de sodium dichloroisocyanurate (Nota: Después de la coloración es estable durante 8 horas). Después se agitan las muestras por pocos segundos y se dejan reposar durante 30 min a temperatura ambiente posteriormente se lee la absorbancia a 660 nm en el espectrofotómetro (Figura 7).

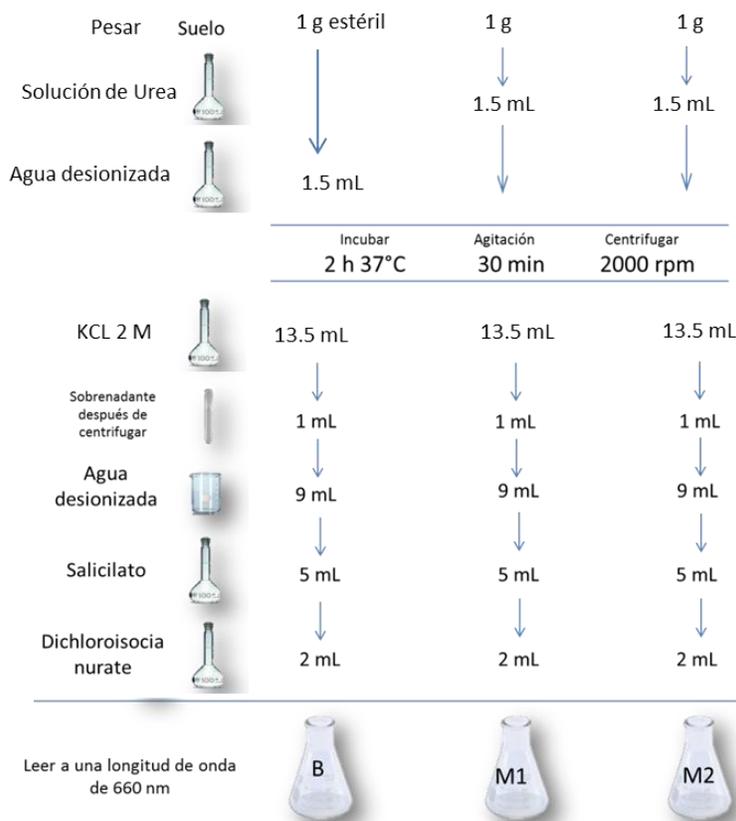


Figura 7. Metodologías para el procesamiento de las muestras de suelo.

## CALCULOS

La actividad de la ureasa es expresada en  $\mu\text{g}$  de  $\mu\text{mol NH}_4\text{-N g}^{-1} 2 \text{ h}^{-1}$ . La actividad se calcula en base a la ecuación de la recta de la siguiente manera:

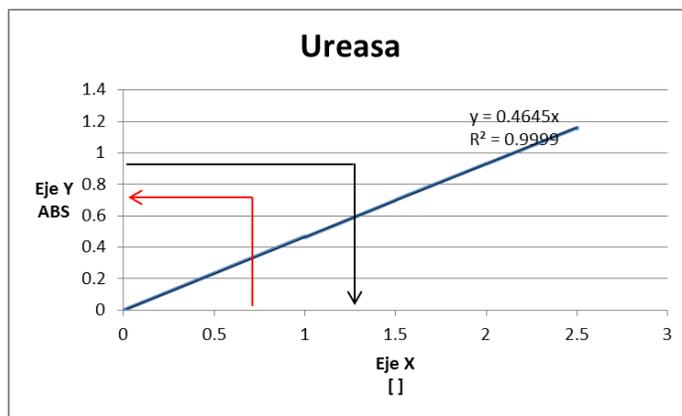
$$y = mx + b$$

**x, y:** son variables en un plano.

**m:** "pendiente de la recta" y está relacionada con la inclinación que toma la recta respecto a un par de ejes que definen el plano.

**b:** "término independiente" u "ordenada al origen" y es el valor del punto en el cual la recta corta al eje vertical en el plano.

Al realizar la curva de calibración a partir de las concentraciones conocidas se obtuvo una absorbancia, como se muestra en la siguiente gráfica el eje de las X respecto al eje de las Y (Figura 8):



**Figura 8. Interpolado de las absorbancias obtenidas.**

Para obtener la concentración de las muestras a partir de la absorbancia dada en cada muestra, Utilizamos la curva de calibración introduciendo las absorbancias para obtener la concentración de acuerdo al rango que se introdujo en la curva.

Para esto se utiliza la siguiente formula:

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Una vez obtenida la concentración de cada una de las muestras se utiliza la fórmula para obtener la actividad de la Ureasa ( $\mu\text{g NH}_4\text{-N g}^{-1} 2 \text{ h}^{-1}$ ) de la siguiente manera:

$$\text{Actividad de Ureasa} = \frac{(S - B) * D * D'}{G}$$

S=Cantidad de  $\text{NH}_4\text{-N}$  en las muestras.

D=Factor relativo de dilución (10).

$D'$ =Volumen del extractante (2.5 mL).

$G$ =Factor relativo de cantidad de suelo pesado (1 g).

Para obtener los resultados de cuantificación de Ureasa en unidades de  $\mu\text{mol}$ .

$AE = \mu\text{mol NH}_4\text{-N g}^{-1} 2 \text{ h}^{-1}$

$$AE \text{ Ureasa} = \frac{(S - B) * D * D'}{G * PM}$$

$PM$ = masa molecular de la Ureasa en este caso es de (mol/g).

## GLUCOSIDASA Y GALACTOSIDASA

Determinación de la actividad de glucosidasas en suelo según el método de Eivazi y Tabatabai (1988).

**Nota: El suelo debe ser analizado en seco lo antes posible después de la colecta, mantenerse refrigerado a 4°C.**

### MATERIALES Y METODOLOGIA

- Baño de ultrasonidos.
- Agitador.
- Matraz de 50 mL (50).
- Matraz Volumétrico aforado (100,500,1000 y 2000 mL).
- Vaso de Precipitado (100,200, 250, 500, 1000 y 2000 mL).
- Pipetas (1mL, 2mL, 5mL y 10 mL).
- Balanza analítica.
- Espectrofotómetro
- Celdillas

### *Preparación de la curva de calibración*

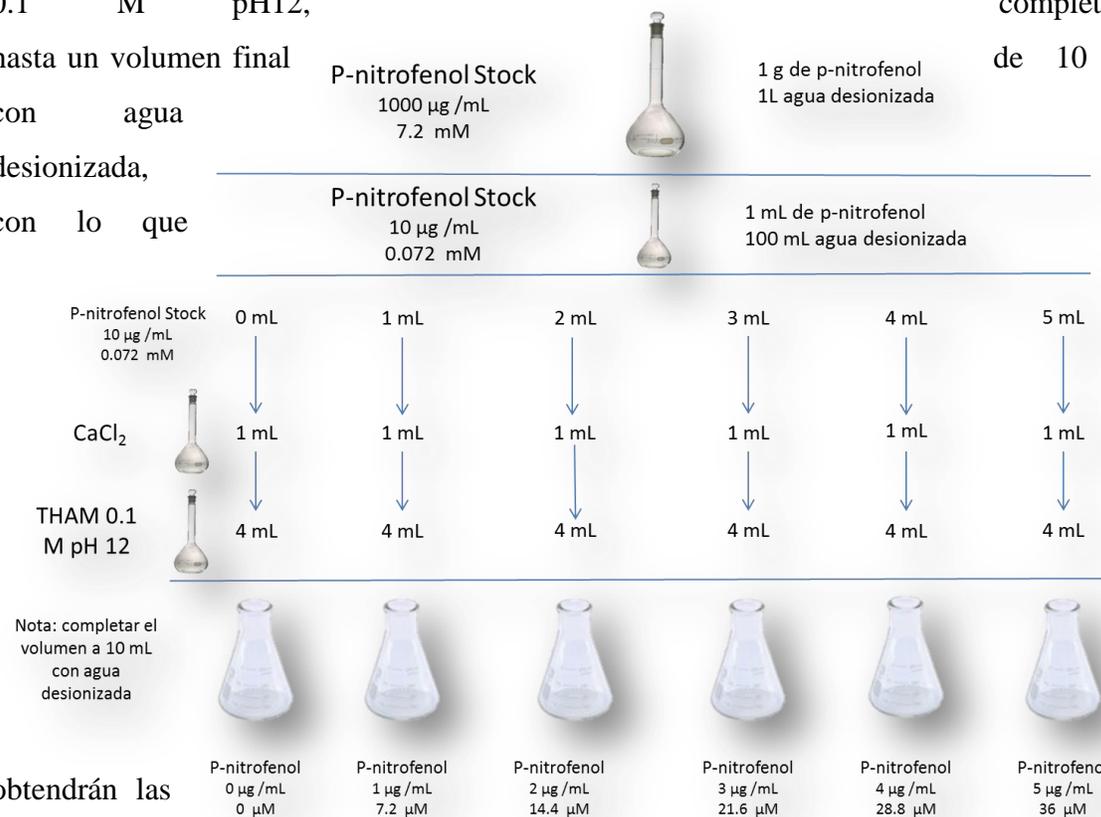
#### *Reactivos*

- Disolución patrón de p-nitrofenol (10 mM): Disolver 1.391 gr de p-nitrofenol en 1000 mL de agua desionizada. Almacenar en oscuridad a 4°C.
- Cloruro de Calcio (CaCl<sub>2</sub>)(0.5M): Disolver 73.5 g de cloruro de calcio en agua y aforar a 1L.
- Tampón THAM (0.1 M), pH 12: Disolver 12.1 g de Tris-Hidroximetilaminometano en 800 mL de agua desionizada, ajustar el pH a 12 con NaOH (0.5 M) aforar a 1L con agua desionizada.

Para preparar la curva de calibración, se realiza una disolución 1:100 con la solución patrón de p-nitrofenol, se toma 1 mL de la solución patrón y se coloca en un matraz para aforar de 100 mL, se afora con agua desionizada, después se pipetea distintas alícuotas en un rango de 0, 1, 2, 3, 4, y 5 mL en matraz de 50 mL y completar a 50 mL con agua desionizada, posteriormente se le adiciona 1 mL de cloruro de calcio 0.5 M y 4 mL de tampón THAM

0.1 M pH12, completando hasta un volumen final de 10 mL con agua desionizada,

con lo que

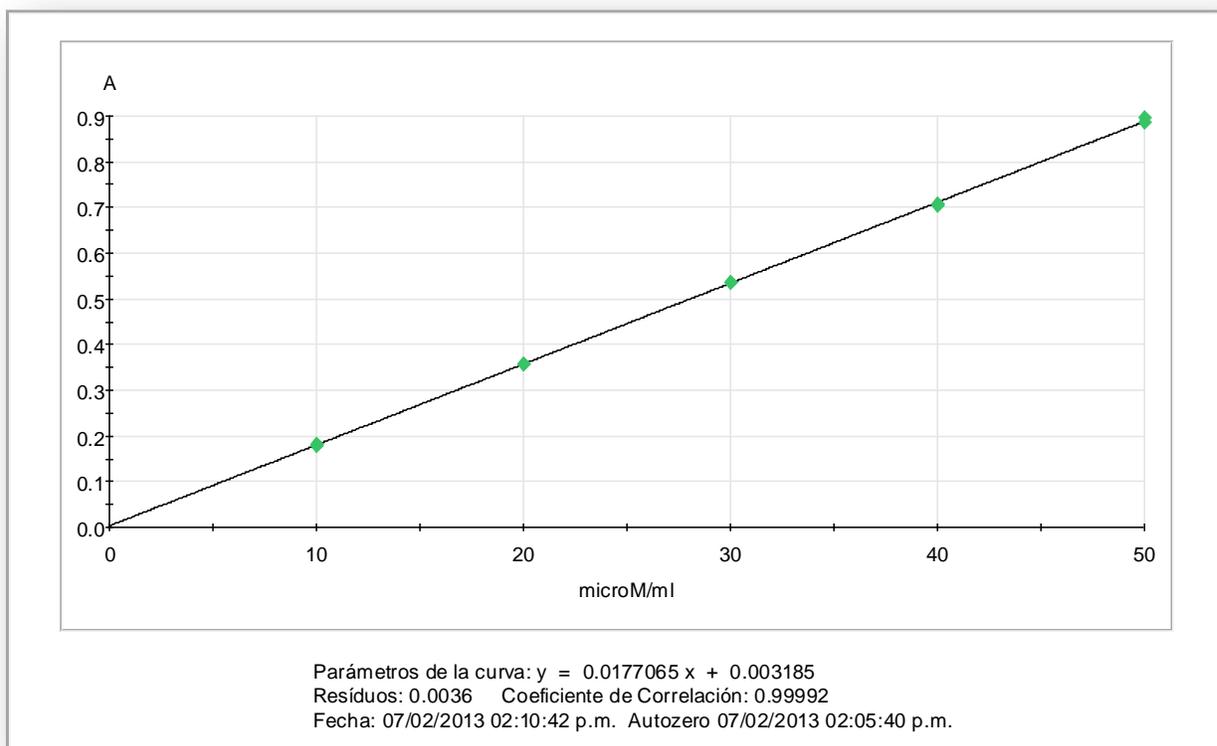


obtendrán las siguientes

concentraciones de p-nitrofenol: 0, 100, 200, 300, 400 y 500 µmol (Figura 9).

**Figura 9. Metodología para preparar la curva de calibración de la glucosidasa y galactosidasa.**

Al realizar en el laboratorio la curva de calibración para la actividad enzimática de la ureasa y utilizando una longitud de onda de 405 nm obtuvimos una recta de 5 puntos con un coeficiente de correlación de 0.9999 (Figura 10).



**Figura 10. Curva de calibración de la glucosidasa y galactosidasa.**

En el cuadro 3 se pueden observar las concentraciones de cada uno de los estándares utilizados para la realización de la curva de calibración (Figura 10), así como las absorbancias obtenidas en cada uno de los puntos la curva se realizó por duplicado.

**Cuadro 3. Estándares utilizados para realizar la curva de calibración.**

N°	Concentración [µg/mL]	Ordenadas [A]
1	10.00	0.181
2	10.00	0.178
3	20.00	0.358
4	20.00	0.358
5	30.00	0.536
6	30.00	0.536
7	40.00	0.706
8	40.00	0.709
9	50.00	0.895
10	50.00	0.885

***Preparación de las muestras***

***Reactivos***

- Tampón MUB, pH 6: Disolver 2.42 g de Tris-hidroximetil-aminometano, 2.32 g de ácido málico, 2.8 g de ácido cítrico y 1.26 g de ácido bórico en 100 mL NaOH 1M y diluir hasta 200 mL con agua destilada; ajustar el pH a 6 con HCL 0.1 M y entonces, diluir con agua desionizada.
- Tolueno.
- Cloruro de Calcio (CaCl<sub>2</sub>) (0.5M): Disolver 73.5 g de cloruro de calcio en agua y aforar a 1L.
- Tampón THAM (0.1 M), pH 12: Disolver 12.2 g de Tris-Hidroximetilaminometano en 800 mL de agua desionizada, ajustar el pH a 12 con NaOH (0.5 M) aforar a 1L con agua desionizada.
- P-nitrofenol-β-D-galactopiranosido y P-nitrofenol-β-D-glucopiranosido (25 mM): Disolver 0.377 g del compuesto en 50 mL de tampón MUB pH 6.

Pesar 1 g de suelo en matraz de 50 mL al que se le añaden 0.2 mL de tolueno, 4 mL de tampón MUB de pH 6 y 1 mL de la disolución (25 mM) de p-nitrofenil-β-D-galactopiranosido. Se agitan durante pocos segundos para permitir la mezcla homogénea de los distintos reactivos con el suelo y se incuban a 37°C durante 1 hora.

Transcurrido este tiempo se añaden en el siguiente orden: 1 mL de CaCl<sub>2</sub> (0.5 M), se agita, y a continuación 4 mL de tampón THAM (0.1 M) pH 12. Después de mezclar agitando, se centrifuga la muestra a 2000 rpm durante 10 min y a continuación se mide la absorbancia a 400 nm.

Paralelamente se incuban muestras control preparadas según el procedimiento anterior, modificando solo a la hora de agregar el sustrato en este caso se agrega el sustrato después de adicionar el CaCl<sub>2</sub> y el tampón THAM al suelo incubado (Figura 11).

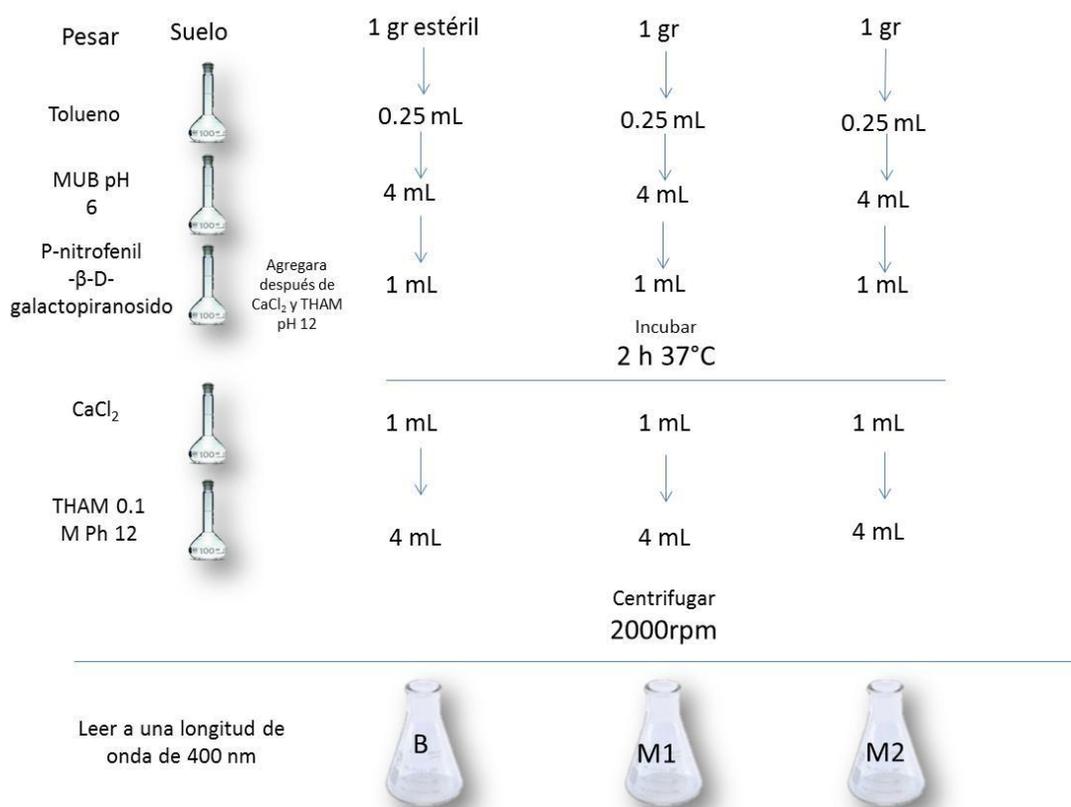


Figura 11. Metodologías para el procesamiento de las muestras de suelo.

## CALCULOS

La actividad de la glucosidasa y galactosidasa es expresada en  $\mu\text{g}$  de *p*-nitrofenol  $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ . La actividad se calcula en base a la ecuación de la recta de la siguiente manera:

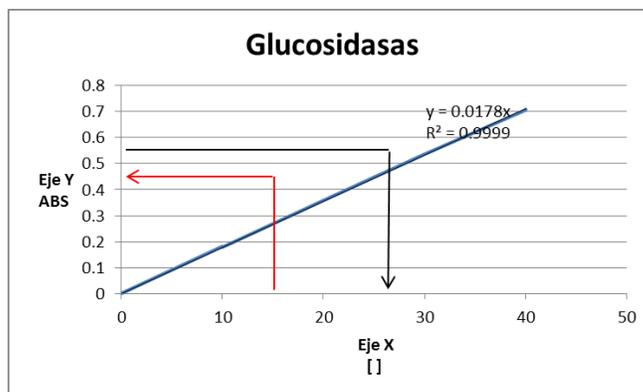
$$y = mx + b$$

**x, y=** son variables en un plano.

**m:** "pendiente de la recta" y está relacionada con la inclinación que toma la recta respecto a un par de ejes que definen el plano.

**b:** "término independiente" u "ordenada al origen" y es el valor del punto en el cual la recta corta al eje vertical en el plano.

Al realizar la curva de calibración a partir de las concentraciones conocidas se obtuvo una absorbancia, como se muestra en la siguiente gráfica el eje de las X respecto al eje de las Y (Figura 12):



**Figura 12. Interpolado de las absorbancias obtenidas.**

Para obtener la concentración de las muestras a partir de la absorbancia dada en cada muestra, Utilizamos la curva de calibración introduciendo las absorbancias para obtener la concentración de acuerdo al rango que se introdujo en la curva.

Para esto se utiliza la siguiente formula:

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Una vez obtenida la concentración de cada una de las muestras se utiliza la fórmula para obtener la actividad de la Glucosidasas ( $\mu\text{moles } p\text{-nitrofenol } \text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) de la siguiente manera:

$$\textit{Actividad de las glucosidasas} = \frac{(S) * D}{G * T}$$

S= Concentración ( $\mu\text{moles mL}^{-1}$ ) de p-nitrofenol en los filtrados de las muestras de suelo obtenidas a partir de la recta patrón.

D=Factor relativo al total del volumen del líquido en mL generado por la incubación y extracción del producto de reacción en este caso 10 mL.

G=Factor relativo al peso de suelo seco utilizado en la incubación en este caso 1 g.

T=Factor relativo al tiempo de incubación expresado en horas en este caso 1 hora.

Para obtener los resultados de cuantificación de glucosidasas en unidades de  $\mu\text{mol}$ .

AE=mM *p*-nitrofenol  $\text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$

$$\textit{AE Glucosidasas} = \frac{(S) * D}{G * T * PM}$$

PM= masa molecular de la Glucosidasas en este caso es de (mol/g).

## ARILSULFATASA

(Tabatabai and Bremner, 1970a)

**Nota:** El suelo debe ser analizado en fresco lo antes posible después de la colecta, mantenerse refrigerado a 4°C.

### MATERIALES Y METODOLOGIA

- Baño de ultrasonidos.
- Agitador.
- Matraz de 50 mL (50 unidades).
- Matraz Volumétrico aforado (100,500 ,1000 y 2000 mL).
- Vaso de Precipitado (100,200, 250, 500, 1000 y 2000 mL).
- Pipetas (1mL, 2mL, 5mL y 10 mL).
- Balanza analítica.
- Espectrofotómetro
- Celdillas

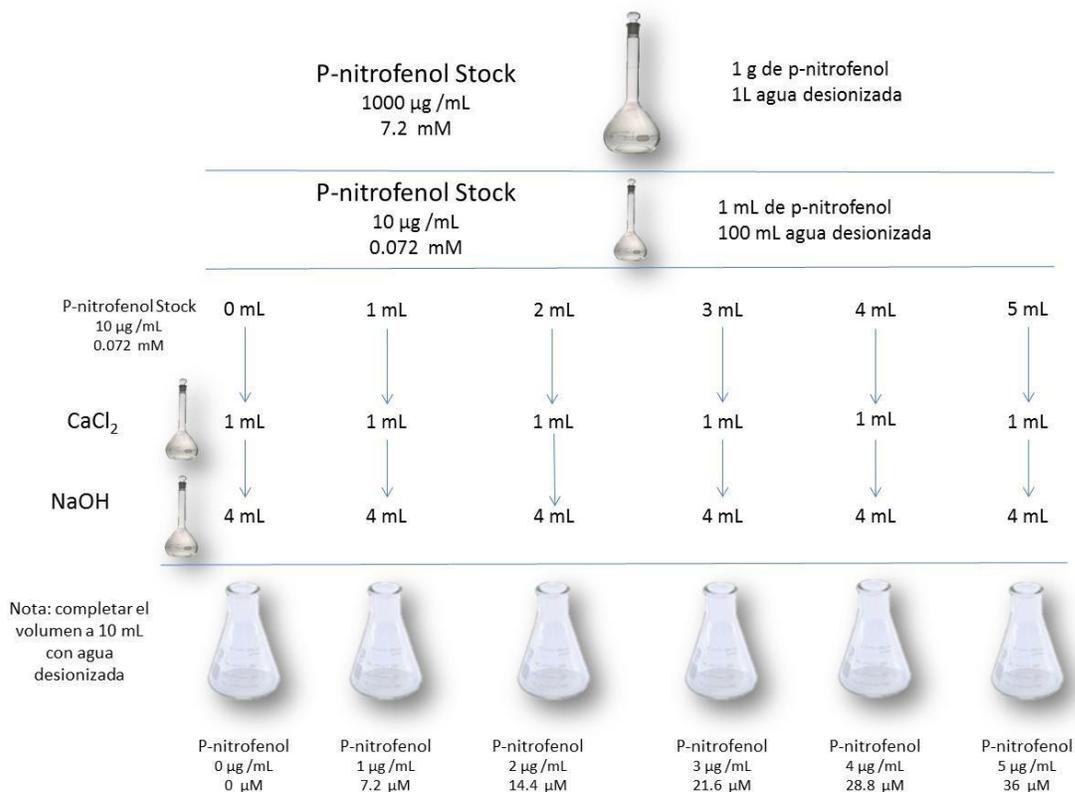
### *Preparación de la curva de calibración*

#### *Reactivos*

- Disolución patrón de p-nitrofenol: Disolver 1 gr de p-nitrofenol en 1000 mL de agua desionizada.
- Cloruro de Calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) (0.5 M): Disolver 73.5 g de cloruro de calcio en agua y aforar a 1L.
- NaOH (0.5 M): Disolver 20 g de NaOH en 700 mL de agua desionizada y aforar a 1000 mL con agua desionizada.

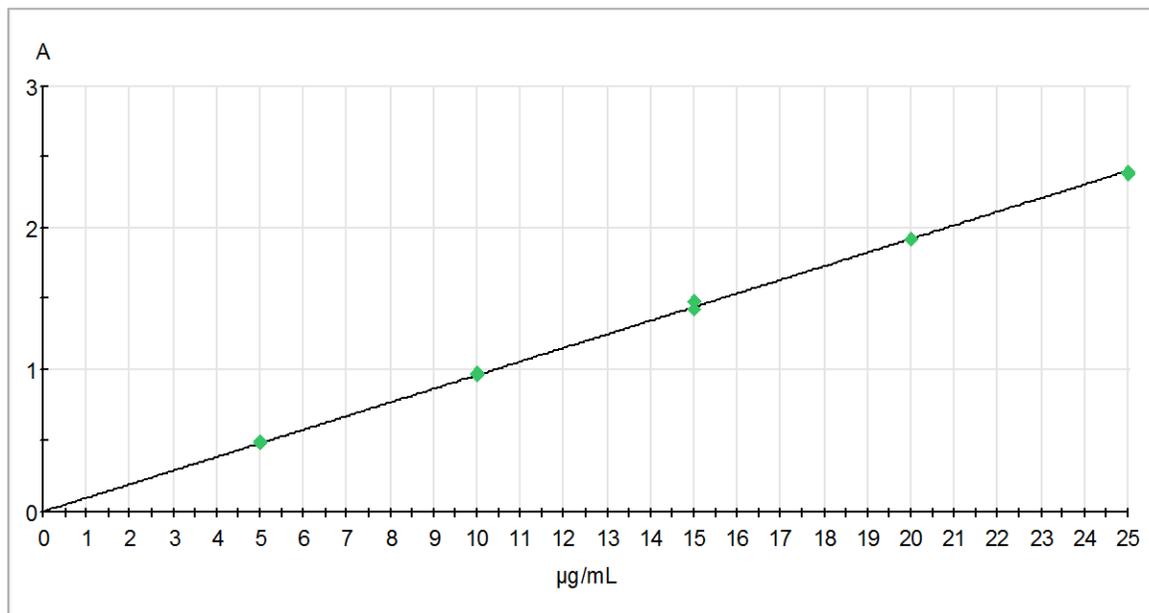
Para preparar la curva de calibración, se realiza una disolución 1:100 con la solución patrón de p-nitrofenol, se toma 1 mL de la solución patrón y se coloca en un matraz para aforar de 100 mL, se afora con agua desionizada, después se pipetea distintas alícuotas en un rango de 0, 1, 2, 3, 4, y 5 mL en matraz de 50 mL, se completa el volumen a 5 mL con agua

desionizada, posteriormente se le adiciona 1 mL de cloruro de calcio 0.5 M y 4 mL de NaOH (0.5 M), con lo que obtendrán las siguientes concentraciones de p-nitrofenol: 0; 7.2; 14.4; 21.6; 28.8; 36  $\mu\text{M}$  (0; 10; 20; 30; 40; 50 mg) leer a 420 nm (Figura 13).



**Figura 13. Metodología para preparar la curva de calibración de la arilsulfatasa.**

Al realizar en el laboratorio la curva de calibración para la actividad enzimática de la ureasa y utilizando una longitud de onda de 420 nm obtuvimos una recta de 5 puntos con un coeficiente de correlación de 0.999 (Figura 14).



Parámetros de la curva:  $y = 9.610455E-02 x$   
Residuos: 0.0189    Coeficiente de Correlación: 0.99964  
Fecha: 12/02/2013 03:01:38 p.m. Autozero 12/02/2013 02:59:01 p.m.

**Figura 14. Curva de calibración de la arilsulfatasa.**

En el cuadro 4 se pueden observar las concentraciones de cada uno de los estándares utilizados para la realización de la curva de calibración (Figura 14), así como las absorbancias obtenidas en cada uno de los puntos la curva se realizó por duplicado.

**Cuadro 4. Estándares utilizados para realizar la curva de calibración.**

N°	Concentración [µg/mL]	Ordenadas [A]
1	5.00	0.491
2	5.00	0.480
3	10.00	0.983
4	10.00	0.968
5	15.00	1.427
6	15.00	1.484
7	20.00	1.923
8	20.00	1.923
9	25.00	2.392
10	25.00	2.382

### *Preparación de las muestras*

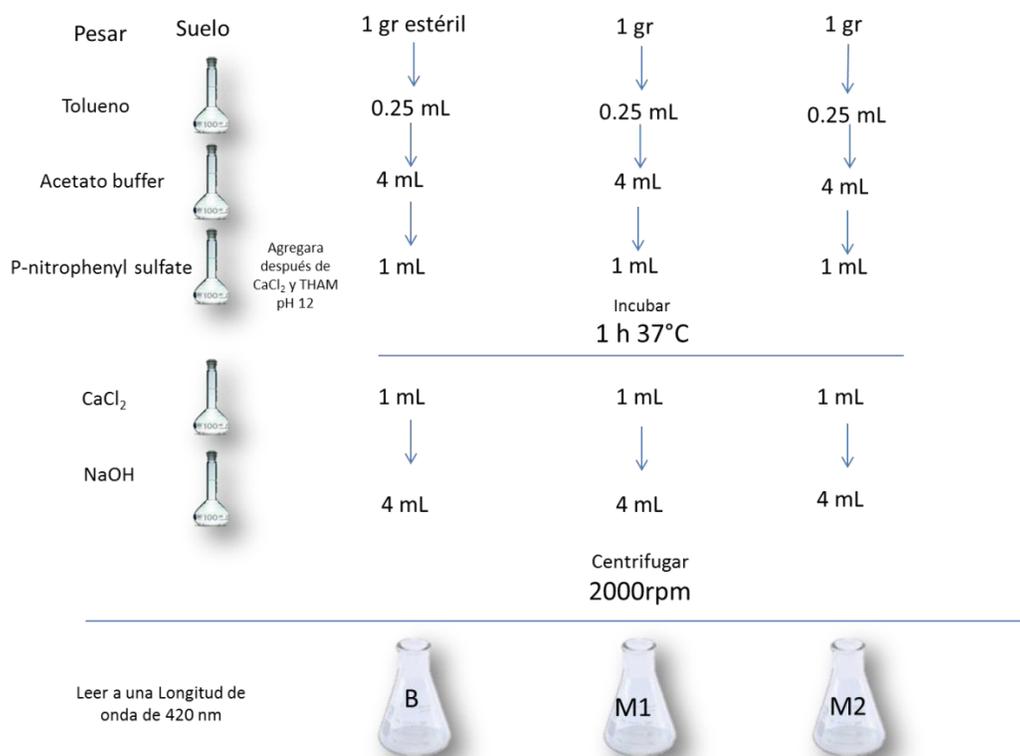
#### *Reactivos*

- Buffer acetato (0.5 M), pH 5.8: Disolver 68 g de sodium acetate trihydrate en 700 mL de agua desionizada y adicionar 1.70 mL de ácido acético glacial (99%) y aforar a 1000 mL con agua desionizada.
- Cloruro de Calcio (CaCl<sub>2</sub>) (0.5 M): Disolver 73.5 g de cloruro de calcio en agua y aforar a 1L.
- Tolueno.
- P-nitrofenil sulfate (0.05 M): Disolver 0.614 g del compuesto en 40 mL de buffer de acetato y aforara a 50 mL con buffer.
- NaOH (0.5 M): Disolver 20 g de NaOH en 700 mL de agua desionizada y aforar a 1000 mL con agua desionizada.

Pesar 1 g de suelo en matraz de 50 mL al que se le añaden 0.25 mL de tolueno, 4 mL de acetato buffer, 1 mL de p-nitrofenil sulfato solución. Se agitan durante pocos segundos para permitir la mezcla homogénea de los distintos reactivos con el suelo y se incuban a 37°C durante 1 hora.

Transcurrido este tiempo se añaden en el siguiente orden: 1 mL de CaCl<sub>2</sub> (0.5 M), se agita, y a continuación 4 mL de NaOH (0.5 M). Después de mezclar agitando, se centrifuga la muestra a 2000 rpm durante 10 min y a continuación se mide la absorbancia a 420 nm.

Paralelamente se incuban muestras control preparadas según el procedimiento anterior, modificando solo a la hora de agregar el sustrato en este caso se agrega el sustrato después de adicionar el CaCl<sub>2</sub> y el NaOH (0.5 M) al suelo incubado (Figura 15).



**Figura 15. Metodologías para el procesamiento de las muestras de suelo.**

## CALCULOS

La actividad de la arilsulfatasa es expresada en  $\mu\text{g}$  de *p*-nitrofenol  $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ . La actividad se calcula en base a la ecuación de la recta de la siguiente manera:

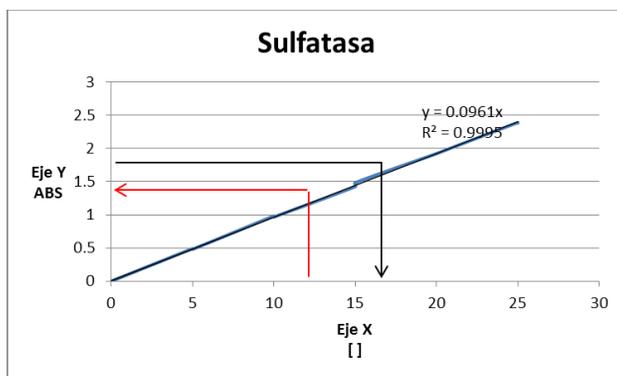
$$y = mx + b$$

**x, y:** son variables en un plano.

**m:** "pendiente de la recta" y está relacionada con la inclinación que toma la recta respecto a un par de ejes que definen el plano.

**b:** "término independiente" u "ordenada al origen" y es el valor del punto en el cual la recta corta al eje vertical en el plano.

Al realizar la curva de calibración a partir de las concentraciones conocidas se obtuvo una absorbancia, como se muestra en la siguiente gráfica el eje de las X respecto al eje de las Y (Figura 16):



**Figura 16. Interpolado de las absorbancias obtenidas.**

Para obtener la concentración de las muestras a partir de la absorbancia dada en cada muestra, Utilizamos la curva de calibración introduciendo las absorbancias para obtener la concentración de acuerdo al rango que se introdujo en la curva.

Para esto se utiliza la siguiente formula:

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Una vez obtenida la concentración de cada una de las muestras se utiliza la fórmula para obtener la actividad de la arilsulfatasa ( $\mu\text{moles } p\text{-nitrofenol } \text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) de la siguiente manera:

$$\textit{Actividad de las Sulfatasa} = \frac{(S) * D}{G * T}$$

S= Concentración ( $\mu\text{moles mL}^{-1}$ ) de p-nitrofenol en los filtrados de las muestras de suelo obtenidas a partir de la recta patrón.

D=Factor relativo al total del volumen del líquido en mL generado por la incubación y extracción del producto de reacción en este caso 10 mL.

D'=Factor relativo al total del volumen de líquido en mL en caso de que la ABS no se pueda cuantificar se diluye la muestra.

G=Factor relativo al peso de suelo seco utilizado en la incubación en este caso 1 g.

T=Factor relativo al tiempo de incubación expresado en horas en este caso 1 hora.

Para obtener los resultados de cuantificación de Sulfatasa en unidades de  $\mu\text{moles}$ .

AE= $\mu\text{M } p\text{-nitrofenol } \text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$

$$\textit{AE Arilsulfatasa} = \frac{(S) * D}{G * T * PM}$$

PM= masa molecular de la Sulfatasa en este caso es de (mol/g).

## FOSFATASA

Tabatabai and Bremner, 1969; Elvazi and Tabatabai, 1977.

**Nota: El suelo debe ser analizado en seco lo antes posible después de la colecta, mantenerse refrigerado a 4°C.**

## MATERIALES Y METODOLOGIA

- Baño de ultrasonidos.
- Agitador.
- Matraz de 50 mL (50).
- Matraz Volumétrico aforado (100,500 ,1000 y 2000 mL).
- Vaso de Precipitado (100,200, 250, 500, 1000 y 2000 mL).
- Pipetas (1mL, 2mL, 5mL y 10 mL).
- Balanza analítica.
- Espectrofotómetro
- Celdillas

### *Preparación de la curva de calibración*

#### *Reactivos*

- Disolución patrón de p-nitrofenol: Disolver 1 gr de p-nitrofenol en 1000 mL de agua desionizada.
- Cloruro de Calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) (0.5 M): Disolver 73.5 g de cloruro de calcio en agua y aforar a 1L.
- NaOH (0.5 M): Disolver 20 g de NaOH en 700 mL de agua desionizada y aforar a 1000 mL con agua desionizada.

Para preparar la curva de calibración, se realiza una disolución 1:100 con la solución patrón de p-nitrofenol, se toma 1 mL de la solución patrón y se coloca en un matraz para aforar de 100 mL, se afora con agua desionizada, después se pipetea distintas alícuotas en un rango de 0, 1, 2, 3, 4, 5 mL en matraz de 50 mL, completando un volumen de 5 mL con agua

desionizada, posteriormente se le adiciona 1 mL de cloruro de calcio (0.5 M) y 4 mL de NaOH (0.5 M), con lo que obtendrán las siguientes concentraciones de p-nitrofenol: 0; 7.2; 14.4; 21.6; 28.8; 36  $\mu\text{M}$  (0; 10; 20; 30; 40; 50  $\mu\text{g}$ ) (Figura 17).

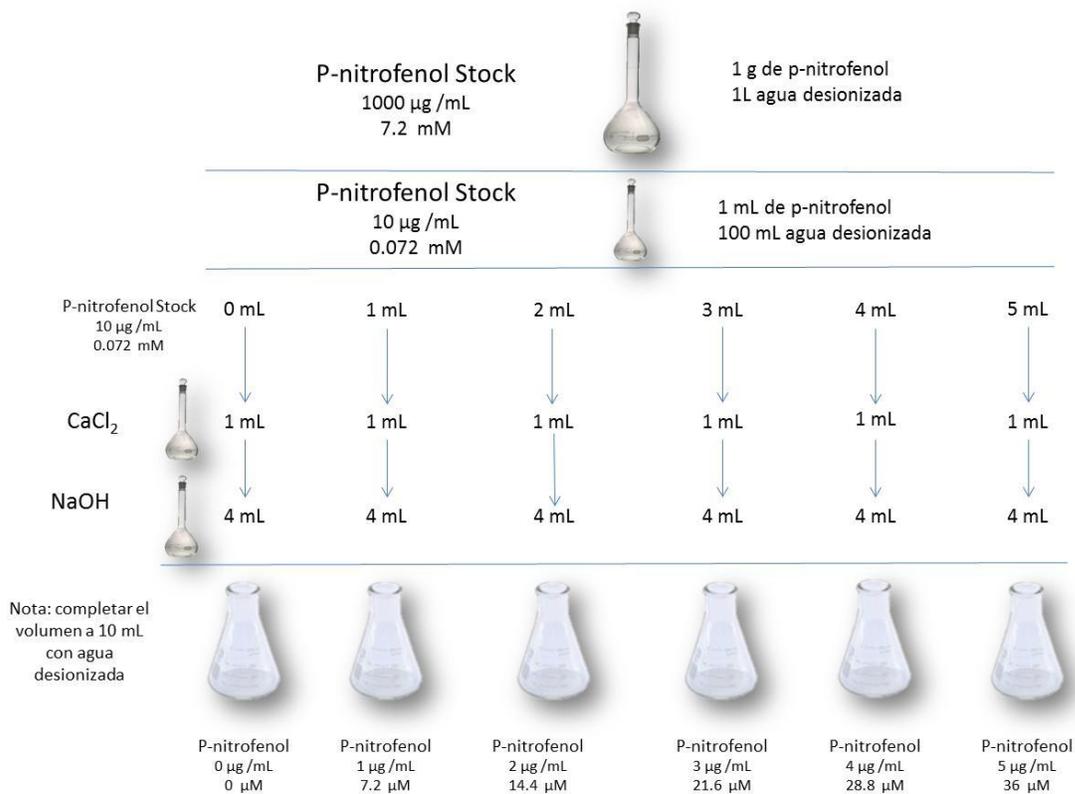
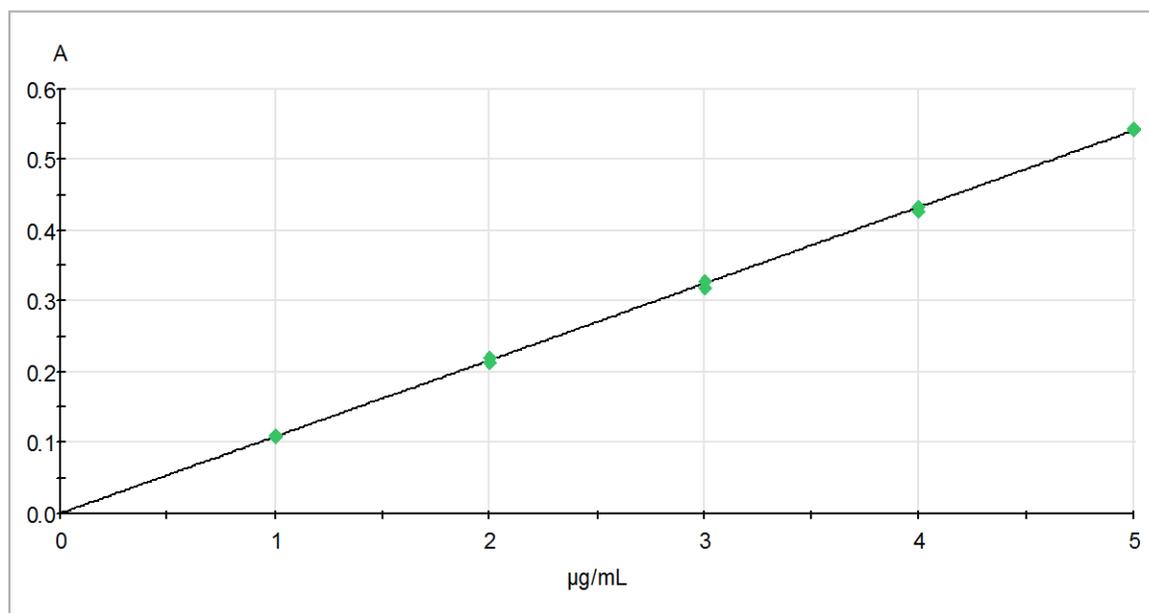


Figura 17. Metodología para preparar la curva de calibración de la fosfatasa.

Al realizar en el laboratorio la curva de calibración para la actividad enzimática de la ureasa y utilizando una longitud de onda de 405 nm obtuvimos una recta de 5 puntos con un coeficiente de correlación de 0.999 (Figura 18).



Parámetros de la curva:  $y = 0.1081973 x$   
Resíduos: 0.0035    Coeficiente de Correlación: 0.99976  
Fecha: 15/02/2013 01:01:08 p.m.    Autozero 15/02/2013 12:56:44 p.m.

**Figura 18. Curva de calibración de la fosfatasa.**

En el cuadro 5 se pueden observar las concentraciones de cada uno de los estándares utilizados para la realización de la curva de calibración (Figura 18), así como las absorbancias obtenidas en cada uno de los puntos la curva se realizó por duplicado.

**Cuadro 5. Estándares utilizados para realizar la curva de calibración.**

Nº	Concentración [µg/mL]	Ordenadas [A]
1	1.00	0.108
2	1.00	0.110
3	2.00	0.214
4	2.00	0.220
5	3.00	0.328
6	3.00	0.319
7	4.00	0.427
8	4.00	0.434
9	5.00	0.542
10	5.00	0.544

### *Preparación de las muestras*

#### *Reactivos*

- Tampón MUB: Disolver 12.1 g de Tris-hidroximetil-aminometano, 11.6 g de ácido málico, 14.0 g de ácido cítrico y 6.3 g de ácido bórico en 488 mL NaOH (1M) y entonces, aforar a 1000 mL con agua desionizada.
- Cloruro de Calcio (CaCl<sub>2</sub>) (0.5 M): Disolver 73.5 g de cloruro de calcio en agua y aforar a 1L.
- Tolueno.
- Buffer universal pH 6.5 y 11: Tomar 200 mL de MUB stock, ajustar el pH a 6.5 con HCL 0.01M y ajustar el volumen a 1 L. Tomar 200 mL de MUB stock y ajustar el pH a 11 usando NaOH (0.1 M) después aforar a 1000 mL.
- P-nitrofenil fosfato (0.05 M): Disolver 0.840 g del compuesto en 40 mL de tampón MUB pH 6.5 o MUB pH 11 y completar a 50 mL con MUB del mismo pH.
- NaOH (0.5 M): Disolver 20 g de NaOH en 700 mL de agua desionizada y aforar a 1000 mL con agua desionizada.

Pesar 1 g de suelo en matraz de 50 mL al que se le añaden 0.2 mL de tolueno, 4 mL de tampón MUB de pH 6.5 para fosfatasa acida o pH 11 para fosfatasa alcalina, 1 mL de p-nitrofenil fosfato solución. Se agitan durante pocos segundos para permitir la mezcla homogénea de los distintos reactivos con el suelo y se incuban a 37°C durante 1 hora.

Transcurrido este tiempo se añaden en el siguiente orden: 1 mL de CaCl<sub>2</sub> (0.5 M), se agita, y a continuación 4 mL de NaOH (0.5 M). Después de mezclar agitando, se centrifuga la muestra a 2000 rpm durante 10 min y a continuación se mide la absorbancia a 405 nm.

Paralelamente se incuban muestras control preparadas según el procedimiento anterior, modificando solo a la hora de agregar el sustrato en este caso se agrega el sustrato después de adicionar el CaCl<sub>2</sub> y el NaOH (0.5 M) al suelo incubado.

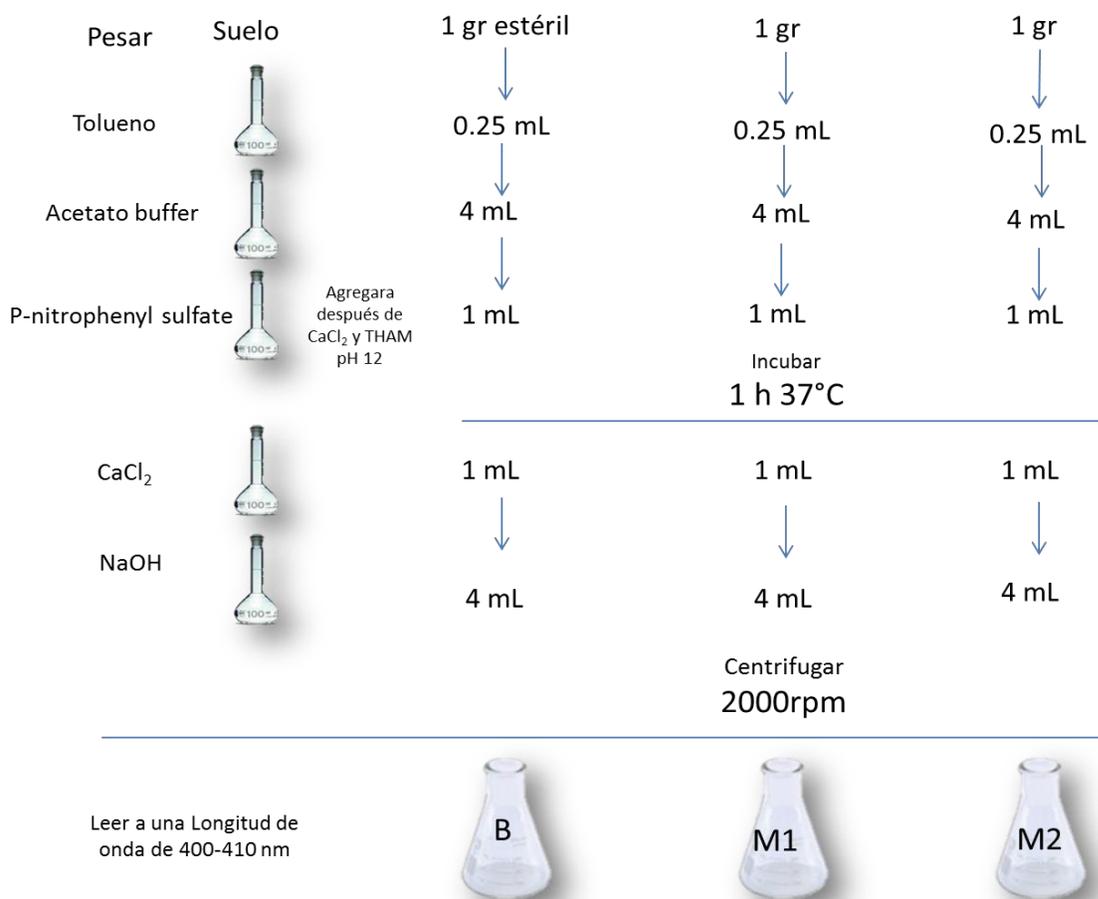


Figura 19. Metodologías para el procesamiento de las muestras de suelo.

## CALCULOS

La actividad de la fosfatasa es expresada en  $\mu\text{g}$  de I *p*-nitrofenol  $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ . La actividad se calcula en base a la ecuación de la recta de la siguiente manera:

$$y = mx + b$$

**x, y:** son variables en un plano.

**m:** "pendiente de la recta" y está relacionada con la inclinación que toma la recta respecto a un par de ejes que definen el plano.

**b:** "término independiente" u "ordenada al origen" y es el valor del punto en el cual la recta corta al eje vertical en el plano.

Al realizar la curva de calibración a partir de las concentraciones conocidas se obtuvo una absorbancia, como se muestra en la siguiente gráfica el eje de las X respecto al eje de las Y (Figura 20):

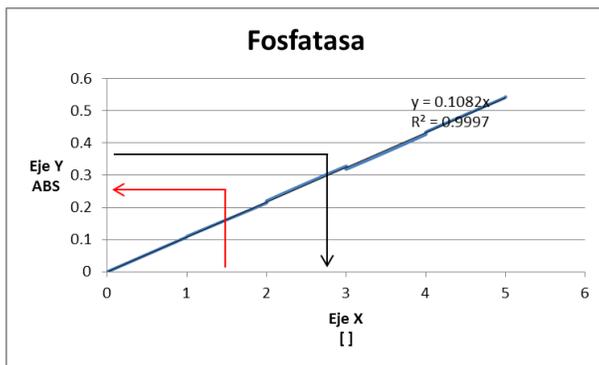


Figura 20. Interpolado de las absorbancias obtenidas.

Para obtener la concentración de las muestras a partir de la absorbancia dada en cada muestra, Utilizamos la curva de calibración introduciendo las absorbancias para obtener la concentración de acuerdo al rango que se introdujo en la curva.

Para esto se utiliza la siguiente formula:

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Una vez obtenida la concentración de cada una de las muestras se utiliza la fórmula para obtener la actividad de la fosfatasa ( $\mu\text{moles } p\text{-nitrofenol } \text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) de la siguiente manera:

$$\textit{Actividad de las Fosfatasa} = \frac{(S) * D}{G * T}$$

S= Concentración ( $\mu\text{moles mL}^{-1}$ ) de *p*-nitrofenol en los filtrados de las muestras de suelo obtenidas a partir de la recta patrón.

D=Factor relativo al total del volumen del líquido en mL generado por la incubación y extracción del producto de reacción en este caso 10 mL.

D'=Factor relativo al total del volumen de líquido en mL en caso de que la ABS no se pueda cuantificar se diluye la muestra.

G=Factor relativo al peso de suelo seco utilizado en la incubación en este caso 1 g.

T=Factor relativo al tiempo de incubación expresado en horas en este caso 1 hora.

Para obtener los resultados de cuantificación de fosfatasa en unidades  $\mu\text{moles}$ .

AE=  $\mu\text{moles } p\text{-nitrofenol } \text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$

$$\textit{AE Fosfatasa} = \frac{(S) * D}{G * T * PM}$$

PM= masa molecular de la Fosfatasa en este caso es de (mol/g).

12. ANEXO II

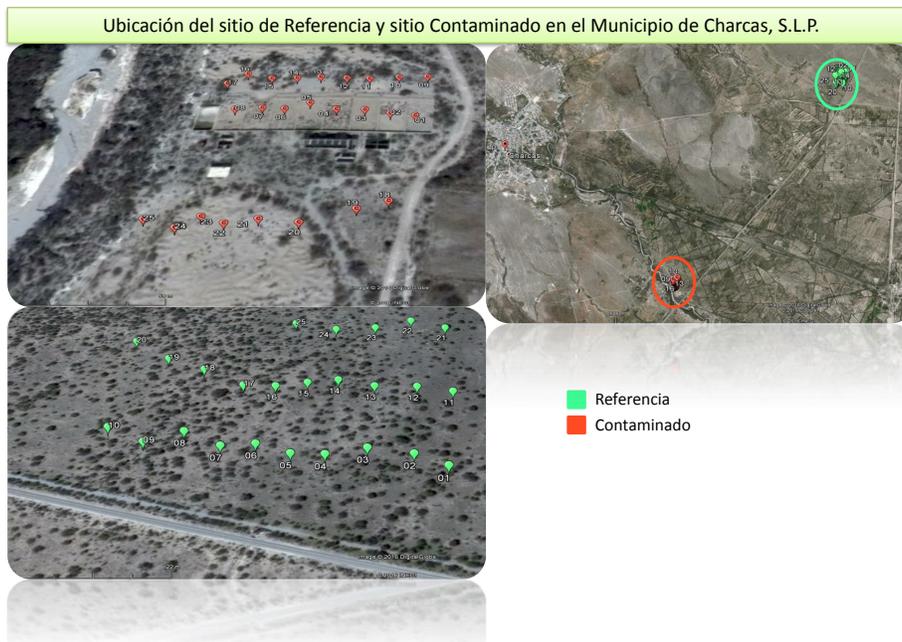
**Ubicación de los puntos muestreados.**

En la Figura 1 se muestran los puntos de muestreo de Cedral.



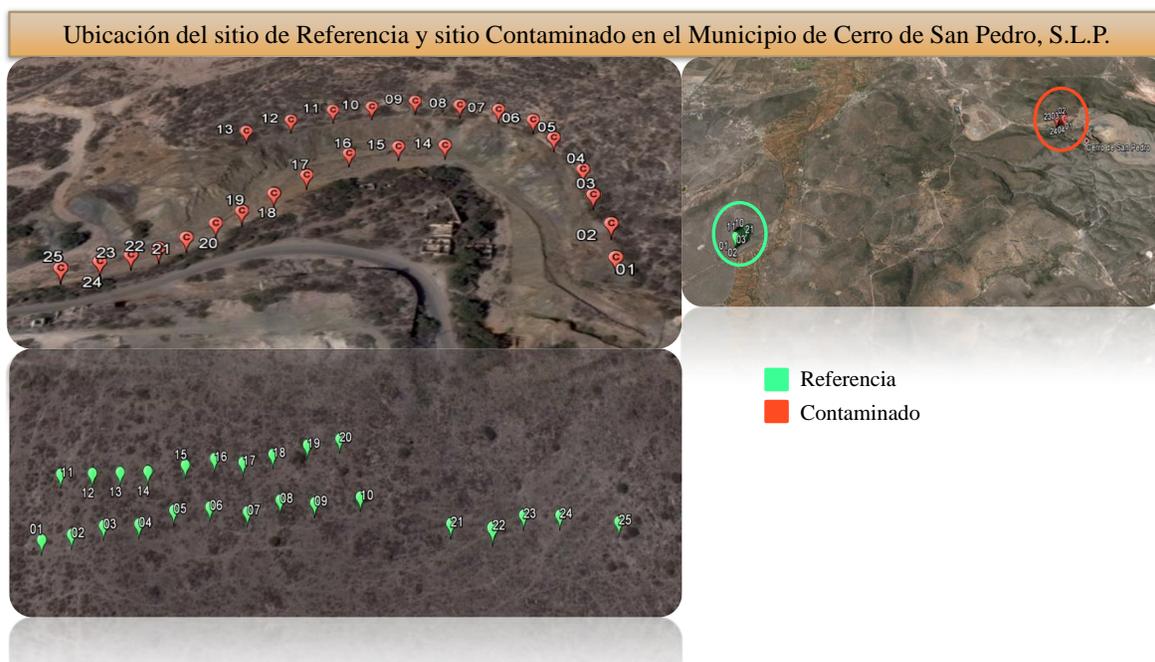
*Figura 1. Ubicación de los puntos muestreados en Cedral.*

En la Figura 2 se pueden observar los puntos tomados en cuenta para el muestreo en el municipio de Charcas.



*Figura 37 Ubicación de los puntos muestreados en Charcas.*

En la Figura 3 se presenta el sitio de Cerro de San Pedro donde se tomaron los puntos muestreados.



*Figura 38 Ubicación de los puntos muestreados en Cerro de San Pedro.*

En la Figura 15 se muestran los puntos en donde se tomaron los puntos de muestreo en Villa de la Paz.

Ubicación del sitio de Referencia y sitio Contaminado en el Municipio de Villa de la Paz, S.L.P.

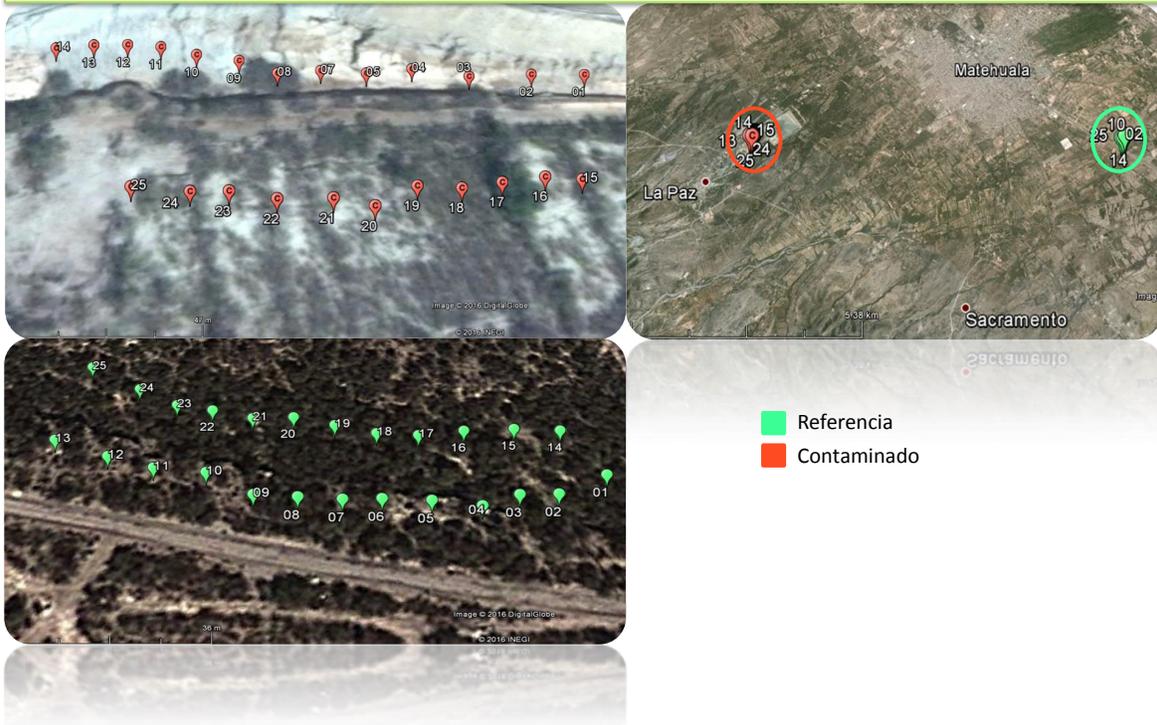


Figura 39 Ubicación de los puntos muestreados en Villa de la Paz.