INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE *Ricciocarpus natans* COMO BIOMONITOR DE LA CONTAMINACION ATMOSFERICA A METALES PESADOS (Cd, Cr, Pb)

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA

EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA:

CLARA GÓMEZ ENSASTEGUI

No. CONTROL:

D10280218

DIRECTOR DE TESIS:

DR PEDRO ÁVILA PÉREZ

CODIRECTOR:

DR JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS

METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, JULIO DE 2025

RESUMEN

En este estudio se evaluó la capacidad de la hepática acuática *Ricciocarpus natans* L. y del musgo terrestre *Entodon serrulatus* Mitt. como biomonitores de metales pesados asociados con material particulado en una zona urbana altamente contaminada, y se correlacionaron las concentraciones en los tejidos del musgo con las cantidades de partículas PM_{10} y $PM_{2.5}$ presentes en la atmósfera.

Ambas especies fueron expuestas a la contaminación del Área Metropolitana del Valle de Toluca (AMVT) mediante la técnica de bolsas de musgo, se expusieron durante dos periodos de seis meses cada uno y los puntos de muestreo utilizandos corresponden a los sitios de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico del Gobierno del Estado de México. Una vez concluido el muestreo, ambas especies fueron analizadas mediante técnicas de caracterización elemental y estructural.

Los resultados mostraron que, los grupos funcionales -OH y -NH, N-H y C-O en la superficie del hepático y del musgo participan en la adsorción de elementos pesados. Los factores de enriquecimiento promedio mostraron un valor muy alto para el Cd y (>10) en la zona de estudio, mientras que el Cr no presenta enriquecimiento (<2). Los resultados estadísticos indicaron una variación temporal en la concentración de metales y partículas en la atmósfera, con una disminución en la concentración de estos contaminantes en las temporadas de lluvias y en la estación seca-fría, y un aumento en la concentración en la estación seca-cálida. También se observó una posible asociación del Cr y Cd con las partículas PM_{10} y $PM_{2.5}$.

Además, excepto para el Cr, ambas especies acumulan los metales asociados con el material particulado en el aire en niveles equivalentes. Existe una fuerte asociación entre las partículas $PM_{2.5}$ y PM_{10}, así como entre los metales Cr-Pb-Fe en R. natans, y entre $PM_{2.5}$-PM_{10} y Fe, y entre Cd-Cr-Pb en E. serrulatus. Estos contaminantes están principalmente asociados con los sitios de muestreo que presentan las concentraciones más altas de metales en el ZMVT.

Aunque el musgo terrestre mostró características ligeramente mejores que el hepático acuático como biomonitor de metales pesados asociados con partículas atmosféricas, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas para todos los metales, por lo que ambas especies podrían ser útiles para el biomonitoreo de metales pesados en zonas urbanas altamente contaminadas.

ABSTRACT

In this study, the capacity of the aquatic liverwort *Ricciocarpus natans* L. and the terrestrial moss *Entodon serrulatus* Mitt. as biomonitors of heavy metals associated with particulate matter from a highly polluted urban area was evaluated, and concentrations in moss tissues were correlated with concentrations of PM 10 and PM 2.5 present in the atmosphere. The two species were exposed by the moss bag technique to the pollution of the Toluca Valley Metropolitan Area (TVMA) for two periods of 6 months, using the sites of the Automatic Atmospheric Monitoring Network of the Government of the State of Mexico, and were subsequently analyzed using elemental and structural characterization techniques. The results show that mainly the functional groups -OH and -NH, N-H and C-O on the surface of the liverwort and moss participate in the adsorption of heavy elements. The average enrichment factors of Cd and Pb show to be highly enriched in the study area while chromium is not enriched. The statistical results indicate a temporary variation in the concentration of metals and particles in the atmosphere, where there is a lower concentration of these pollutants in the rainy and dry-cold season and a higher concentration in the dry-hot season and a possible association of Cr and Cd with PM 10 and PM 2.5. In addition, except for Cr, both species accumulate the metals associated with airborne particulate matter at equivalent levels. There is strong association between PM 2.5 and PM 10 particles and between the metals Cr-Pb-Fe in R. natans and between PM 2.5 -PM 10 and Fe and between Cd-Cr-Pb in E. serrulatus and these pollutants are mainly associated with sampling sites with the highest concentrations of metals in the TVMA. Although terrestrial moss showed slightly better characteristics than aquatic liverwort as a biomonitor of heavy metals associated with atmospheric particles, these

differences were not statistically significant for all metals, so both species could be useful for heavy metal biomonitoring in highly polluted urban areas.

ÍNDICE

DEDICATORIAS ..... *¡Error! Marcador no definido.*

AGRADECIMIENTOS ..... *¡Error! Marcador no definido.*

RESUMEN *1*

ABSTRACT *3*

ÍNDICE *5*

ÍNDICE DE FIGURAS *7*

ÍNDICE DE TABLAS *8*

INTRODUCCIÓN *9*

1. FUNDAMENTOS *11*

1.1 Contaminación por material particulado **11**

1.2 Contaminación por metales pesados **11**

1.3 Toxicidad de los metales pesados **12**

1.3.1 Toxicidad del cadmio 12

1.3.2 Toxicidad del plomo 13

1.3.3 Toxicidad del cromo 14

1.4 Cultivo en bolsa **15**

1.5 Biomonitores **16**

1.5.1 Ventajas del biomonitoreo 17

1.5.2 Biomonitores de la calidad atmosférica 18

1.6 Musgos y briofitas **19**

1.7 Marchanntiophyta **23**

1.8 *Ricciocarpus natans* L. **24**

1.9 *Entodon serrulatus* **26**

1.10 Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT) **26**

2. MATERIALES Y METODOS *29*

2.1 Muestreo de la briofita acuática *Ricciocarpus natans* **30**

2.2 Desarrollo del medio de cultivo para *Ricciocarpus natans* **31**

2.2.1 Medio de cultivo A 31

2.2.2 Medio cultivo B 32

2.2.3 Medio cultivo C 32

2.4 Muestreo de *Entodon serrulatus* **33**

2.5 Desvitalización **34**

2.5 Cultivo en bolsa **34**

2.6 Exposición en estaciones de monitoreo **35**

2.7 Cuantificación de los metales pesados en las muestras de briofita y musgo **39**

2.8 Enriquecimiento neto (NE) **41**

2.9 Factor de enriquecimiento (EFs) **41**

2.10 Factor relativo de acumulación (RAFs) **42**

2.11 Análisis estadístico de los datos. **42**

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN ***44***

3.1 Desarrollo del medio de cultivo para *Ricciocarpus natans* **44**

3.2.1 Medio de cultivo A 44

3.2.2 Medio de cultivo B 45

3.2.3 Medio de cultivo C 45

3.2 Caracterización por espectofotometria FTIR **48**

3.3 Análisis termogravimétrico (TGA) **52**

3.4 Caracterizacion por microscopía electrónica de barrido (SEM) **56**

3.4.1 *Entodon serrulatus* **56**

3.4.2 *Ricciocarpus natans* **65**

3.5 Caracterización del contenido elemental en muestras de musgo. **68**

CONCLUSIONES ***91***

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ***93***

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 *RICCIOCARPUS NATAS* EN SU HÁBITAT (MENDOZA, 2008) 24
FIGURA 2 MORFOLOGÍA DE *RICCIOCARPUS NATANS* (MENDOZA, 2008). 25
FIGURA 1-3 ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE TOLUCA (SECRETARÍA DEL MEDIO AMBIENTE, 2012) 28
FIGURA 4 ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE TOLUCA 28
FIGURA 5 DIAGRAMA DE FLUJO DEL MÉTODO 29
FIGURA 6 POLÍGONO 1 DE LAS CIÉNEGAS DE LERMA, LAGUNA DE ALMOLOYA DEL RÍO (19°09'24.6"N 99°29'48.0"W) 30
FIGURA 7 CULTIVO DE *RICCIOCARPUS NATANS* 32
FIGURA 8 MUESTREO DE *ENTODON SERRULATUS* 33
FIGURA 9 BOLSAS DE *RICCIOCARPUS NATANS* 35
FIGURA 10 EXPOSICIÓN EN LAS ESTACIONES DE MONITOREO 36
FIGURA 11 UBICACIÓN DE LOS SITIOS DE MUESTREO EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE TOLUCA. MAPA CREADO CON EL SOFTWARE DE ACCESO ABIERTO QGIS VERSIÓN 3.34. HTTPS://WWW.QGIS.ORG/ 38
FIGURA 12 *RICCIOCARPUS NATANS* EXPUESTA AL MEDIO DE CULTIVO 44
FIGURA 13 BRIOFITAS PRECIPITADAS AL FONDO DEL MATRAZ 45
FIGURA 14 REPRODUCCIÓN DE *RICCIOCARPUS NATANS* 46
FIGURA 15 DENIDAD POBLACIONAL DE *RICCIOCARPUS NATANS* 48
FIGURA 16 FTIR DE *RICCIOCARPUS NATANS* 49
FIGURA 17 FTIR DE *ENTODON SERRULATUS* 50
FIGURA 18 TGA DE *RICCIOCARPUS NATANS* 54
FIGURA 19 *ENTODON SERRULATUS*, ANTES DE SU EXPOSICIÓN EN LAS ESTACIONES DE MONITOREO. 57
FIGURA 20 PARTÍCULAS BRILLANTES SOBRE LA SUPERFICIE DE LAS CÁPSULAS 58
FIGURA 21 TALLO BLANCO DE *ENTODON SERRULATUS* 60
FIGURA 22 HOJA EXPUESTA DE *ENTODON SERRULATUS* 62
FIGURA 23 TALLO EXPUESTO DE *ENTODON SERRULATUS* 64
FIGURA 24 MUESTRA BLANCO DE *RICCIOCARPUS NATANS* 65
FIGURA 25 MUESTRA EXPUESTA DE *RICCIOCARPUS NATANS* 66
FIGURA 26 MUESTRA DE *RICCIOCARPUS NATANS* EN EL MEDIO DE CULTIVO C 68
FIGURA 27 A) BIPLOT DE METALES PESADOS, $PM_{2.5}$, PM_{10} Y SITIOS DE MUESTREO OBTENIDOS CON LAS BOLSAS DE MUSGO DE *R. NATANS* EN EL PRIMER PERÍODO DE MUESTREO MEDIANTE PCA. 79
FIGURA 28 A) BIPLOT DE METALES PESADOS, $PM_{2.5}$, PM_{10} Y SITIOS DE MUESTREO OBTENIDOS CON LAS BOLSAS DE MUSGO DE *R. NATANS* EN EL SEGUNDO PERÍODO DE MUESTREO MEDIANTE PCA. 81
FIGURA 29 A) BIPLOT DE METALES PESADOS, $PM_{2.5}$, PM_{10} Y SITIOS DE MUESTREO OBTENIDOS CON LAS BOLSAS DE MUSGO DE *E. SERRULATUS* EN EL PRIMER PERÍODO DE MUESTREO MEDIANTE PCA. 83
FIGURA 30 A) BIPLOT DE METALES PESADOS, $PM_{2.5}$, PM10 Y SITIOS DE MUESTREO OBTENIDOS CON LAS BOLSAS DE MUSGO DE *E. SERRULATUS* EN EL SEGUNDO PERÍODO DE MUESTREO MEDIANTE PCA. 85

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1MEDIO LORENZEN ET AL., 1981 31
TABLA 2 EDS DE LA HOJA BLANCO DE *ENTODON SERRULATUS* 58
TABLA 3 EDS DEL TALLO BLANCO DE *ENTODON SERRULATUS* 61
TABLA 4 EDS HOJA EXPUESTA DE *ENTODON SERRULATUS* 63
TABLA 5 ENRIQUECIMIENTOS NETOS OBTENIDOS PARA LAS BOLSAS DE MUSGO DE *R. NATANS* EN LOS DOS PERIODOS DE EXPOSICIÓN. CONCENTRACIONES EN MG KG^{-1} P.S., ± DESVIACIONES ESTÁNDAR. 71
TABLA 6 ENRIQUECIMIENTOS NETOS OBTENIDOS PARA LAS BOLSAS DE MUSGO *E. SERRULATUS* EN LOS DOS PERÍODOS DE EXPOSICIÓN. CONCENTRACIONES EN MG KG^{-1} P.S., ± DESVIACIONES ESTÁNDAR. 71
TABLA 7 FACTORES DE ACUMULACIÓN RELATIVA (RAF) PARA LAS BOLSAS DE MUSGO DE *R. NATANS*. 73
TABLA 8 RELATIVE ACCUMULATION FACTORS (RAF) FOR *E. SERRULATUS* MOSS BAGS 73
TABLA 9 FACTORES DE ENRIQUECIMIENTO (EF) PARA LAS BOLSAS DE MUSGO DE *R. NATANS* 75
TABLA 10 FACTORES DE ENRIQUECIMIENTO (EF) PARA LAS BOLSAS DE MUSGO *DE E. SERRULATUS* 75

INTRODUCCIÓN

La contaminación del aire ha ido aumentando en los últimos años y se ha convertido en uno de los temas más importantes de la actualidad. Entre los componentes de la contaminación del aire, los metales pesados son de particular importancia, ya que no se descomponen fácilmente, tienden a bioacumularse y algunos de ellos tienen efectos tóxicos o cancerígenos incluso en bajas concentraciones. Por lo tanto, la presencia de metales pesados en el aire es un tema extremadamente importante de estudiar (Cesur *et al*., 2021).

El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad de *Ricciocarpus natans*, como un biomonitor de metales pesados (Cd, Cr y Pb) asociados a la materia particulada aerotransportada y derivada de actividades antropogénicas. El monitoreo se llevo a cabo en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, utilizando dos especies *Ricciocarpus natans* y *Entodon serrulatus*. La importancia de este proyecto es encontrar una especie que sea capaz de adsorber metales pesados, utilizándola como un biomonitor económico para futuros procesos de biomonitoreo. La hipótesis que se planteó fue que la hepática *Ricciocarpus natans* reflejará de manera adecuada los niveles de metales pesados asociados a la materia particulada aerotransportada de la atmósfera de la ZMVT resultando en un potencial biomonitor para zonas urbanas altamente “contaminadas”.

La distribución de este trabajo está de la siguiente manera. En el capítulo 1 se presenta los fundamentos teóricos relativos a esta investigación, por lo tanto, se incluye la contaminación y toxicidad por metales pesados, el proceso de biomonitoreo que incluye el cultivo en bolsa, la descripción de cada especie utilizada y por último, los puntos de muestreo que se encuentran insertos dentro de las estaciones de monitoreo de la RAMA.

En el capítulo 2 se describe la parte experimental desarrollada en este proyecto en donde se incluye el muestreo, conservación y almacenamiento para ambas especies, su proceso de desvitalización; se presentan también los medios de cultivo propuestos en este trabajo que tuvieron como objetivo la reproducción de la especie acuática. Se detalla también la exposición de las espeies en los puntos de muestreo y las técnicas de caracterización que se aplicó a ambas especies antes y después de su exposición, y por último la cuantificación de los metales Cd, Cr y Pb realizado por absorción atómica.

En el capítulo 3 se muestran los resultados obtenidos, el primero de ellos corresponde a la reproducción de la especie acuática, la cual se realizó con éxito; la caracterización de las especies mostró que el proceso de desvitalización fue efectivo y también la capacidad de *Ricciocarpus natans* para retener agua y la de *Entodon serrulatus* para no retenerla. La microscopía electrónica mostró que antes de la exposición ambas especies muestran ausencia de los metales de interés, y después de la exposición se detectó por lo menos uno de ellos. La cuantificación de los metales mostró que *Entodon serrulatus* adsorbe en general una mayor cantidad de metales y que el plomo es el metal que se encuentra presente en mayor cantidad en ambas especies. El factor de enriquecimiento calculado para estos tres metales indica que en ninguno de los puntos de muestreo considerados existe una contaminación significativa.

Finalmente, en la última parte se exponen las conclusiones del trabajo en las que se destaca que la especie terrestre *Entodon serrulatus* adsrobió una mayor cantidad de metales pesados, lo que confirma que la elección de la especie resulta ser la variable de mayor importancia en un proceso de biomonitoreo. Se incluyen también algunas recomendaciones para trabajos posteriores.

1. FUNDAMENTOS

1.1 Contaminación por material particulado

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la contaminación atmosférica afecta la salud humana y causa siete millones de muertes anuales en todo el mundo (Hao-Tian et al., 2022). El material particulado (PM) es considerado el principal contaminante del aire (USEPA, 2011) y tiene su origen en diversas fuentes, como procesos industriales, tráfico vehicular, calefacción residencial, combustión de carbón, actividades mineras, producción química y de fertilizantes e incineración de desechos (Lelieveld et al., 2015; Vuković et al., 2015; Macedo-Miranda et al., 2024). El PM está integrado por compuestos orgánicos, minerales de diversas fuentes y metales pesados (Sýkorová, Kucbel & Raclavský, 2016).

Los metales pesados que se asocian con el material particulado representan una amenaza significativa para el medio ambiente y la salud humana (Loomis et al., 2013), ya que son contaminantes tóxicos no biodegradables y persistentes. Una vez introducidos en el medio ambiente, estos metales se acumulan en los tejidos de plantas y otros organismos a través de las cadenas alimenticias y son muy difíciles de eliminar de los ecosistemas (Stanković, Sabovljević & Sabovljević, 2018).

1.2 Contaminación por metales pesados

El término de "ion de metal pesado", se refieren a la forma iónica de las especies metálicas con una densidad superior a 4.5 g/cm^{-3} (Zheng *et al.,*2022). Algunos de ellos son micronutrientes esenciales; otros no desempeñan ningún papel positivo en los organismos vivos (Nowicka 2022). Con la creciente industrialización, la dependencia de los combustibles

fósiles, el desarrollo urbano y la antigua zonificación industrial, y la expansión de la agricultura, el remedio medioambiental debido a los metales pesados se está convirtiendo en un problema en muchas regiones (Zheng *et al.,*2022).

1.3 Toxicidad de los metales pesados

La toxicidad de los metales pesados es un fenómeno complejo debido a que provocan la alteración de diversos procesos metabólicos y cambios ultraestructurales en las células expuestas y existen cuatro modos principales de acción tóxica de los metales pesados: (1) reacción con los grupos tioilo, histidilo y carboxilo de proteínas y compuestos de bajo peso molecular como el glutatión (GSH), esto provoca pérdida de actividad, alteración de la estructura y cambios en las vías de regulación y señalización, (2) desplazamiento de cationes metálicos esenciales, especialmente los presentes en los sitios activos de diversas enzimas, lo que conduce a la pérdida de actividad de estas proteínas, (3) similitud con grupos funcionales bioquímicos, principalmente fosfato, (4) generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) por autooxidación (Nowicka 2022).

1.3.1 Toxicidad del cadmio

El Cd es un metal pesado tóxico que afecta negativamente a muchos procesos biológicos en humanos, animales y plantas. El Cd es un metal físicamente blando e inerte con una vida media en humanos de 15 a 30 años (Marini *et al.,* 2022). Las principales fuentes naturales de Cd son los volcanes y la meteorización de las rocas (Tran y Popova 2013). En la industria, debido a sus excelentes propiedades anticorrosivas y resistencia a la oxidación, encuentra una amplia gama de usos, por ejemplo, se utiliza en la fabricación de baterías de Ni-Cd, en

la producción de materiales como elemento de color, en el recubrimiento de piezas mecánicas y fotográficas (Marini *et al.,* 2022).

En los seres humanos, la exposición más cercana al cadmio proviene del humo del cigarrillo, las pequeñas partículas de Cd son absorbidas por el epitelio alveolar, atraviesan el tejido intersticial del pulmón y entran en la circulación sanguinea. La exposición por inhalación es también es importante para los trabajadores de minas, talleres de pintura y fábricas de baterías, donde el polvo y los humos pueden contener grandes cantidades de cadmio. Cuando las toxinas atraviesan las estructuras del tracto respiratorio superior y entran en los alvéolos, también son absorbidas y transferidas a la sangre (Marini *et al.,* 2022).

Para los no fumadores y fumadores, la exposición al cadmio generalmente está relacionada con la dieta y con diversos grados de absorción según el tipo de toxina, su dosis y la frecuencia de exposición. La eficiencia de absorción de cadmio del tracto gastrointestinal es menor que la respiratoria, en humanos la tasa de absorción gastrica es de aproximadamente 3-7% (Marini *et al.,* 2022).

1.3.2 Toxicidad del plomo

El plomo es un metal pesado tóxico que se encuentra comúnmente en el lecho rocoso y el suelo como mineral en forma de galena (sulfuro de plomo, PbS) con una concentración natural de 12 a 20 mg/L (Ren *et al.,* 2022). Por otro lado, se estima que el plomo contribuye al 10% de la contaminación total causada por metales pesados. Es ampliamente utilizado en baterías de plomo ácido, construcción, revestimiento de cables, pintura, adición de alquilo a la gasolina y refinería petroquímica (Collin *et al.,* 2022).

Aunque el plomo no tiene una función biológica definida, interfiere con varios procesos fisiológicos al producir un exceso de especies reactivas de oxígeno (Ogo *et al.,* 2022). De todos los órganos internos humanos, el sistema nervioso es el más afectado por el envenenamiento por plomo tanto en niños como en adultos (Ara y Usami 2015). La exposición del cuerpo humano al plomo retrasa la pubertad, deteriora la calidad del semen y dificulta el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-testicular, entre otros (Jiang *et al*., 2021). Los bebés y los niños pequeños son especialmente sensibles incluso a niveles bajos de plomo, lo que puede causar problemas de comportamiento, de aprendizaje y coeficientes intelectuales más bajos (Ara y Usami 2015). Se ha informado también que la exposición al plomo a largo plazo causa anemia y aumento de la presión arterial, especialmente en los ancianos. Por ultimo, también se han reportado casos de daño cerebral y renal severo asociado con una alta exposición al plomo tanto en adultos como en niños, asimismo, los altos niveles de plomo pueden causar aborto espontáneo en mujeres embarazadas (Ara y Usami 2015).

1.3.3 Toxicidad del cromo

El cromo elemental (Cr) no se produce de forma natural, sino que se encuentra en minerales, principalmente como cromita ($FeOCr_2O_3$) (Ray y Ray 2009). La alta concentración de Cr se asocia principalmente con actividades humanas como la galvanoplastia, la producción de acero y automóviles, el curtido de cuero y la conservación de la madera (Sun *et al.,* 2022).

El cromo en altas concentraciones es tóxico, mutagénico, cancerígeno y teratogénico, existe en los estados de oxidación +2, +3 y +6 (Belay 2010). El estado de oxidación trivalente es la forma más estable de cromo, esencial para los mamíferos en concentraciones mínimas (Belay

2010). Por otro lado, la deficiencia de Cr en los seres humanos puede dar lugar a elevados niveles de insulina y colesterol (Kumar *et al.,* 2017).

La naturaleza ácida y oxidativa de los compuestos de Cr los hace peligrosos para el sistema reproductivo humano (Andleeb *et al*, 2018). Los compuestos entran con facilidad en el organismo en sus formas pesadas, como Cr (IV) y Cr(V), y llegan al riñón a través de la sangre (Rahman y Singh, 2019). El Cr (VI) causa numerosos defectos en el sistema nervioso, defectos de nacimiento y muerte fetal (Ray y Ray 2009). Los compuestos insolubles permanecen en los tejidos de los órganos internos humanos de entrada o son transportados a través de la acción mucociliar al intestino (Rahman y Singh, 2019). El cromo se localiza en los pulmones, el hígado, los riñones, el bazo, las glándulas suprarrenales, el plasma, la médula ósea y los glóbulos rojos (Ray y Ray 2009).

1.4 Cultivo en bolsa

Una de las técnicas utilizadas en áreas urbanas para evaluar la contaminación del aire es la "técnica de bolsa", introducida en 1971 por Goodman y Roberts (Demková et al., 2017). En este método, se emplean musgos, líquenes y otros organismos debido a su capacidad para acumular contaminantes de manera eficiente. Por ejemplo, la lenteja de agua se ha utilizado ampliamente para recuperar nutrientes y metales pesados de aguas residuales agrícolas y domésticas (Rezania et al., 2016). Esta técnica tiene una serie de ventajas: tiempo bien definido de exposición, las concentraciones de fondo conocidas de elementos en el musgo, flexibilidad en la selección y el número de sitios de muestreo para ser elegido, la uniformidad de la superficie de atrapamiento, etc. La principal limitación del método es que la eficiencia en la acumulación de biomonitores para diferentes contaminantes no se conoce. El tiempo de

exposición es también crucial en el biomonitoreo al usar bolsas. Los musgos en las bolsas tienden a secarse y por tanto su deficiencia en la retención de metales puede variar dependiendo de las condiciones ambientales. Especies de *Sphagnum* se han considerado por ser especialmente adecuadas para la vigilancia de la contaminación de metales pesados debido a la alta capacidad de intercambio catiónico de sus paredes celulares y una gran área de superficie en contacto con la atmósfera (Aničić *et al.,* 2009).

1.5 Biomonitores

Un biomonitor es un organismo, que representa la presencia de contaminantes en función de síntomas, reacciones, cambios morfológicos o concentraciones específicas (Sett y Kundu, 2016). El organismo utilizado se llama bioindicador o monitor biológico (Chakrabortty y Paratkar 2006).

Una clasificación de los organismos o comunidades según su "modo de acción" es la siguiente:

• Biomonitores sensibles: pueden ser del tipo óptico y se usan como integradores del estrés causados por contaminantes, y como un sistema de alarma preventivo. Se basan en efectos ópticos como cambios morfológicos en el comportamiento de abundancia relacionado con el medio ambiente y/o en aspectos químicos y físicos como alteración en la actividad de diferentes sistemas enzimáticos, así como actividades fotosintéticas o respiratorias (Conti y Cecchetti. 2001).

• Bioindicadores acumulativos: Tienen la capacidad de almacenar contaminantes en sus tejidos y se utilizan para la medición integrada de la concentración de dichos contaminantes en el medio ambiente (Conti y Cecchetti. 2001)

1.5.1 Ventajas del biomonitoreo

Algunas de las ventajas del biomonitoreo reportadas por Chakrabortty y Paratkar, 2006, son:

• No se requiere el uso a largo plazo de equipos de muestreo caros.

• El muestreo de organismos utilizados como monitor biológico es generalmente más fácil.

• Las concentraciones en los organismos de monitoreo son más altas que el sistema a monitorear. Esto mejora la precisión de las mediciones.

• La mayoría de los organismos reflejan condiciones externas promediadas durante ciertos períodos de tiempo. Este se vuelve importante cuando los niveles de monitoreo cambian rápidamente con el tiempo.

Criterios de selección de los biomonitores (Chakrabortty y Paratkar 2006):

• El organismo tiene que ser común en el área de interés.

• Tiene que estar disponible para tomar muestras durante todas las estaciones; si no, entonces se deben desarrollar algunos dispositivos para crecer en todas las estaciones.

• El monitor debe ser tolerante con los contaminantes en los niveles relevantes.

• Los niveles de concentración acumulados deben ser medibles por técnicas analíticas de rutina.

• Ausencia de cantidades apreciables de absorción de elementos de fuentes distintas a la atmósfera.

• Deben conocerse los mecanismos fisiológicos para la captación de elementos para facilitar la interpretación de los resultados.

Debido a la función vital que desempeñan las plantas en los ecosistemas, las briofitas han sido utilizados para la diagnosis o predicción de las consecuencias negativas de actividades antropogénicas mediante el estudio de sus procesos fisiológicos, respuestas bioquímicas, mecanismos de adaptación y mortalidad. Las respuestas que tiene lugar en los organismos como consecuencia del efecto de un contaminante se han denominado biomarcadores (Pernía *et al*., 2008).

1.5.2 Biomonitores de la calidad atmosférica

Debido a sus excelentes propiedades como bioindicadores, algunas plantas, como el musgo y los líquenes, pueden usarse para determinar el grado de acumulación de contaminantes.

Las briofitas acuáticas que crecen en sitios particulares, como lo son las briofitas nativas, constituyen una herramienta simple, de confianza y económica para el biomonitoreo. Su uso ha sido exitoso debido a sus características anatómicas y fisiológicas de estas plantas, su cinética de bioconcentración del contaminante y su permanente presencia en el medio ambiente (Debén *et al.,* 2015).

Szollosi-Mota *et al*., (2020) recolectaron musgo *Tortura muralis* en 10 puntos del valle de Jiu (Rumania) y obtuvieron como resultado altas concentraciones de Zinc (9.19 mg/kg),

seguido de cadmio (2.02 mg/Kg). Mientras que para cromo obtuvieron una concentración de 0.126 mg/kg y para plomo una concentración de 0.045 mg/kg.

Hajizadeh et al., (2019), recolectaron las hojas de tres diferentes especies de árboles (*Vitus vinífera*, *Juglans regia*, *Ulmus umbraculifera* y *Popolus alba*), ubicados en el lago Urmia (Irán). Encontraron que el metal que mayor absorbieron las hojas fue Zn en *Vitus vinífera* con una concentración de 24.82 mg/kg. Las concentraciones de metales pesados en las tres especies de árbol fue el siguiente: Zn>Cu>Ni>Pb>As>Cd. Las concentraciones de As, Cd y Pb fueron bajas, que van de 0.03 a 2.93 mg/kg.

1.6 Musgos y briofitas

Los musgos y briofitas terrestres se utilizan en el monitoreo de la contaminación del aire, debido a su bajo costo, su disponibilidad y alta capacidad de adsorción. Uno de los métodos más comunes para el biomonitoreo atmosférico es la técnica en cultivo en bolsa (Gónzalez *et al.,* 2015). Las briofitas acuáticas tienen una mayor capacidad de acumulación de metales pesados que los sedimentos o las macrófitas vasculares y pueden acumular grandes cantidades de metales de su hábitat. Esta capacidad y la amplia distribución de briófitas acuáticas los hacen candidatos para monitorear la contaminación por metales en ambientes acuáticos (Samecka-Cymerman *et al.,* 2005).

A menudo, los musgos se han utilizado en el biomonitoreo pasivo (es decir, utilizando especies nativas). También, en ocasiones, se han utilizado para el biomonitoreo activo, mediante el uso de trasplantes, aunque estos suelen utilizarse debido a la ausencia de musgos nativos en las áreas en estudio (Samecka-Cymerman *et al.*, 2005).

Diversas investigaciones han demostrado que las concentraciones de metales pesados en musgos recolectados en áreas urbanas son significativamente más altas que en aquellos recolectados en zonas naturales o remotas. Esta diferencia a demostrado que el uso de musgos resulta ser un método sencillo que puede contribuir al biomonitoreo de la contaminación del aire por metales pesados y convertirse en una forma rentable de evaluar la calidad del aire urbano. Los musgos poseen atributos clave, como una relación superficie-volumen excepcionalmente alta, bajos costos de producción, tanto para especímenes naturales como cultivados artificialmente, alta estabilidad en musgos desvitalizados y capacidad de intercambio iónico (Markert et al., 2003).

Algunos estudios han evaluado la capacidad del musgo terrestre *Sphagnum* sp. para el biomonitoreo de ecosistemas acuáticos comparadolo con *Fontinalis antipyretica*, la especie de musgo acuático más utilizada para el biomonitoreo de sistemas acuáticos (Samecka-Cymerman & Kempers, 2001; Ceburnis et al., 2011). Los resultados mostraron que las concentraciones de la mayoría de los elementos estudiados eran más altas en el musgo acuático que en el terrestre, lo que sugiere que los musgos acuáticos también podrían tener una buena capacidad para acumular metales pesados de la atmósfera.

Recientemente, se ha explorado la posibilidad de utilizar especies acuáticas para determinar la contaminación por metales pesados asociada con el material particulado en el aire en zonas urbanas, ya que han demostrado una alta capacidad para concentrar metales pesados, como lo ha mostrado el uso de *Fontinalis antipyretica* (Fernández et al., 2015). Aunque se han realizado estudios en diferentes regiones del mundo para evaluar la contaminación del aire mediante bolsas de musgo, son muy pocos los estudios en los que el monitoreo atmosférico de metales pesados se ha llevado a cabo durante las cuatro estaciones del año (Hao-Tian et

al., 2022; Schröder & Pesch, 2004). Estas investigaciones han demostrado que los musgos pueden utilizarse en el biomonitoreo ambiental a largo plazo y recomiendan ajustar el periodo y la duración de la exposición de los musgos a la contaminación del aire a un período de 3 a 6 meses para obtener resultados confiables.

Debén *et al.*, (2016) reportaron que en la especie *Sphagnum denticulatum*, las concentraciones iniciales de todos los metales Al, As, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Ni y Zn fueron más bajas que al final del período de exposición, y el aumento generalmente ocurrió durante los primeros 5 días. También, reportaron que las concentraciones iniciales de todos los elementos, excepto As, fueron significativamente más bajas en *Sphagnum denticulatum* que en *Fontinalis antipyretica*. Esto se debió principalmente a que las muestras de *S. denticulatum* se lavaron con EDTA antes de ser desvitalizadas; este paso de lavado extrae metales de los sitios de intercambio en los tejidos de musgo y, por lo tanto, debería dar como resultado una acumulación más eficiente de dichos metales durante el período de exposición. Ellos recomiendan la desvitalización con sobre-secado con una rampa de temperatura con métodos probados para el musgo *F. antipyretica*, ya que este método produce resultados más estables en relación con la pérdida de material durante la exposición y la acumulación de elementos. Concluyen que, el musgo terrestre *S. denticulatum*, comúnmente utilizado en biomonitoreo atmosférico, no es adecuado para su uso en ambientes acuáticos.

Fabrizio Monaci *et al*., (2021) utilizaron especímenes nativos y trasplantados del musgo acuático *Platyhypnidium riparioides* para evaluar la contaminación por metales y metaloides en un río que recibe múltiples drenajes ácidos y metalíferos procedentes de zonas mineralizadas con sulfuros y minas abandonadas. La exposición de todas las bolsas de musgo desplegadas duró 3 semanas y ellos concluyeron que la capacidad de *P. riparioides* para

captar y retener un conveniente espectro de elementos y su alta sensibilidad de respuesta hicieron de esta especie un medio de muestreo eficaz para identificar aquellos que tienen más probabilidades de afectar a los receptores biológicos, indicando un potencial impacto ecológico.

Świsłowski *et al.,* (2022) expusieron durante tres meses en una propiedad en Końskie (Świętokrzyskie Voivodeship, Polonia) a los musgos *Sphagnum fallax*, *Pleurozium schreberi* y *Dicranum polysetum*. Obtuvieron como resultado mejores resultados con el musgo S. *fallax.*

Quyet *et al.,* (2021) investigaron la deposición atmosférica de elementos químicos en la región de Hanoi a partir de la biomonitorización de musgos, empleando a la especie *Barbula indica.* Obtuvieron como resultado que el aire de Hanoi está altamente contaminado con Zn, Ba y Ta, y ligeramente contaminado con Al, Cl, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Co, As, Cd, Sb, La, Ce, Sm, Gd, Tb, Yb, Hf, Th y U.

Carrillo *et al.,* (2022) evaluaron a *Parmotrema arnoldii* (Du Rietz) Hale y *Tillandsia usneoides* L. como indicadores de metales pesados en el aire y *Platyhypnidium aquaticum A. Jaeger* y *Marchantia polymorpha* L. como indicadores de metales pesados y un metaloide en el agua. Obtuvieron como resultado que el nivel de concentración de metales en el aire para *P. arnoldii* y *T. usneoides* tuvo el siguiente orden de concentración Zn > Mn > Pb > Cd > Cu. En el caso del agua, *P. aquaticum* señaló una concentración de Al > Mn > Fe > Zn > As > Pb > Cd y demostró ser más eficaz en la detección de la contaminación del agua que la especie *M. polymorpha*, que tenía una concentración de Al >Zn > Fe > Cd >As > Mn > Pb. Además, concluyeron que, *P. aquaticum* mostró una mayor capacidad de acumulación de

metales pesados que *M. polymorpha*, por lo que puede ser utilizada como especie modelo para la monitorización pasiva de la calidad del agua. Sin embargo, *P. arnoldii* y *T. usneoides* mostraron una acumulación de metales pesados similar en relación con la calidad del aire.

1.7 Marchanntiophyta

Tradicionalmente el reino vegetal ha sido dividido en plantas no vasculares y vasculares. Las plantas no vasculares se agrupan en tres divisiones: Marchantiophyta (Hepatophyta), Anthocerotophyta y Bryophyta, integradas por plantas autótrofas con clorofila a y b, carotenoides, paredes celulares celulósicas y un ciclo de vida con alternancia de fases en la que el esporofito es dependiente del gametofito.

La división Marchantiophyta agrupa entre 6,000 y 8,000 especies de plantas (Mendoza, 2008), se distinguen de la phyla Bryophyta por su orientación dorsi-ventral, rizoides unicelulares, ausencia de columela y ausencia de estomas (Bowden *et al.,* 2017), suelen vivir en diversos ambientes húmedos y sombreados, cubriendo grandes extensiones de tierra, rocas, árboles o cuerpos de agua, son conocidas comúnmente como hepáticas (Mendoza, 2008).

En general, se considera que las Marchantiophyta tiene dos clases (Bowden *et al.,* 2017):

- Marchantiopsida (hepáticas talosas)
- Jungermanniopsida

1.8 *Ricciocarpus natans* L.

Ricciocarpus natans L. es nativa de Nueva Zelanda y con frecuencia flota libremente con *Lemna* en aguas eutróficas (Rial y Lasso, 1998), también acompañada de la hepática *Riccia fluitans*, del helecho acuático *Azolla microphylla* Kaulf (Figura 1) (Mendoza, 2008) y suele ser común en humedales naturales con valores de pH de 7.6 (Rial y Lasso, 1998). En México se ha reportado su presencia en algunos lagos de varios estados (como el Estado de México) (Mendoza, 2008).

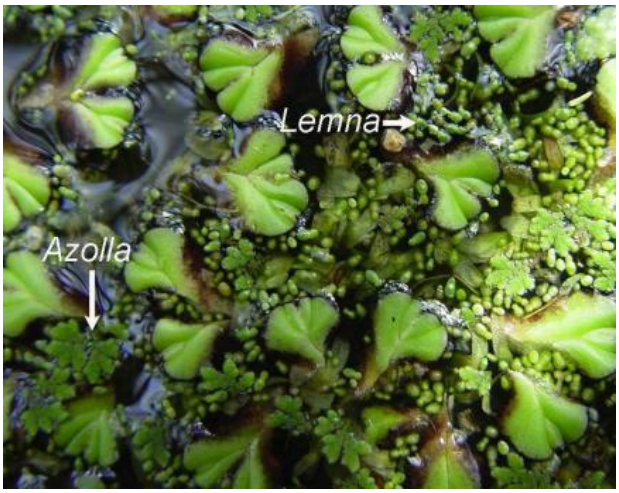


Figura 1 *Ricciocarpus natas* en su hábitat
(Mendoza, 2008)

El gametofito de *Ricciocarpus natans* es un talo pequeño que es el responsable de la reproducción, y puede llegar a alcanzar los 2.5 cm de longitud, tiene un aspecto esponjoso, es dorsiventralmente aplanado y dicotómicamente lobulado en la parte apical (Mendoza,2008).

Bischler y Jovet-Ast (1981) establecen que las especies de *Ricciocarpus* son conocidas como *Marchantiophytas.* Algunas de las características que destacan estos autores son: tienen esporas largas, el gametofito es capaz de captar y circular agua, son capaces de vivir durante

largos periodos de tiempo debido a su morfología ya que sus talos permiten capturar agua directamente de la superficie del suelo, sus poros epidérmicos y las cámaras de aire permiten el intercambio atmosférico, las esporas resisten al daño y a la desecación debido a la densa ornamentación de la exina, lo que permite su dispersión por corrientes de agua. Las *marchantiophytas* son especies terrestres, al estar expuestas resisten condiciones extremas como altas temperaturas y largos periodos de luz intensa. Las especies *Riccica* pueden recuperar la totalidad de sus funciones después de un perido de hasta 8 años de estar desecadas e incluso pueden reproducirse si alguna de sus células no sufre daños, esto las convierte en especies únicas.

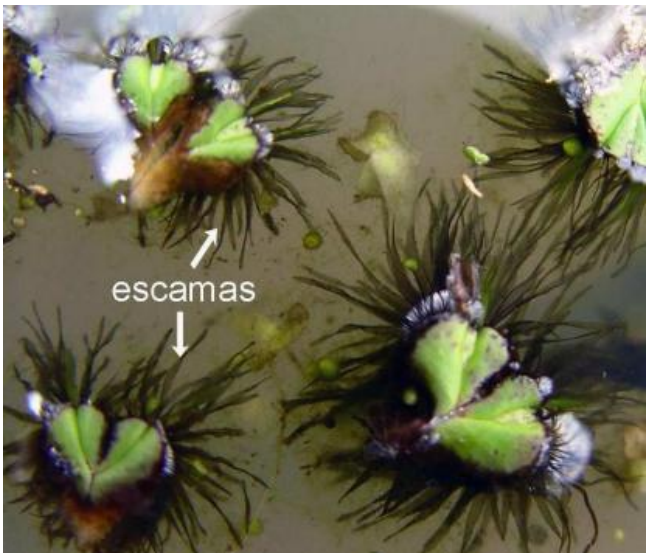


Figura 2 Morfología de *Ricciocarpus natans*
(Mendoza, 2008).

En la parte superior de la lámina se encuentran numerosos poros que le permiten el intercambio gaseoso, y se aprecia además un surco hundido en forma de Y, que divide a la planta en dos partes iguales. En la parte inferior de la lámina se encuentran varias filas de

escamas ventrales y numerosos rizoides; las escamas están formadas por una sola capa de células y a menudo son de color púrpura (Figura 2) (Mendoza, 2008).

1.9 *Entodon serrulatus*

Erythrodontium Hampe (*Entodontaceae*) consiste en musgos pleurocárpicos de tamaño pequeño a mediano. Las especies suelen ser corticolas, pero también pueden encontrarse creciendo en el suelo o en las rocas. Las especies de *Erythrodontium* se encuentran generalmente en regiones regiones montañosas en los trópicos, tanto en el tanto en el hemisferio occidental como en el oriental (Majestyk, 2009).

El género de musgo *Entodon* se caracteriza por hojas ovado-lanceoladas, a menudo más o menos oblongas, con células superiores lineares cortas y de doble costa, grupos considerables de células alares cuadradas y diferenciadas, y por cápsulas cilíndricas erectas con peristoma doble insertado muy por debajo de la boca (Zhu *et al.*, 2010). *Entodon*, el mayor género de las *Entodontaceae*, tiene una distribución casi cosmopolita. Se extiende desde el sur de Sudamérica, Nueva Zelanda y Sudáfrica en el sur, hasta la zona boreal del hemisferio norte, y cuenta con unas 130 especies (Buck 1990). Esta especie se distribuye en México en los estados de Chiapas, Distrito Federal, Hidalgo, México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla y Veracruz (Herrera-Paniagua, P. y Martínez, M., 2014).

1.10 Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT)

En México, la contaminación del aire alcanza niveles elevados que se asocian tanto a las actividades humanas como al cambio climático, y varía significativamente entre las diferentes regiones del país. Cada año, la contaminación del aire causa cerca de 33,000

muertes en México: 20,000 debido a la contaminación del aire exterior, principalmente en pueblos y ciudades, y 13,000 debido a la contaminación del aire en interiores, causada por el uso de leña y otros combustibles sólidos (Copenhagen Consensus, 2024). El principal problema de la combustión es el material particulado en el aire, que puede provocar enfermedades pulmonares crónicas, infecciones respiratorias agudas, cáncer de pulmón, enfermedades cardíacas y accidentes cerebrovasculares. La contaminación del aire representa aproximadamente una de cada 17 muertes (5.9%) en el país y es la octava causa de muerte (Global Burden of Disease Collaborative Network, 2021).

Las partículas de aire más peligrosas son conocidas como PM_{10} y $PM_{2.5}$, ya que pueden penetrar profundamente en los pulmones. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido un límite para la contaminación ambiental promedio de PM_{10} y $PM_{2.5}$ de 45 $\mu g/m^3$ y 15 $\mu g/m^3$, respectivamente. Sin embargo, las concentraciones promedio en el año 2023 en el Área Metropolitana del Valle de Toluca (AMVT) fueron de 70 $\mu g/m^3$ y 41 $\mu g/m^3$ para PM_{10} y $PM_{2.5}$, respectivamente (Centro Estatal de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2024).

La Zona Metropolitana del Valle de Toluca se localiza en la parte central del Estado de México (Figura 4). Está conformada por 22 municipios, los cuales comprenden una superficie de 2,669.6 km2, que corresponde al 11.9% del territorio estatal; colinda al Norte con los municipios de San Felipe del Progreso, Ixtlahuaca, Jiquipilco y Nicolás Romero; al oriente con Isidro Fabela, Jilotzingo, Naucalpan, Huixquilucan y con el D.F; al Sur con Ocuilan, Joquicingo, Tenancingo, Villa Guerrero y Coatepec Harinas y al Poniente con Temascaltepec, Amanalco y Villa Victoria (Secretaría del Medio Ambiente, 2012).

Se considera la segunda concentración poblacional más importante del Estado de México y la quinta del país (Zepeda-Gómez, 2014).

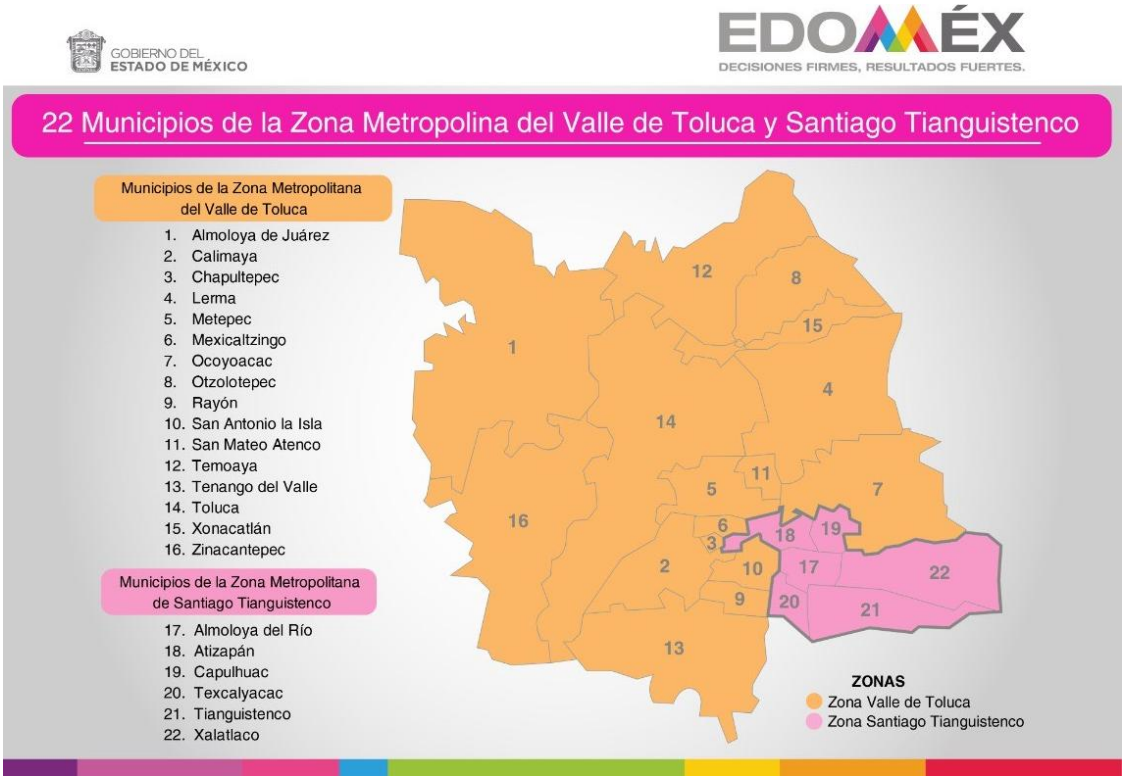


Figura 4 Zona Metropolitana del Valle de Toluca

2. MATERIALES Y METODOS

En la Figura 5, se muestra el diagrama general de las principales etapas que se desarrollaron en la presente investigación.

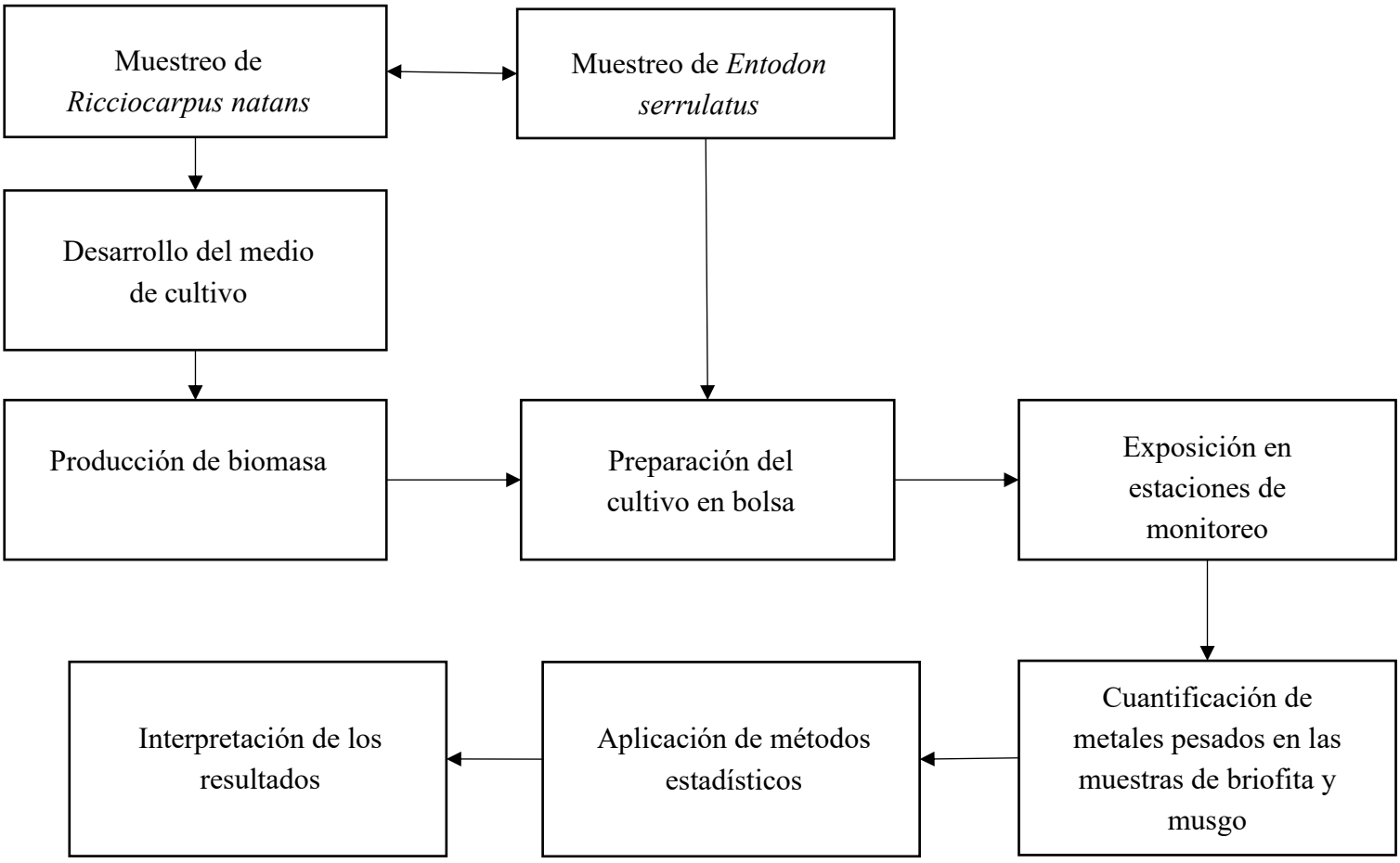


Figura 5 Diagrama de flujo del método

2.1 Muestreo de la briofita acuática *Ricciocarpus natans*

El 22 de agosto del 2022 se muestreo la hepática acuática *Ricciocarpus natans* en el Polígono 1 de las Ciénegas de Lerma, Laguna de Almoloya del Río (19°09'24.6"N 99°29'48.0"W) (Figura 6).

Ricciocarpus natans se encontró flotando libremente en la laguna y para su recolección se empleo un muestreador de plástico en red de 7cm de diámetro. Este se colocó sobre la superficie de la laguna aproximadamente a 50 cm de la orilla. Se colectaron 5 litros de hepática y 5 litros de agua de su hábitat en el mismo punto. Para disminuir el estrés en las hepáticas, se colocaron una semana en una tina junto a una ventana antes de comenzar con la experimentación.

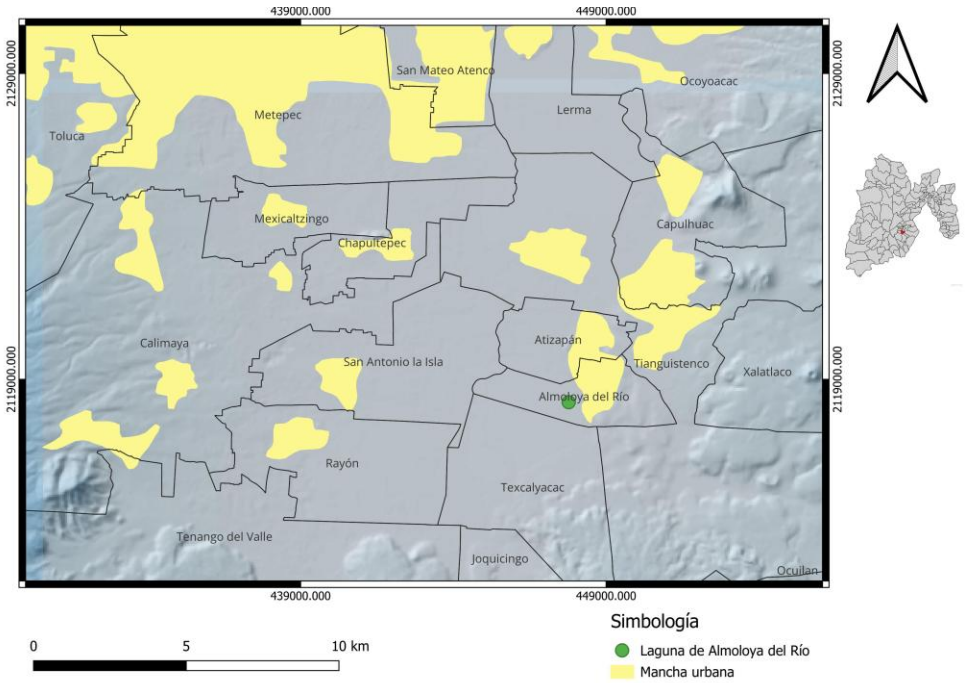


Figura 6 Polígono 1 de las Ciénegas de Lerma, Laguna de Almoloya del Río (19°09'24.6"N 99°29'48.0"W)

2.2 Desarrollo del medio de cultivo para *Ricciocarpus natans*

2.2.1 Medio de cultivo A

El medio de cultivo de referencia empleado para el cultivo de *Ricciocarpus natans* fue el reportado por Lorenzen *et al*., 1981, la composición del medio se encuentra en la Tabla 1 tomando como base de referencia 1L, sin embargo, se modificó y no se le agregó el nitrato de calcio y al EDTA no se le adicionó el hierro.

Las hepáticas se colocaron en un recipiente de plástico de 20 cm de diámetro y a su vez este se colocó dentro de un contenedor de unicel para mantener la temperatura. Para simular las condiciones naturales de luz y temperatura se utilizó un fotoperiodo de 14/10 (luz/oscuridad), en la parte superior de la caja se colocaron 3 focos de 40 W de luz caliente y 2 focos de luz blanca, con esto se alcanzó una temperatura de 29°C. El cultivo se mantuvo con un flujo de CO_2 utilizando una bomba de pecera para garantizar que las burbujas se eleven uniformemente y los talos de la briofita se mantengan en movimiento y sin girar bajo el agua.

Tabla 1Medio Lorenzen et al., 1981

Nombre del compuesto	**Fórmula química**	**Cantidad (g/L)**
Nitrato de potasio	KNO_3	0.0505
Nitrato de calcio tetrahidratado	$Ca(NO_3) \cdot 4H_2O$	0.186
Fosfato monopotásico	KH_2PO_4	0.043
Fosfato dipotásico	K_2HPO_4	0.0139
Sulfato de magnesio heptahidratado	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.0300
EDTA férrico	Fe-EDTA	1 mL

2.2.2 Medio cultivo B

El segundo medio de cultivo se realizo mezclando el medio de cultivo A con agua de su hábitat. En cada matraz se colocó un gramo de peso fresco de *Ricciocarpus natans* y los siguientes volúmenes: 1) 200 mL de medio de cultivo, 2) 100 mL de agua de su hábitat, 3) una mezcla 80/20 de medio de cultivo y agua de su hábitat, 4) una mezcla 50/50 de medio de cultivo y agua de su hábitat y finalmente 5) una mezcla 20/80 de medio de cultivo y agua de su hábitat. Todas estas mezclas se colocarón dentro de una incubadora Heidolph™ Unimax 1010 a una temperatura de 29°C y una agitación de 138 rpm durante 20 días

2.2.3 Medio cultivo C

En un recipiente de plástico se colocaron 2 litros de agua de su hábitat tomada del Polígono 1 de las Ciénegas de Lerma, 2 litros de agua de la llave, 10 hépaticas y aproximadamente 50 gr de tierra de monte comercial, como se muestra en la Figura 7. Para compensar la pérdida de agua por evaporación, cada tercer día se adicionaban agua de la llave hasta la marca de los 2 litros y aproximadamente cada 20 días se agregaba tierra nueva para compensar pérdidas.

Figura 7 Cultivo de *Ricciocarpus natans*

2.4 Muestreo de *Entodon serrulatus*

La especie *Entodon serrulatus* se localizó árboles ubicados en San Jerónimo Acazulco (19°15’47.6” N 99°24’23.6W) y en San José el Llanito, Ameyalco (19°18'33.0" N 99°28'23.4” W), en dónde se realizó el primer muestreo el 11 de marzo del 2022. Las muestras se tomaron de árboles al azar utilizando una barra metálica de 15 cm, colocándolas en bolsas de pástico para para posteriormente realizar su identificación (Figura 8), siguiendo lo correspondiente a la NOM-011-SEMARNAT-1996. En Acazulco se encontró una mayor cantidad de *Entodon serrulatus* por lo que seis meses después se realizo un segundo muestreo en este mismo punto, tomando de nuevo árboles al azar y diferentes al primer muestreo.

La muestra de Entodon se desvitalizón como se describe a continuación antes de someterla a exposición en los puntos de la estación de monitoreo.

Figura 8 Muestreo de *Entodon serrulatus*

La identificación de especies fue realizada por la Dra. Carmen Zepeda Gómez en la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMex), utilizando la Flora de los musgos de México (Zepeda et al., 2024) y el Manual de musgos del Valle de México (Zepeda Gómez, 2024). Los datos sobre las especies *E. serrulatus* y *R. natans* están

disponibles en el Herbario Nacional de México a través de los siguientes enlaces: https://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:BR46428 y https://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:BR24458.

2.5 Desvitalización

Las muestras de la hépatica *Ricciocarpus natans* y el musgo terrestre *Entodon* se limpiaron de manera manual de agentes externos como rocas, ramas y corteza. Posteriormente, ambas muestras se desvitalizaron mediante calentamiento aplicando una rampa de secado en un horno con las temperaturas :50, 80 y 100 °C, cada una mantenida durante 8 horas y de manera continua (Kobuljanovna, 2022). Una vez terminado el proceso de calentamiento las muestras se consideraron desvitalizadas.

2.5 Cultivo en bolsa

Las muestras desvitalizadas se colocaron en bolsas de organza cuadradas de 7.5 x 7.5 cm, con un tamaño de mesh de 2 mm, lavadas previamente con agua destilada y secas a temperatura ambiente por 2 horas antes de colocar las muestras, se realizó el método de cuarteo para homogenizar tanto el musgo como la hépatica y garantizar una muestra representativa que funcionó como blanco (NMX-AA-15-1985). Aproximadamente 1.68 g de muestra de hepática y musgo fueron pesados en una balanza analítica Sartorius BCE224-1S y colocados en cada bolsa, tomando como referencia lo reportado sobre el uso de 30 mg de musgo por cm^2 de superficie disponible en la bolsa (Capozzi *et al.,* 2016), como se observa en la Figura 9.

Figura 9 Bolsas de *Ricciocarpus natans*

2.6 Exposición en estaciones de monitoreo

Según los datos de la red automática de monitoreo de la calidad del aire de la Secretaría del Medio Ambiente del Estado de México, en los últimos 10 años, las $PM_{2.5}$, PM_{10} y el O_3 han sido los principales contaminantes atmosféricos que han mostrado concentraciones superiores a las que se encuentran reguladas por la legislación mexicana en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (Secretaría del Medio Ambiente del Estado de México, 2024).

Para este ensayo se utilizaron las estaciones de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA). En cada estación se colocaron cuatro bolsas con una relación de masa seca/superficie de la bolsa de 30 mg por cm^2 2 mm mesh, se expusieron por duplicado muestras de *Ricciocarpus natans* y *Entodon serrulatus*, se ubicaron a aproximadamente 4 metros de altura y se sujetaron utilizando una barra de madera y con una separación de 5 cm entre cada bolsa. El tiempo de exposición fue de 6 meses para cada exposición. El primero fue del 05 de julio del 2022 al 06 de enero del 2023 dentro del cual coincidió la temporada

de lluvias del 2022; el segundo fue del 06 de enero del 2023 al 18 de julio del 2023 que coincide con la temporada de estiaje.

194-197

Figura 10 Exposición en las estaciones de monitoreo

Las estaciones elegidas fueron:

1. Oxtotitlán: La estación esta ubicada dentro de las instalaciones de la escuela primaria "Carmen Serdán"en la calle Lago Caimanero esquina Laguna de la Asunción (19° 17’ 0.40’’ N 99° 41’ 0.56’’ W).
2. Toluca centro: La estación se encuentra ubicada en el gimnasio "Prof. Guillermo Ortega Vargas" de la UAEMex, en la calle Venustiano Carranza esquina Mariano Matamoros (19° 16’ 41.1’’ N 99° 39’ 23.1’’ W).
3. Metepec: La estación se encuentra en el “Parque Ecológico” ubicado en la calle Manzana #20-A, colonia Izcalli Cuauhtémoc V (19° 16’ 12.7’’N 99° 35’ 42.7’’ W).
4. Ceboruco: La estación se encuentra dentro de las instalaciones de la Preparatoria 5 “Ángel María Garibay Kintana” de la UAEMex (19° 15’ 37.1’’ N 99° 38’ 44.6’’ W).

5. San Mateo Atenco: La estación se encuentra dentro de las instalaciones del tanque elevado de OPDAPAS del Municipio de San Mateo (19° 16’ 49.5’’N 99° 32’ 30.0’’W).
6. Almoloya de Juaréz: La estación se encuentra en la estación de bomberos en la calle Melchor Ocampo 50, Cabecera III Sección 50900 (19° 37’ 07.10’’ N -99° 75’ 26.75’’W).
7. San Cristóbal Huichochitlán: Ubicada en las siguientes coordenadas 19°19´ 38.00´´ N, 99°38´ 03.44´´ W
8. Xonacatlan: Ubicada en Calle 5 de Mayo No. 206, Col. Centro, C.P. 52060, Municipio de Xonacatlán, México. (19°23'57.3" N -99°31'50.0"W)
9. Calimaya: Calle Miguel Hidalgo Sur S/N, Delegación Municipal San Andrés Ocotlán CP 52220, Calimaya, México (19°11’33.70’’ N -99°35’10.17’’W).

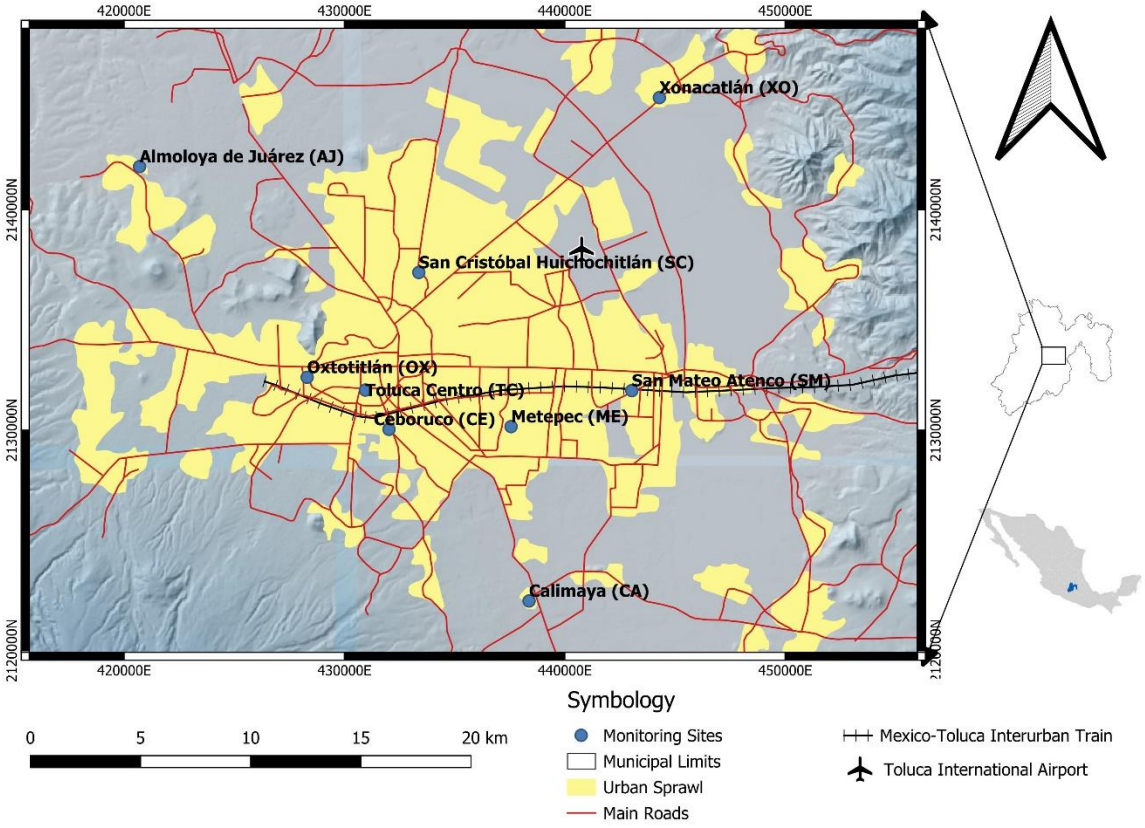


Figura 11 Ubicación de los sitios de muestreo en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca. Mapa creado con el software de acceso abierto QGIS versión 3.34. https://www.qgis.org/

2.7 Cuantificación de los metales pesados en las muestras de briofita y musgo

2.7.1 Caracterización por espectofotometria FTIR

Se analizaron las muestras de *Ricciocarpus natans* y *Entodon* antes y después de su exposición en los puntos de muestreo, las muestras con 6 meses de exposición se molieron de manera mecánica para homogenizarlas antes de su análisis. Se utilizó un espectofotometro FTIR JASCO-4X para identificar los grupos funcionales que posiblemente estén formando enlaces con los metales adsorbidos en los sitios de muestreo.

2.7.2 Análisis termogravimétrico (TGA)

Las muestras de *Ricciocarpus natans* y *Entodon* antes y después de su exposición se caracterizaron mediante análisis termogravimétrico (TGA). Se utilizó un analizador termogravimetrico TA DSC250. Las muestras fueron molidas antes del análisis en un mortero de ágata y sometidas a una rampa de temperatura de 100 a 700°C

2.7.3 Caracterizacion por electroscopia electrónica de barrido (SEM)

Las muestras de *Ricciocarpus natans* y *Entodon serrulatus* se caracterizaron por microscopia electrónica de barrido, con un microscopio JEOL LB 6100. A ambas muestras se les realizo un recubrimiento con oro para mejorar su conductividad. El analisis de las muestras se realizó antes y después de su exposición para analizar los cambios morfológicos en las muestras, estas se molieron de manera mecánica antes de su análisis.

2.7.3 Digestión y lectura de metales pesados por Absorción atómica

Las muestras de *Entodon serrulatus* y *Ricciocarpus natans* se molieron en un triturador mecánico previamente hasta obtener un polvo fino que se tamizó en una malla 200 (74 micras). Para la digestión de las muestras, se pesaron por separado cerca de 0.25 g de muestra,

a cada una se le agregaron 2 mL de agua UP, 5 mL de ácido nítrico (HNO_3) y 1 mL de ácido fluorhídrico (HF), estod dos últimos grados instra.

La digestión se llevo a cabo en un horno de microondas Mars X XM3047, se ejecutó el método de digestión "Musgo OMNI –XP 1500" el cuál consiste en tres etapas, la primera alcanza una temperatura de 200°C y una presión de 240 psi durante 30 min. La segunda consiste en adicionar 15 ml de H_3BO_3 al 4% con el fin de neutralizar el HF, se alcanza una temperatura de 170°C por 20 min y la última etapa es el enfiramiento por 15 minutos. Las muestras digeridas se decantaron en envases de polietileno y se mantuvieron en refrigeración hasta su análisis.

La cuantificación de los metales se realizó en un espectrofotometro de Absorción Atómica (Thermo Scientific GFS), utilizando lámparas de cátodo hueco para cada metal. El Pb se determinó a una longitud de onda de 217 nm, el Cd 228.8 nm, el Cr a 357.9 nm y el Fe a 248.3 nm. Para cada metal se obtuvo de manera previa una curva de calibración, en cada una de ellas se utilizó un rango de concentración por encima del limite de detección del equipo correspondiente a cada metal.

Los límites de cuantificación fueron: Cd = 0.10 mg/L, Pb = 0.20 mg/L, Cr = 0.15 mg/L y Fe = 4.0 mg/L. Se utilizaron curvas de calibración para cada metal en la cuantificación de las muestras de musgo. Para el control de calidad de los análisis, se incluyó el material de referencia certificado IAEA-336 liquen bajo las mismas condiciones que las muestras. Los resultados del análisis del material de referencia IAEA-336 liquen mediante absorción atómica mostraron porcentajes de recuperación de 91.8% para Cd, 94.7% para Cr, 90.1%

para Pb y 109.5% para Fe, lo que indica que la técnica es confiable para los análisis de las bolsas de musgo realizados en este trabajo.

2.8 Enriquecimiento neto (NE)

La acumulación los metales en *Ricciocarpus natans* y *Entodon serrulatus* se calculó como el enriquecimiento neto, el cuál se expresa como la diferencia entre la concentración al final del período de exposición y la concentración inicial en el musgo que correponde a las muestras blanco (García-Seoane *et al.,* 2023).

2.9 Factor de enriquecimiento (EFs)

El factor de enriquecimiento se calculó para evaluar la contribución antropogénica al contenido de metales en *Ricciocarpus natans* y *Entodon serrulatus*. El factor de enriquecimiento se obtuvo utilizando el Fe como metal de referencia deacuerdo a lo propuesto por Printarakul y Meeinkuirt *et al.,* (2022):

$$EF = \frac{C_{moss}/R_{moss}}{C_{soil}/R_{soil}}$$

Donde C es la concentración del elemento y R es la concentración del elemento de referencia (en este caso Fe) en el musgo y el suelo. Los factores de enriquecimiento ≤ 2 indican que no hay enriquecimiento del elemento en los musgos y que el elemento proviene del suelo (conservador); los factores de enriquecimiento entre 3 y 5 se consideran ligeramente enriquecidos; los factores de enriquecimiento entre 6 y 9 se consideran moderadamente

enriquecidos; y los factores de enriquecimiento ≥ 10 se consideran altamente enriquecidos (Zarazúa-Ortega *et al.,* 2013).

2.10 Factor relativo de acumulación (RAFs)

El factor relativo de acumulación se calculó para evaluar la acumulación de metales en *Ricciocarpus natans* y *Entodon serrulatus.* Este factor se determinó mediante la ecuación propuesta por Vuković *et al.* (2015) partiendo del contenido de cada metal, una vez que cada especie de estudio estuvo expuesta ($C_{expuesto}$), restado y dividido por el contenido del metal antes de la exposición ($C_{inicial}$) de cada especie (blanco).

$$RAF = \frac{(C_{expuesto} - C_{inicial})}{C_{inicial}}$$

2.11 Análisis estadístico de los datos.

Se calcularon la media, la desviación estándar y los intervalos de confianza para todos los datos. Se utilizaron las pruebas de Ryan Joiner y Shapiro-Wilk para determinar la normalidad de los datos y se usaron correlaciones de Pearson para explorar posibles asociaciones entre los metales en musgos y hepáticas, así como entre los metales y PM_{10} y $PM_{2.5}$ para los dos períodos de exposición. Se empleó la prueba t de muestras emparejadas para determinar la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre los dos períodos de exposición en *R. natans* y *E. serrulatus*. Además, se utilizó la prueba t de dos muestras para evaluar la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre las dos especies estudiadas. Se realizó un análisis multivariado y un análisis de componentes principales (PCA) para

identificar las variables más importantes que contribuyen a la variabilidad de los datos. Las pruebas estadísticas se realizaron utilizando Minitab® 21.4.1. Todas las pruebas estadísticas se realizaron con un nivel de confianza del 95%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Desarrollo del medio de cultivo para *Ricciocarpus natans*

3.2.1 Medio de cultivo A

Las briofitas colectadas en el muestreo se expusieron al medio de cultivo A, que contiene 0.05 g de KNO_3, en un lapso de 7 días cultivadas en el laboratorio dentro de un contenedor de unicel, después de este tiempo se tornaron de un color blanco-rojizo (Figura 12), lo que indica que las hepáticas no respondieron a las condiciones de cultivo simuladas, por lo tanto, el primer lote del muestreo se perdió y se procedió a un segundo muestreo. Lorenzen *et al.,* 1981 reporta que la pérdida de color en condiciones de laboratorio se debe a una falta de nitrógeno en la solución nutritiva, por lo que se sugiere aumentar la cantidad de nitrato utilizado.

Figura 12 *Ricciocarpus natans* expuesta al medio de cultivo

3.2.2 Medio de cultivo B

Las muestras colectadas se colocaron en el medio de cultivo B, en 5 matraces diferentes se mezclaron medio de cultivo A y agua de su hábitat, el tiempo de exposición de las hépaticas en este medio de cultivo fue de 14 días, en los que no se observaron cambios significativos en la hepática, sin embargo, a partir de los 15 días las muestras *Ricciocarpus* se precipitaron al fondo del matraz, por lo que tampoco fue posible lograr su reproducción en el medio de cultivo B.

Figura 13 Briofitas precipitadas al fondo del matraz

3.2.3 Medio de cultivo C

Las hepáticas colectadas se expusieron a condiciones naturales ambientales en recipientes con una mezcla de 2 litros de agua de su hábitat y 100 g de tierra de monte. En la Figura 14 se observa que después de 8 días de iniciar el cultivo, el numero de briofitas se dupilicó, como se puede observar las especies en crecimiento conservaron su color verde, algunas su

tamaño y se apreciaban los nuevos brotes, cabe mencionar que la tierra se acentó al fondo del contenedro durante este período de tiempo.

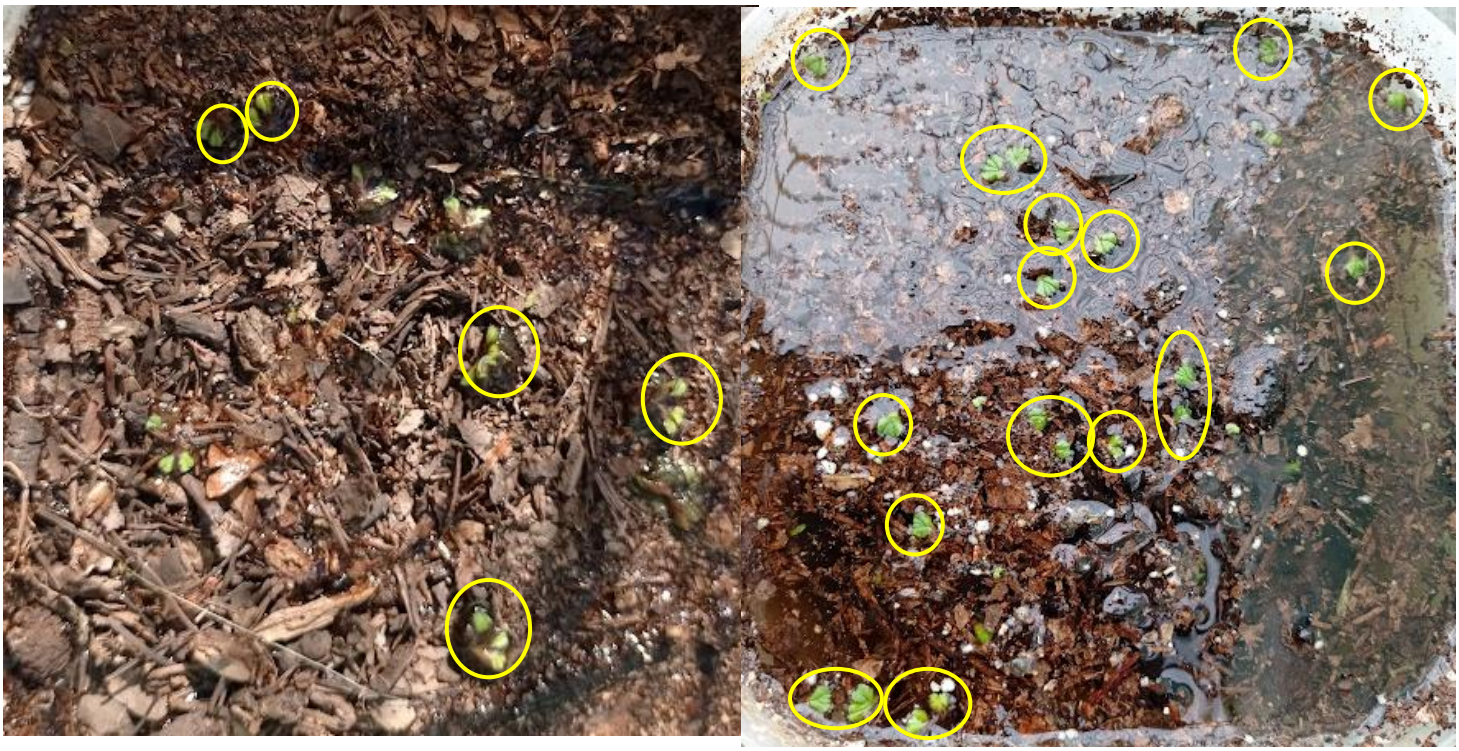


Figura 14 Reproducción de *Ricciocarpus natans*

A los 21 días de exposición de la briofita, se puede observar que las briofitas mantienen su color verde y tamaño, así como se sigue contabilizando un aumento de la población de la especie. Para este día se contaron aproximadamente 44 briofitas, es decir 34 más de las colocadas al inicio. Para asegurar la reproducción de las briofitas, se acondicionó un contenedor más grande en el que se adicionaron 2 litros más de agua y 100 g de tierra de monte, transplantando las briofitas que se tenían hasta el momento. Durante un periodo de dos meses se observó que el número de briofitas mantuvo un crecimiento constante, sin embargo, la reproducción requería una inversión de tiempo grande, por lo que se optó por utilizar las muestras colectadas para realizar la exposición en las estaciones de monitoreo. El

medio de cultivo C propuesto en este trabajo tuvo resultados favorables para aumentar la población de *Ricciocarpus natans,* esto se debe a la presencia de P, Al, K, Na, Mg, S, N, Ca (Vázquez *et al.,* 2012), que son los componentes básicos necesarios del suelo y que en el caso del medio de cultivo C favorecen al crecimiento de la especie.

3.2.3.1 Densidad poblacional

A partir del uso del medio de cultivo C, se calculó la densidad poblacional de *Ricciocarpus natans* para comprobar el aumento en el número de individuos. El cultivo 1 corresponde a 2 litros, a partir del 2, los cultivos se hicieron por duplicado, por lo tanto, los cultivos 2 y 3 corresponden a 7 litros y los cultivos 4 y 5 corresponden a 44 litros.

De manera general se puede observar en la Figura 15 que la población a partir de los 8 días y hasta los 62 aumenta de manera constante y a partir de este día empieza el decrecimiento de la especie, asimismo al aumentar el volumen 6 veces la población se ve afectada ya que a mayor volumen de agua aumenta su velocidad de crecimiento.

Por otro lado, se observa que el cultivo 2 y 3 alcanzan su máximo a los 62 días. En los cultivos 1 y 3, se observa que a partir de los 26 días el crecimiento alcanza una meseta aparente y vuelve a crecer a partir de los 35 días alcanzando su máximo número de especies a los 62 días. Se confirma que el medio de cultivo C es adecuado para la reproducción de la especie *Ricciocarpus natans* y que el volumen afecta la reproducción de la especie bajo condiciones controladas, por lo tanto, para trabajos posteriores si se desea reproducir esta especie, se recomienda comenzar con un volumen de agua de su hábitat pequeño e ir aumentando hasta obtener una reproducción máxima de la especie sin que ello implique utilizar grandes

volúmenes de agua. En este sentido, estos experimentos comprueban que es posible reproducir *Ricciocarpus natans* en condiciones controladas de laboratorio.

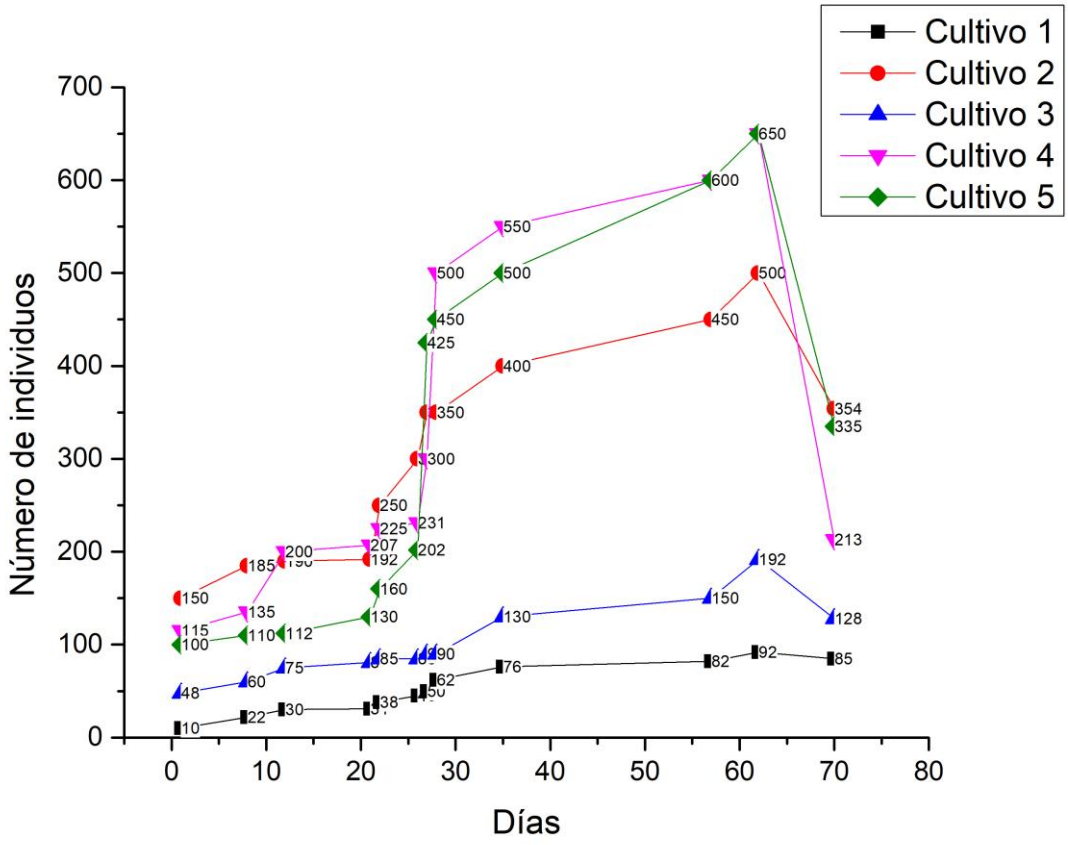


Figura 15 Denidad poblacional de *Ricciocarpus natans*

3.2 Caracterización por espectofotometria FTIR

En la Figura 16 se presenta el FTIR correspondiente a *Ricciocarpus natans* antes y después de 6 meses de exposición, así como la muestra expuesta en el medio de cultivo C. La vibración ubicada en 3279 cm^{-1} corresponde al grupo OH (estiramiento simétrico) del agua presente en la hepática. La banda presente en 2913 cm^{-1} corresponde a C-H (estiramiento) de polisacáridos, lípidos e hidratos de carbono, mientras que en 2857 cm^{-1} se encuentran los

enlaces C-H de la región lipídica. La vibración ubicada en 2160 cm^{-1} corresponde al enlace C≡C (estiramiento), la banda ubicada en 1603 cm^{-1} muestra el estiramiento C=O que corresponde a los lípidos, la vibración ubicada a 1395 cm^{-1} corresponde al estiramiendo C-N de la amida, en 1047 cm^{-1} se puede identificar una señal de C-O-C (estiramiento) de los oligosacáridos, glicoproteínas, carbohidratos y celulosa, finalmente el pico a 598 cm^{-1} corresponde a la absorbancia de hidratos de carbono de bajo peso molecular (Świsłowski et al., 2022; Al–Roos et al., 2019). Los lípidos y proteínas son los grupos que se observan con mayor facilidad porque la mayoría de las bandas están asociadas a ellos. También se puede apreciar que después de la exposición varias bandas cambiaron de intensidad lo que indica que el tiempo que duró la muestra en la estación de monitoreo produce cambios entre la muestra blanco y la expuesta, debido a la interacción de la hepática con el medio ambiente (partículas en el aire, metales, smog, etc.).

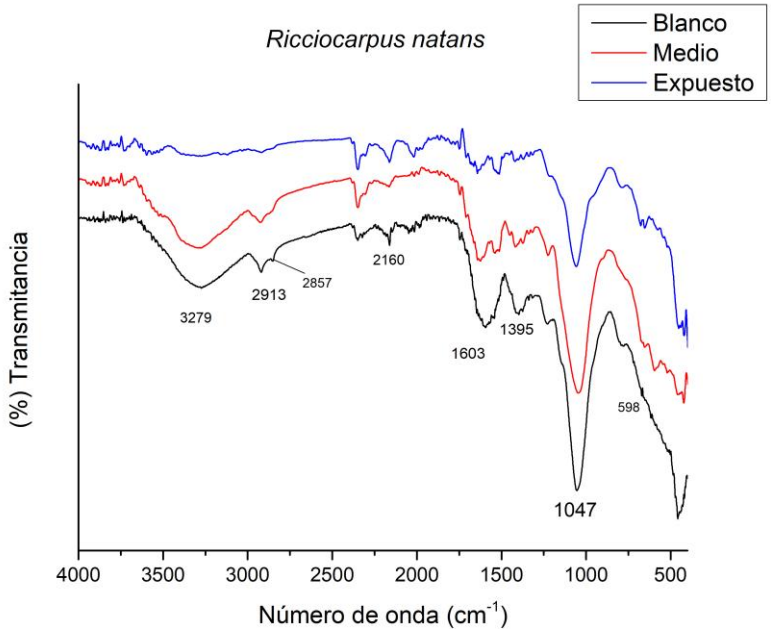


Figura 16 FTIR de *Ricciocarpus natans*

La Figura 17 corresponde al FTIR del musgo *Entodon serrulatus* antes y después de 6 meses de exposición. La banda presente en 3299 cm^{-1} corresponde al grupo OH (estiramiento simétrico) del agua del musgo. La banda ubicada en 2916 cm^{-1} correspode a las vibraciones del estiramiento de C-H de los poliscaridos, lípidos e hidratos de carbono, mientras que en la banda ubicada en 2158 cm^{-1} se encuentran las vibraciones de los enlaces CΞC (stretching), la vibración a 1628 cm^{-1} se atribuye a las amidas (N-H bond), mientras que la banda en 1031 cm^{-1} puede atribuirse al estiramiento de C-O de oligosacáridos, glicoproteínas y celulosa (Świsłowski et al., 2022; Al–Roos et al., 2019).

El tiempo de exposición produce cambios entre la muestra expuesta y el blanco, ya que se puede apreciar un cambio de intensidad en las bandas que corresponden al grupo OH (3299 cm^{-1}) y de las amidas (1628 cm^{-1}).

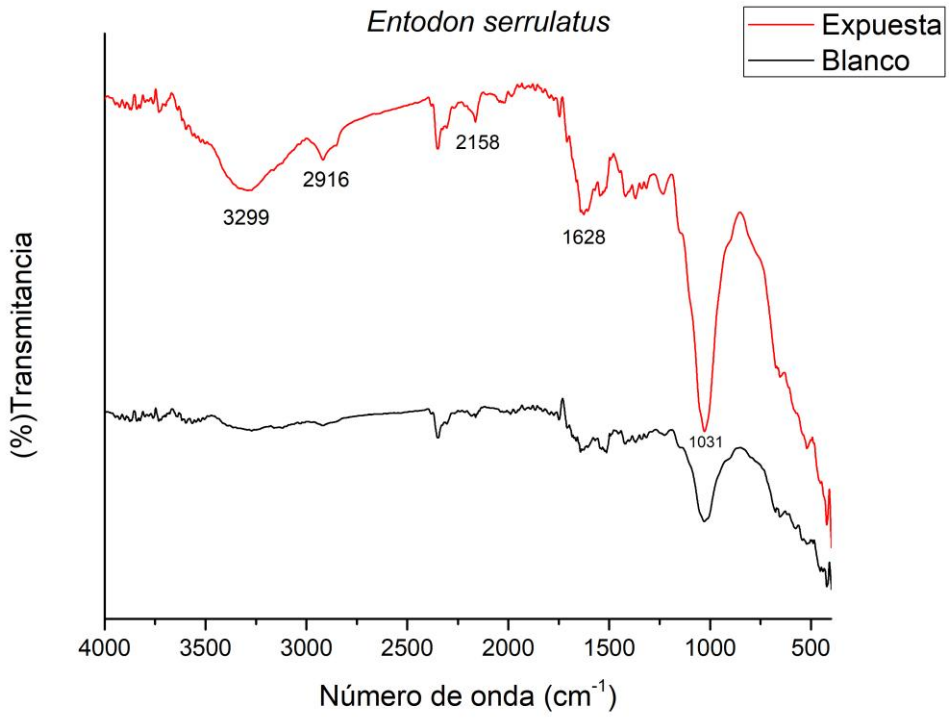


Figura 17 FTIR de *Entodon serrulatus*

Los espectros de FTIR muestran que las bandas que sufren cambios antes y después de la exposición son los correspondientes al grupo OH del agua (3299 cm^{-1} y 3279 cm^{-1}), sin embargo, el comportamiento de la hepática y del musgo son diferentes, *Ricciocarpus natans* al ser expuesta pierde agua y *Entodon* aumenta su cantidad de agua. Esta pérdida de agua se asocia a que, los resultados de microscopia electrónica muestran que *Ricciocarpus natans* que la desvitalización de esta especie generó residuos pequeños de la pared celular (Figura 25), mientras que, la desvitalización de *Entodon* muestra que la pared celular queda menos destruida (Figura 19), lo que se interpreta en este trabajo como un reflejo de la capacidad de ambas especies para retener agua, es decir, la pared celular de *Riccicarpus* al encontrarse más destruida adsorbe y libera con facilidad agua del ambiente, mientras que, la pared celular de *Entodon* al estar menos destruida adsorbe y retiene una mayor cantidad de agua ambiental. Otra de las bandas que se modifica después de su exposición es la correspondiente al estiramiento del enlace de C=O de los lípidos en 1603 cm^{-1} y 1628 cm^{-1}.

La disminución observada en la intensidad de los picos OH/NH puede indicar que estas moléculas tienen interacción con los metales Cd, Cr y Pb detectados. De acuerdo a la literatura (Świsłowski *et al.,* 2022) la pared celular tanto de musgos como de hepáticas presentan grupos funcionales OH en la superficie, y en conjunto con las amidas pueden mostrar un proceso de adsorción de iones metálicos. Los cationes metálicos pueden unirse a la capa superficial mediante intercambio catiónico. Como ya se mencionó antes, las paredes celulares del musgo y de la hepática están compuestas de varias sustancias, entre las que se incluyen oligosacáridos, glicoproteínas, carbohidratos y celulosa, todas ellas pueden estar involucradas en la adsorción de metales. Por lo tanto, según el análisis FTIR, las capas

superficiales del musgo y de la hepática serían las responsables de la adsorción de metales (Świsłowski et al., 2022).

3.3 Análisis termogravimétrico (TGA)

En la Figura 18 se muestra el TGA de *Ricciocarpus natans* antes y después de la exposición en las estaciones de monitoreo. De manera general se puede observar que el comportamiento térmico de ambas curvas es similar, solo presentan una perdida de peso a una temperatura cercana.

La primera etapa a una temperatura de 100°C, en ambas muestras, corresponde a la evaporación del agua ligada o de la húmedad higroscópica, este comportamiento es más notorio en *Ricciocarpus* expuesto que pierde un 8.154% mientras que el blanco solo pierde 7.362%. La segunda etapa a una temperatura de 200 °C a 400°C corresponde a la degradación de la celulosa y de la hemicelulosa, se observa que esta perdida sucede a una temperatura ligeramente mayor en *Ricciocarpus* expuesto perdiendo un 34.329% mientras que el blanco perdió 32.683% (Morales-Quintana *et al.,* 2022). La tercera región se observa a 400°C aproximadamente una pérdida de peso muy suave que se asocia a la descomposición de compuestos aromáticos de la lignina y acidos húmicos (Al–Roos *et al.,* 2019). La diferencia entre las temperaturas de degradación se debe a una descomposición más rápida de la celulosa y hemicelulosa durante el tratamiento térmico de las muestras, se observa que a 100°C se degrada primero la muestra de *Ricciocarpus natans* expuesta, mientras que a 200 y 400°C se descompone primero la muestra blanco de *Ricciocarpus,* lo que implica que la descomposición de la celulosa y hemicelulosa no se puede asociar a la exposición de la muestra.

Ricciocarpus natans pertenece a la familia de las hepáticas o *marchantiophyta,* una de sus características es que estas plantas no controlan la perdida de agua, solo toman a través de sus tallos laminares la cantidad de agua que necesitan para completar su ciclo de vida (Bischler y Jovet-Ast 1981), estas características morfológicas explican las pérdidas de agua de esta especie observadas tanto por FTIR como por TG. Con el comportamiento térmico observado se asume que la morfología de la hepatica puede favorecer tanto la pérdida de agua como la descomposición de la celulosa y hemicelulosa. Por otro lado, se observa que el tiempo de exposición no influye en la velocidad de descomposición de las muestras, ya que, a una mayor degradación de la muestra se observa tanto para la muestra expuesta (200 y 400°C) con un residuo menor, como para la muestra blanco (100°C). Un comportamiento silimar se observó en los resultados de la espectofotometría IR en los que para la muestra *Ricciocarpus* expuesto no se detectó la vibración asociada a los grupos OH derivados de las moléculas de agua. Es importante mencionar que en *Ricciocarpus* expuesto se detectó la presencia de Cd, Cr, Pb y Fe, los cuales pueden estar formando enlaces con los grupos OH, lo que dificulta su detección tanto por FTIR como por TG.

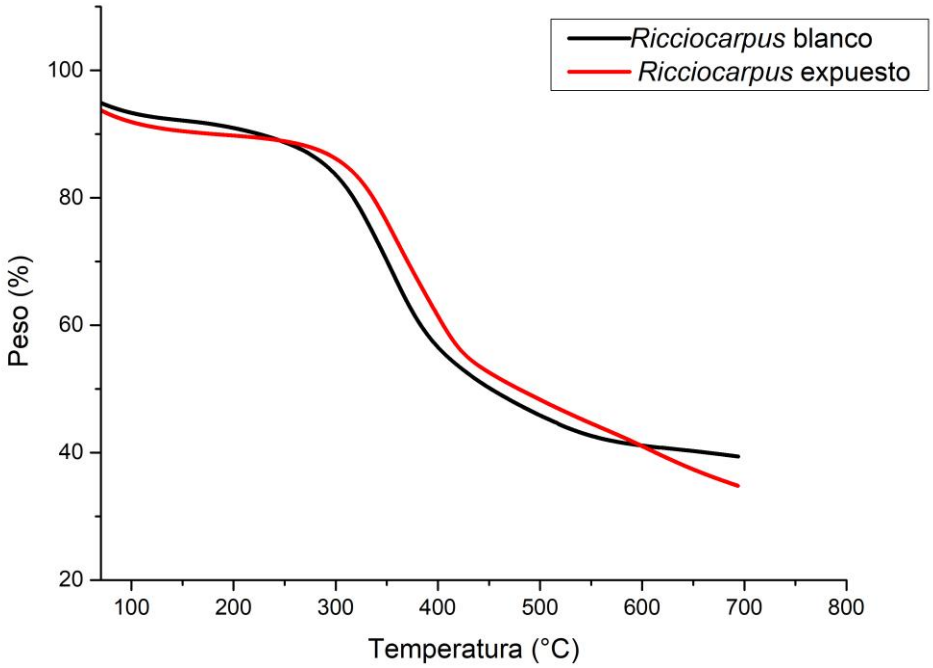
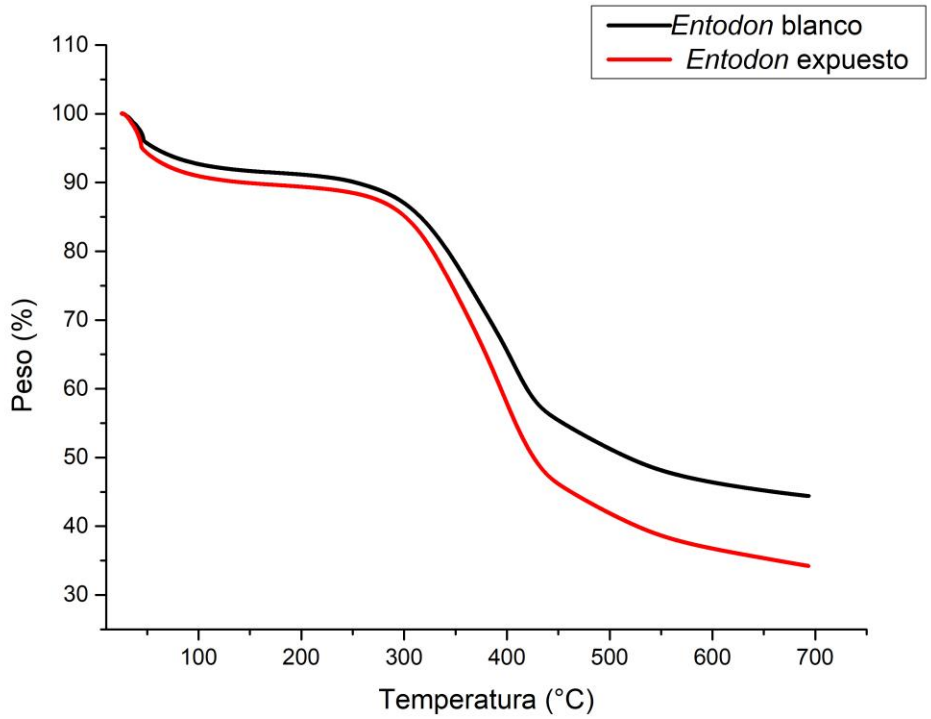


Figura 18 TGA de *Ricciocarpus natans*

En la Figura 19 se muestra el TGA de *Entodon serrulatus* antes y después de la exposición en las estaciones de monitoreo. De manera general se observa que el comportamiento térmico de ambas curvas es similar, solo presentan una perdida de peso a una temperatura cercana. De acuerdo a los resultados obtenidos por espectofotometría IR en los que se observó que la muestra de *Entodon* expuesta presentó una vibración correspondiente a los grupos OH asociados al agua, lo que indicó que esta especie absorbió agua durante su tiempo de exposición. Este resultado se confirma con el análisis TG, en el que se muestra que la primera etapa a una temperatura de 100°C corresponde a la evaporación del agua ligada o de la húmedad higroscopica, siendo la muestra *Entodon* expuesta la que presenta una primera perdida que corresponde a 5.10% en peso correspondiente al agua absorbida, esta perdida no se observa en la muestra *Entodon* blanco. Sin embargo, esta variación de agua continua en

ambas muestras observándose que la muestra *Entodon blanco* pierde 20.12% y *Entodon* expuesto alcanza una perdida de hasta 41.080% que se suma a la primera perdida mencionada, esto concuerda con lo observado para la muestra *Ricciocarpus* en donde la descomposición simultanea de la celulosa y hemicelulosa conduce a una pérdida de peso más rápida en la muestra *Entodon* expuesta. La segunda etapa sucede a una temperatura de 200 °C a 400°C y corresponde a la degradación de la celulosa y de la hemicelulosa, que para la muestra *Entodon* expuesta la perdida sigue siendo mayor con 11.45%, que para *Entodon* blanco con 9.94%. La tercera región a más de 400°C corresponde a los residuos de la pared celular del *Entodon* y a la descomposición de compuestos aromáticos de la lignina y acidos húmicos (Morales-Quintana *et al.,* 2022; Al–Roos *et al.,* 2019) alcanzando un residuo menor para el *Entodon* expuesto.

El tiempo de exposición para el *Entodon* mostró que esta especie absorbe una mayor cantidad de agua que la especie *Ricciocarpus,* sin embargo, en ambas especies se observa que la presencia de metales, partículas suspendidas del aire y el smog pueden afectar el comportamiento térmico de las especies, ya que las curvas que corresponden a las muestras expuestas se descomponen más rápido que las muestras blanco, lo que indicaría la presencia de Cd, Cr, Pb y Fe, los cuales pueden estar formando enlaces con los grupos OH, y además pueden influir en la degradación de la celulosa y hemicelulosa que puede suceder a temperaturas más bajas. Salvo esta diferencia en temperatura el comportamiento térmico general de las muestras de *Ricciocarpus* y *Entodon* expuestas y blancos no muestran diferencias significativas en las curvas correspondientes a cada material.



3.4 Caracterizacion por microscopía electrónica de barrido (SEM)

3.4.1 *Entodon serrulatus*

De acuerdo con la literatura las especies de *Entodon* tienen en común que los esporangios o cápsulas del musgo suelen ser erectos, simétricos y cilíndricos, de paredes finas rectas o ligeramente torcidas lo cual coincide con la morfología observada para esta especie (Zhu *et al.,* 2010). En otra referencia, se menciona que los tallos de *Entodon* son ocasionalmente ascendentes con ramificado irregular y ramas relativamente cortas, de paredes pequeñas y gruesas, y a medida que se acercan al tejido central, estas paredes se hacen cada vez más finas. Las hojas en el tallo y las ramas no se diferencian ya que se encuentran apiñadas o hacinadas entre sí, las células superiores del *Entodon* forman líneas y pueden ser o no flexuosas, pueden ser cuadradas o subcuadradas (más largas que anchas) y son con frecuencia porosas (Renliang, 1983). En la Figura 19 se presentan los resultados de la microscopía

electrónica de barrido, realizada a la muestra blanco de *Entodo*n *serrulatus,* antes de su exposición en las estaciones de monitoreo. Se observa que, la morfología corresponde a una formación cilíndrica regular ascendente en la que se aprecia el desprendimiento de laminas delgadas, tal como se describe en la literatura para las muestras de *Entodon,* en las que las paredes se hacen más delgadas en la parte central de la especie, es decir, durante el proceso de molienda puede quedar al descubierto el centro de la planta que se homogeniza con el resto del musgo, y debido a la dificultad para diferenciar ramas y tallos en el musgo, no se puede describir con certeza a que parte del musgo corresponde la micrografía, sin embargo, con lo que se describe antes, se puede decir que estaríamos viendo un tallo de *Entodon* que no tiene partículas adheridas en la superficie. La espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS) mostró que la hoja del musgo terrestre esta compuesta de: C (54.45%), O (43.12%), lo que confirma que es un material orgánico y que antes de la exposición esta libre de metales pesados. El Si (0.40%) es el componente principal del suelo por lo tanto es un elemento que es común encontrar en muestras que han estado en contacto con el suelo, este silicio sugiere la presencia de silicatos que son difíciles de eliminar con los lavados, no obstante, no suele intervenir en los procesos de aplicación del musgo, mientras que el K (1.03%) y Ca (0.20%) son otros compuestos comunes del suelo.

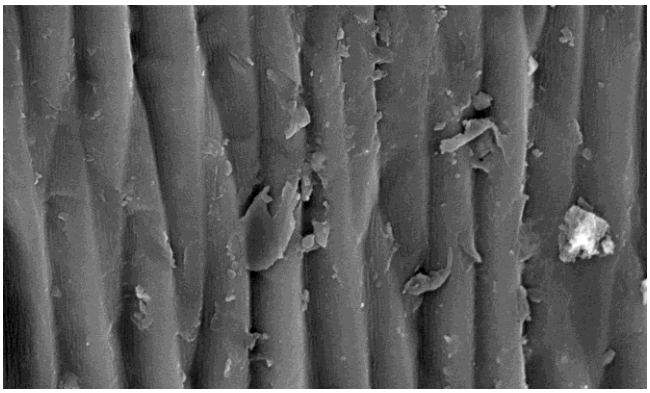


Figura 19 *Entodon serrulatus*, antes de su exposición en las estaciones de monitoreo.

En la Figura 20 se observaron partículas brillantes sobre la superficie de las cápsulas, por lo que se analizaron para confirmar su composición. Los resultados del análisis se presentan en la Tabla 2, se observa que se mantiene la composición anterior con excepción de la presencia de aluminio, potasio y silicio que puede estar asociado a la presencia de aluminosilicatos de sodio o potasio, y el calcio puede estar asociado a la emisión de hidrocarburos refinados como la gasolina, la detección de estas concentraciones es importante porque demuestran la capacidad de *Entodon serrulatus* para para capturar metales con propiedades magnéticas producidos por el trafico pesado circundante en los puntos de muestreo (Varela *et al.,* 2023).

Tabla 2 EDS de la hoja blanco de *Entodon serrulatus*

Elemento	%	%
C	46.04	56.37
O	46.44	38.17
Al	0.53	1.09
Si	4.71	1.48
K	1.52	1.58
Ca	0.76	1.31

.

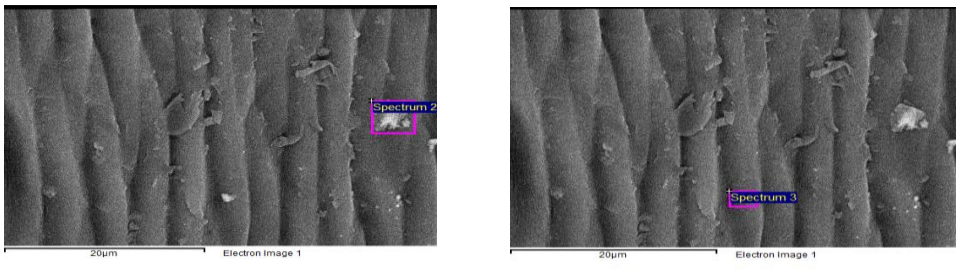


Figura 20 partículas brillantes sobre la superficie de las cápsulas

La muestra de *Entodon* se sometió a molienda y el solido resultante se homogenizo antes de su exposición.. Se observa que esta morfología es completamente diferente a la de la Figura 20, se aprecian formas irregulares y desordenadas que pueden corresponder a las paredes gruesas o delgadas presentes en el *Entodon,* o bien a las células, esporangios o cápsulas, que son algunas de las partes del *Entodon*, asimismo, existen algunas partículas adheridas a la superficie y la presencia de algunos restos de la pared de celular con morfología de poros que, como ya se describió arriba, corresponden a las células del *Entodon*. Las partículas superficiales no tienen ni tamaño, ni formas definidas, aunque por su diferencia en escala de grises, se asueme que su composición es por completo diferente al resto de la muestra. De acuerdo con Zhu *et al.* (2010), el filamento central de la especie *Emtodon* esta ligeramente desarrollado y se compone de varias células que a veces se desintegran en los tallos más viejos dejando un cilindro hueco. La falta de una morfología definida en la Figura 21 puede deberse a que la muestra corresponde a un tallo como el que se describe en la referencia. La espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS) mostró que la composición del tallo es: C (46.07%), O (44.30%), Al (2.24%), Si (4.72%) y Ca (1.20%), confirmando el resultado obtenido en las hojas y corresponden a una muestra orgánica, sin la presencia de metales pesados y como ya se menciono antes, la presencia de algunos silicatos o aluminosilicatos.

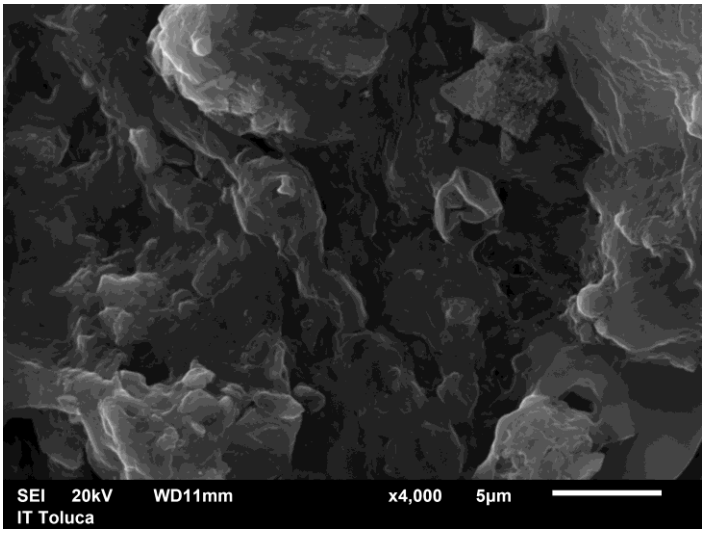


Figura 21 Tallo blanco de *Entodon serrulatus*

De acuerdo, a las observaciones realizadas de acuerdo, a la micrografía, se eligió una partícula esponjosa que se analizó como parte de la superficie de la muestra y sus resultados se indicadan en la Tabla 3. El análisis muestra que la composición sigue siendo la de un compuesto orgánico, ahora con la presencia de Na y Mg, el sodio se asocia a la presencia de aluminosilicatos de sodio, mientras que el magnesio se asocia a partículas de emisión atmosférica provenientes de procesos de manufactura, por otro lado, ambos son iones característicos de las muestras de suelo.

El *Entodon* se obtuvo de árboles ubicados en San Jerónimo Acazulco, esta zona no se encuentra cerca de fuentes antropogénicas que se asocien a la generación de metales pesados, este es el motivo por el que no se detectaron muestras de metales en la especie *Entodon* analizada.

Tabla 3 EDS del tallo blanco de *Entodon serrulatus*

Elemento	%	%
C	44.14	33.37
O	45.09	45.03
Al	1.36	3.91
Si	7.44	10.40
K	0.29	0.64
Ca	0.97	-
Fe	0.72	-
Na	-	0.93
Mg	-	0.91

Los resultados del *Entodon* expuesto en las estaciones de monitoreo se presentan en la Figura 22. De nueva cuenta, se observa que la morfología corresponde a formas capsulares, erectas, simétricas y cilíndricas características de la especie *Entodon*. Después de la exposición de la especie, existe una mayor cantidad de partículas adheridas a la superficie, este resultado muestra que la especie *Entodon* resiste hasta 6 meses de exposición al medio ambiente sin que sufra cambios importantes en su morfología. Respecto a los resultados correspondientes a la composición general: C (53.92%), O (43.52%) y Zn (2.56%), por un lado, se confirma la composición orgánica de la muestra y por otro se destaca la presencia del Zinc, lo que indica que después de la exposición esta especie pudo capturar algunos metales pesados provenientes de las industrias localizadas cerca del lugar de muestreo. Asimismo, el C, O,

Si, Al y Ca se relacionan también con aditivos generados durante la combustión en motores disel. Los puntos de muestreo ubicados en Oxtotitlan, Toluca centro, Metepec y Ceboruco se ubican cerca de calles con un alto flujo vehicular y en particular el punto de muestreo San Mateo se encuentra cerca de diferentes tipos de industrias y expuesta también al funcionamiento de motores a gasolina o disel.

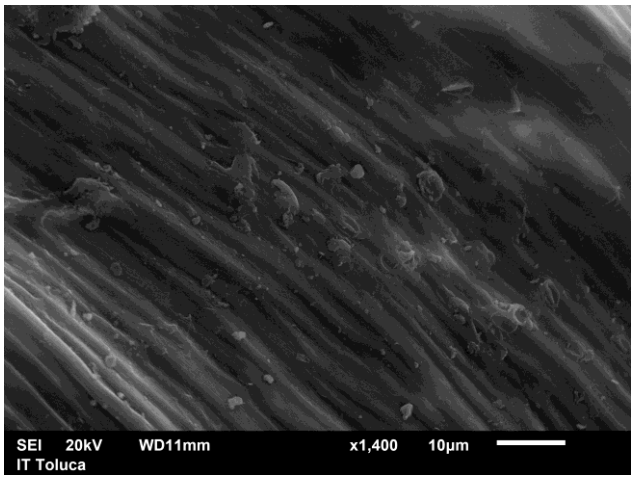
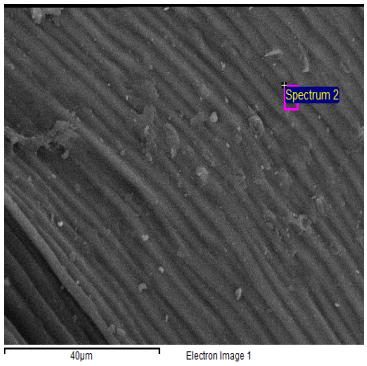


Figura 22 Hoja expuesta de *Entodon serrulatus*

Al igual que para el análisis de la muestra antes de exponerla, para esta muestra se realizó el análisis de partículas superficiales. Los resultados se muestran en la Tabla 4 y se observa que se mantuvieron las características de la muestra, es decir, se confirma la pared orgánica y la presencia de un metal pesado que fue capturado por la especie durante su exposición (Zn). Como ya se menciono antes, los elementos detectados C, O, Al, Si, Ca y Zn se asocian a la presencia de aluminosilicatos, a productos de combustión como gasolina o disel y/o procesos de manufactura en la industria. Los resultados para los metales de interés se realizarán mediante absorción atómica que es una técnica de análisis cuantitativa.

Tabla 4 EDS hoja expuesta de *Entodon serrulatus*

Elemnto	%
C	52.78
O	42.41
Al	0.69
Si	0.93
Ca	0.59
Zn	2.60
	

Al igual que para el blanco, se eligió otra parte de la muestra a simple vista diferente a la primera. La morfología presenta un cambio importante, es decir, ya no se observan las formas cilíndricas y homogéneas que se observaron en las muestras de *Entodon* y que es una característica común en la especie, este cambio en la morfología se asocia a la molienda y exposición de la muestra, en la que ambos procesos pudieron afectar las formas observadas en las muestras anteriores. La falta una morfología definida se asocia a la pérdida de las

paredes gruesas y delgadas del musgo, las cuales dieron lugar a una morfología tipo panal y al igual que en las muestras anteriores, se observa una buena cantidad de partículas adheridas sobre la superficie (Figura 23). Algunas formas tubulares o cilíndricas remanentes se observan en la Figura 23, sin embargo, la morfología principal es a de panal. Con relación a los resultados obtenidas del microanálisis: C (43.60%), O (54.19%), Si (0.58%) y Ca (1.62%), la naturaleza orgánica de la muestra no cambia, se continúa confirmando la falta de metales pesados en el análisis. Como ya se mencionó estos elementos se deben a la presencia de aluminosilicatos, partículas provenientes de procesos de manufactura y combustión de hidrocarburos. Es importante mencionar que de los 6 puntos de muestreo que se tomaron en cuenta para este estudio cuatro estaban expuestos a un alto flujo vehicular, uno de ellos muy cercano a un gran número de industrias y solo uno que es el de Almoloya de Juaréz estuvo menos expuesto a estos dos factores.

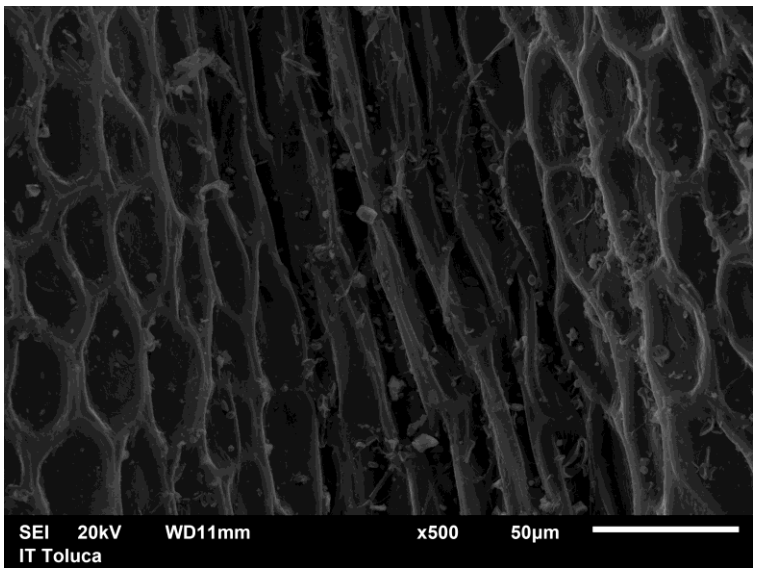


Figura 23 Tallo expuesto de *Entodon serrulatus*

3.4.2 *Ricciocarpus natans*

En la Figura 24 se presentan los resultados de la microscopía electrónica de barrido realizada a la muestra blanco de *Ricciocarpus natans*, la morfología observada no es homogénea. Por un lado, se presentan algunas partículas que se asemejan a vainas, cuerpos que se asocian a la presencia de diatomeas (Loza *et al.,* 2011) y, por ultimo, la superficie parece que se conforma de algunas formas, sin orden, semejantes a listones. No se observa una superficie lisa ni se conserva la estructura en forma de poros que se reportó para la especie *Entodon*. La espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS) mostró que el análisis de *Ricciocarpus natans* arroja que la muestra esta compuesta de C (49.85%), O (42.28%), Cl (0.58%), K (1.16%) y Ca (1.14%), lo que confirma la presencia de un material orgánico y libre de metales pesados antes de su exposición. La presencia de Si (4.14%) corresponde a la pared celular de las diatomeas, ya que esta compuesta de sílice amorfa nanoestructurada (SiO_2) (Heredia *et al.,* 2008).

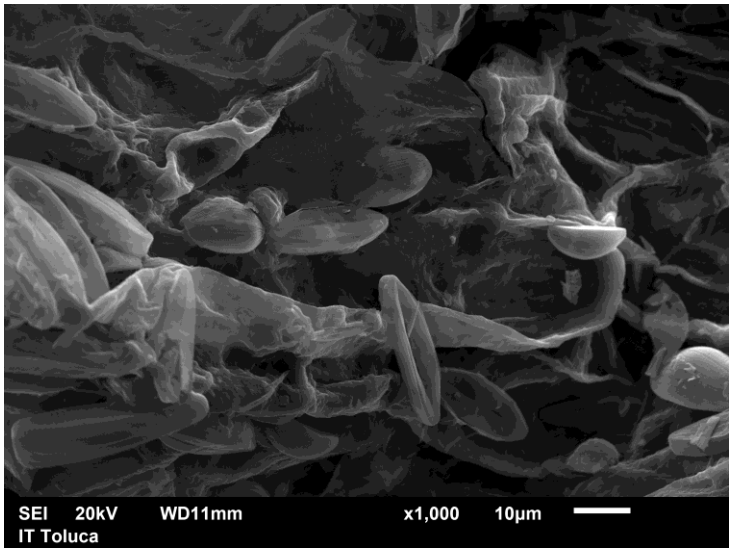


Figura 24 Muestra blanco de *Ricciocarpus natans*

La exposición de la muestra de *Ricciocarpus natans* durante 6 meses, muestra que este tiempo fue suficiente para cambiar por completo la morfología de la muestra debido a su exposición a condiciones ambientales. Las formas que se observan son homogéneas en cuanto a que no hay una forma definida, no obstante, la superficie es por completo diferente a la muestra antes de ser expuesta, por ejemplo, no es posible observar la presencia de diatomeas sobre la superficie (Figura 25). El cambio morfologico se debe a que la muestra se expuso al sol, al viento y a los factores ambientales propios del sitio de muestreo. Referente al análisis semi cuantitativo de la muestra, se obtuvieron: C (49.04%), O (45.17%), Al (0.36%), Si (4.16%), K (0.25%), Ca (0.52%) y Mn (1.99%). Es importante destacar que la muestra mantuvo su carácter orgánico, sin embargo, se detecto la presencia de Mn que es catalogado como un metal pesado, por lo que la exposición de *Ricciocarpus natans* dio como resultado la posible captura de metales pesados en la estructura de la especie.

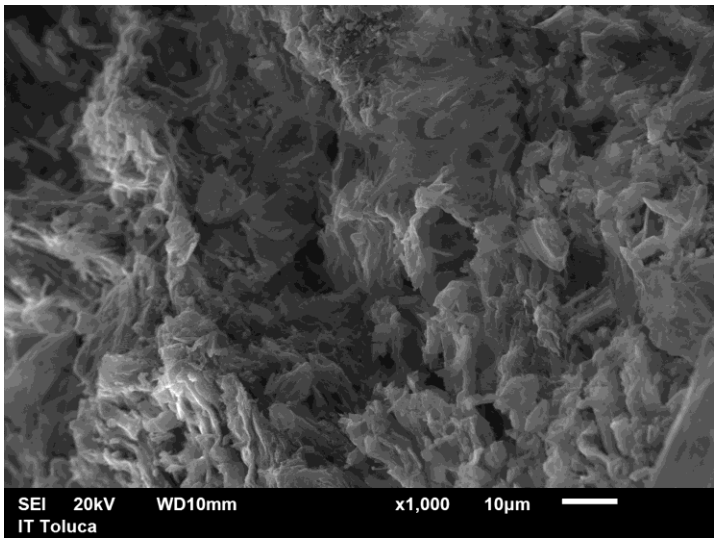


Figura 25 Muestra expuesta de *Ricciocarpus natans*

Cabe señalar que la especie *Ricciocarpus* logró reproducirse en condiciones de laboratorio, utilizando el medio de cultivo C. Se realizó un análisis morfologico de estas muestras y se observó que, al igual que la muestra blanco, la superficie de esta hepática no presenta una forma homogénea, se observa la presencia de panales que parecen destruidos, a diferencia de la muestra blanco, aquí las vainas expuestas tienen una forma mas ovalada y, al igual que en la muestra blanco, se detecta la presencia de diatomeas. Los resultados que corresponden al microanálisis para la Figura 26 a fueron: C (42.41%), O (47.56%), Na (1.24%), Mg (2.44%), lo que confirma que es un material orgánico, igual que el blanco, y la presencia del Si (1.19%) se asocia a las diatomeas observadas. Asimismo, en esta muestra se registran resultados para el S (2.60%) y K (0.69%), los cuales están asociados a la composición del suelo, que es uno de los compuestos que se adicionaron al medio de cultivo C.

En cuanto al análisis de composición para la morfología observada en la Figura 26 b, los resultados fueron: C (51.91%), O (41.55%), Na (0.73%), Mg (1.23%), Si (1.10%), S (1.27%), Cl (0.31%), K (0.53%), lo que confirma la naturaleza orgánica de la muestra. Sin embargo, se realizó un análisis puntual de las vainas y los resultados muestran: C (22.50%), O (42.02%), Mg (2.23%), S (5.31%), K (0.92%), Ca (12.31%), Mn (0.58%), Zn (1.92%) y Ba (12.21%). Cabe destacar que esta muestra no fue expuesta en sitio, sin embargo, se detectan los mismos compuestos mencionados en las muestras anteriores, entre los que están los aluminosilicatos, silicatos y particulas derivadas de otras actividades antropogénicas, de las que se deriva la presencia de Zn y Ba.

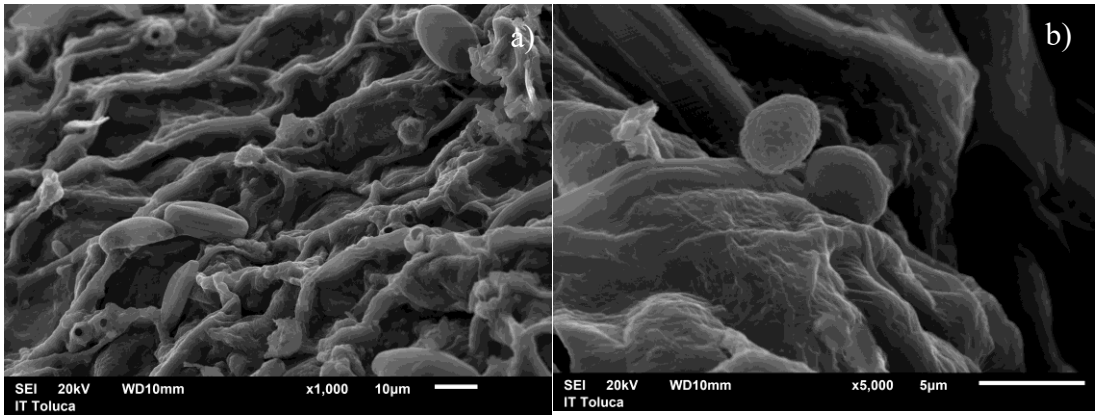


Figura 26 Muestra de *Ricciocarpus natans* en el medio de cultivo c

Como resultado de la cuantificación de los metales de interés, se logró medir Cd, Cr, Pb y también se cuantificó Fe utilizado para calcular el factor de enriquecimiento. El cromo se asocia a las actividades industriales cercanas a los puntos de muestreo, enfocadas en su mayoría a prevenir los procesos de oxidación en materiales metálicos, y al trafico vehicular y ferroviario por la combustión de los motores disel y de gasolina. El plomo se relaciona con las emisiones debidas a la combustión de hidrocarburos, de las que destaca la combustión de motores a gasolina y el funcionamiento de estaciones eléctricas muy viejas, las cuales emiten partículas al medio ambiente. El cadmio puede asociarse a las actividades antropogénicas que ya se mencionaron. Y finalmente, el hierro proviene de actividades de manufactura y manipulación de acero, además de las emisiones de la combustión de hidrocarburos (Gallego-Cartagena *et al.,* 2021)

3.5 Caracterización del contenido elemental en muestras de musgo.

Las Tablas 5 y 6 muestran los enriquecimientos netos obtenidos de las bolsas de musgo de *R. natans* y *E. serrulatus* en los dos periodos de exposición y en los 9 sitios de monitoreo.

En ambos casos, el Pb presenta el mayor enriquecimiento neto promedio con 41.16 y 37.51 mg Kg^{-1} para la hepática acuática y 69.86 y 67.03 mg Kg^{-1} para el musgo en el primer y segundo periodo de exposición, respectivamente, seguido por Cr con 4.87 y 11.03 mg Kg^{-1} para la hepática acuática y 9.67 y 17.53 mg Kg^{-1} para el musgo durante el primer y segundo periodo de exposición, respectivamente, y finalmente Cd con 0.81 y 0.99 mg Kg^{-1} para la hepática acuática y 0.52 y 0.83 mg Kg^{-1} para el musgo en el primer y segundo periodo de exposición, respectivamente. En cuanto a los sitios de monitoreo en las bolsas de musgo de *R. natans* presentan el siguiente enriquecimiento neto promedio: 5-SM (40.98 y 29.35 mg Kg^{-1}) > 3-ME (20.44 y 36.38 mg Kg^{-1}) > 8-XO (33.97 y 14.45 mg Kg^{-1}) > 7-SC (12.23 y 15.00 mg Kg^{-1}) > 1-OX (9.88 y 15.65 mg Kg^{-1}) > 4-CE (7.82 y 13.82 mg Kg^{-1}) > 2-TC (6.79 y 13.36 mg Kg^{-1}) > 9-CA (6.36 y 5.68 mg Kg^{-1}) > 6-AJ (2.03 y 4.89 mg Kg^{-1}), donde el primer dato corresponde al primer periodo de exposición y el segundo dato al segundo periodo de exposición, dentro del paréntesis. Asimismo, los mayores enriquecimientos netos de Cd se presentan en el sitio 2-TC (2.58 y 2.29 mg Kg^{-1}), de Cr en el sitio 5-SM (8.29 y 13.74 mg Kg^{-1}) y de Pb en el sitio 5-SM (114.3 y 73.44 mg Kg^{-1}) durante el primer y segundo periodo de exposición, respectivamente. Además, es importante destacar que aunque el Fe fue analizado para ser utilizado como elemento de referencia, los valores más altos también se presentan en el sitio 5-SM con valores de 13,397 y 10,340 mg Kg^{-1} para el primer y segundo periodo de exposición, respectivamente.

Por otro lado, los sitios de monitoreo de las bolsas de musgo de *E. serrulatus* presentaron el siguiente orden de enriquecimiento neto promedio: 1-OX (15.10 y 70.12 mg Kg^{-1}) > 7-SC (47.73 y 24.91 mg Kg^{-1}) > 5-SM (53.66 y 13.44 mg Kg^{-1}) > 3-ME (38.68 y 26.16 mg Kg^{-1}) > 8-XO (36.03 y 28.06 mg Kg^{-1}) > 4-CE (12.17 y 26.54 mg Kg^{-1}) > 9-CA (15.07 y 18.77 mg

Kg^{-1}) > 6-AJ (9.36 y 23.51 mg Kg^{-1}) > 2-TC (12.38 y 20.25 mg Kg^{-1}). Asimismo, los mayores enriquecimientos netos de Cd se presentan en los sitios 4-CE y 1-OX (1.26 y 1.02 mg Kg^{-1} en el segundo periodo de exposición, respectivamente), de Cr en los sitios 1-OX y 8-XO (26.43 y 21.09 mg Kg^{-1}) durante el segundo periodo de exposición, respectivamente y de Pb en los sitios 1-OX y 5-SM (182.9 y 149.0 mg Kg^{-1}) durante el segundo y primer periodo de exposición, respectivamente. Además, los valores más altos de Fe también se presentan en los sitios 6-AJ y 5-SM con valores de 7,192 y 6,631 mg Kg^{-1} para el segundo período de exposición. Durante los dos períodos de 6 meses de exposición de las bolsas de musgo, los incrementos netos promedio de Cd, Cr, Pb y Fe en el hepático acuático *R. natans* y el musgo terrestre *E. serrulatus* estuvieron en el rango de otros sitios urbanos (Vuković et al., 2016; Gallego-Cartagena et al., 2021; Mao et al., 2022) y fueron similares a los obtenidos con el musgo L. *angustata* en la misma área de estudio (Macedo-Miranda et al; 2016).

Tabla 5 Enriquecimientos netos obtenidos para las bolsas de musgo de *R. natans* en los dos periodos de exposición. Concentraciones en mg kg^{-1} p.s., ± desviaciones estándar.

Sitio	Cd		Cr		Pb		Fe		Promedio **
	1*	2*	1*	2*	1*	2*	1*	2*	
1. OX	0.50 ± 0.09	0.74 ± 0.06	4.93 ± 0.86	11.90 ± 2.30	24.22 ± 5.61	34.30 ± 7.35	2,891 ± 615	1,527 ± 125	**9.88** **15.65**
2. TC	2.58 ± 0.41	2.29 ± 0.44	4.09 ± 1.01	9.76 ± 2.03	13.70 ± 2.51	28.03 ± 6.37	7,983 ± 1,495	1,233 ± 223	**6.79** **13.36**
3. ME	1.15 ± 0.31	0.94 ± 0.22	3.98 ± 0.97	14.38 ± 0.53	56.20 ± 16.17	93.82 ± 16.34	1,155 ± 308	1,041 ± 293	**20.44** **36.38**
4. CE	0.90 ± 0.24	0.80 ± 0.09	5.26 ± 1.17	12.16 ± 3.07	17.29 ± 2.75	28.51 ± 7.24	1,777 ± 321	5,304 ± 450	**7.82** **13.82**
5. SM	0.36 ± 0.12	0.88 ± 0.21	8.29 ± 2.02	13.74 ± 2.33	114.3 ± 29.7	73.44 ± 14.91	13,397 ± 1,724	10,340 ± 1,343	**40.98** **29.35**
6. AJ	0.41 ± 0.05	0.71 ± 0.19	4.43 ± 1.25	6.73 ± 0.21	1.26 ± 0.28	7.24 ± 1.95	1,513 ± 358	7,369 ± 288	**2.03** **4.89**
7. SC	0.47 ± 0.06	0.89 ± 0.19	5.12 ± 0.92	13.20 ± 1.99	31.10 ± 5.16	30.90 ± 6.10	1,904 ± 216	4,740 ± 520	**12.23** **15.00**
8. XO	0.51 ± 0.09	0.92 ± 0.15	4.23 ± 0.85	10.61 ± 2.13	97.17 ± 10.28	31.82 ± 5.94	12,078 ± 1250	5,106 ± 367	**33.97** **14.45**
9. CA	0.38 ± 0.07	0.70 ± 0.18	3.50 ± 0.72	6.80 ± 1.16	15.19 ± 1.33	9.53 ± 1.87	2,310 ± 315	1,785 ± 230	**6.36** **5.68**
Promedio	**0.81**	**0.99**	**4.87**	**11.03**	**41.16**	**37.51**	**5,001**	**4,272**	

1* o 2* = 1er o 2do Período de Exposición

** El valor promedio se calculó sin el valor de Fe.

Tabla 6 Enriquecimientos netos obtenidos para las bolsas de musgo *E. serrulatus* en los dos períodos de exposición. Concentraciones en mg kg^{-1} p.s., ± desviaciones estándar.

Sitio	Cd		Cr		Pb		Fe		Promedio**
	1*	2*	1*	2*	1*	2*	1*	2*	
1. OX	0.30 ± 0.042	1.02 ± 0.35	5.13 ± 1.04	26.43 ± 3.98	39.77 ± 7.42	182.9 ± 35.9	1,636 ± 369	3,679 ± 483	**15.10** **70.12**
2. TC	0.60 ± 0.14	0.63 ± 0.12	9.61 ± 1.91	18.21 ± 4.27	26.93 ± 4.17	41.90 ± 10.02	2,998 ± 894	1,772 ± 385	**12.38** **20.25**
3. ME	0.75 ± 0.23	0.87 ± 0.10	13.28 ± 2.69	17.18 ± 4.41	102.0 ± 23.31	60.44 ± 12.10	1,228 ± 484	2,534 ± 526	**38.68** **26.16**
4. CE	0.52 ± 0.06	1.26 ± 0.13	6.98 ± 0.67	19.23 ± 1.54	29.01 ± 4.77	59.14 ± 15.16	5,906 ± 343	1,038 ± 273	**12.17** **26.54**
5. SM	0.50 ± 0.19	0.68 ± 0.20	11.47 ± 2.46	14.74 ± 0.76	149.0 ± 26.52	38.05 ± 8.60	5,335 ± 1,055	6,631 ± 154	**53.66** **13.44**
6. AJ	0.37 ± 0.10	0.74 ± 0.13	9.76 ± 0.49	11.46 ± 2.10	17.91 ± 2.80	58.33 ± 13.32	3,639 ± 823	7,192 ± 949	**9.36** **23.51**
7. SC	0.62 ± 0.11	0.73 ± 0.11	10.56 ± 1.76	17.12 ± 2.78	132.0 ± 16.5	56.89 ± 9.12	4,562 ± 765	4,323 ± 562	**47.73** **24.91**
8. XO	0.55 ± 0.08	0.82 ± 0.14	10.42 ± 2.06	21.09 ± 1.74	97.13 ± 18.10	62.27 ± 7.23	5,778 ± 487	6,300 ± 479	**36.03** **28.06**
9. CA	0.48 ± 0.05	0.69 ± 0.09	9.78 ± 1.17	12.30 ± 0.98	34.95 ± 9.67	43.31 ± 7.57	3,910 ± 410	2,521 ± 245	**15.07** **18.77**
Promedio	**0.52**	**0.83**	**9.67**	**17.53**	**69.86**	**67.03**	**3,888**	**3,999**	

1* o 2* = 1er o 2do Período de Exposición

** El valor promedio se calculó sin el valor de Fe.

Tabla 7 y 8 presentan los factores de acumulación relativa (RAF) para *R. natans* y E. *serrulatus* respectivamente. La Tabla 7 muestra que el Pb es el metal que más se acumula en la hepática acuática, con un factor promedio de 3.3 y 3.0. Le sigue el Cr con un RAF de 1.8 y 4.2. Cabe destacar que el Cr en el segundo período de exposición es el metal que mostró un mayor factor de acumulación relativa por esta especie, seguido del Cd con valores de acumulación de 2.1 y 2.5, y finalmente el Fe es el metal que mostró los valores más bajos de factor de acumulación con valores de 0.5 y 0.4 para el primer y segundo período de exposición, respectivamente. En cuanto a los sitios de monitoreo, los que tienen los promedios más altos son 5-SM con 4.4, 3-ME con 3.0 y 5.1, y 2-TC con 3.1 y 3.9 para el primer y segundo período de exposición, respectivamente, y los que tienen los RAFs promedio más bajos son 6-AJ con 0.9 y 1.7, y 9-CA con 1.2 y 1.7 para el primer y segundo período de exposición, respectivamente. La Tabla 8 muestra el mismo comportamiento de acumulación en musgo terrestre que en musgo hepático acuático, donde el Pb muestra RAFs promedio de 8.8 y 8.5, valores de Cr de 1.2 y 2.2, valores de Cd de 0.9 y 1.4, y valores de Fe de 0.4 para el primer y segundo período de exposición, respectivamente. En relación con los sitios de monitoreo, aquellos con el promedio más alto son 1-OX con 2.1 y 9.4, 7-SC con 6.3 y 3.5, y 5-SM con 7.0 y 2.6 para el primer y segundo período de exposición, respectivamente, y los que tienen los RAFs promedio más bajos son 6-AJ con 1.4 y 3.3, y 9-CA con 2.1 y 2.7 para el primer y segundo período de exposición, respectivamente. Los valores de RAF en este trabajo están a niveles similares a los reportados para otros musgos usando la técnica de bolsas de musgo en áreas urbanas (Macedo-Miranda et al., 2024; Sýkorová et al., 2016; Ilieva-Makulec et al., 2016; Aničić et al., 2023 y Vuković et al., 2016).

Tabla 7 Factores de acumulación relativa (RAF) para las bolsas de musgo de *R. natans*.

Sitio	Cd		Cr		Pb		Fe		Promedio**
	1*	2*	1*	2*	1*	2*	1*	2*	
1. OX	1.3	1.9	1.9	4.5	1.9	2.7	0.3	0.1	**1.7** **3.0**
2. TC	6.6	5.9	1.5	3.7	1.1	2.2	0.8	0.1	**3.1** **3.9**
3. ME	3.0	2.4	1.5	5.4	4.5	7.5	0.1	0.1	**3.0** **5.1**
4. CE	2.3	2.1	2.0	4.6	1.4	2.3	0.2	0.5	**1.9** **3.0**
5. SM	0.9	2.3	3.1	5.2	9.1	5.8	1.3	1.0	**4.4** **4.4**
6. AJ	1.1	1.8	1.7	2.5	0.1	0.6	0.1	0.7	**0.9** **1.7**
7. SC	1.2	2.3	1.9	5.0	2.5	2.5	0.2	0.5	**1.9** **3.2**
8. XO	1.3	2.4	1.6	4.0	7.7	2.5	1.1	0.5	**3.5** **3.0**
9. CA	1.0	1.8	1.3	2.6	1.2	0.8	0.2	0.2	**1.2** **1.7**
Promedio	**2.1**	**2.5**	**1.8**	**4.2**	**3.3**	**3.0**	**0.5**	**0.4**	

1* o 2* = 1er o 2do Período de Exposición

** El valor promedio se calculó sin el valor de Fe.

Tabla 8 Relative accumulation factors (RAF) for *E. serrulatus* moss bags.

Sitio	Cd		Cr		Pb		Fe		Promedio**
	1*	2*	1*	2*	1*	2*	1*	2*	
1. OX	0.5	1.7	0.6	3.3	5.0	23	0.2	0.3	**2.1** **9.4**
2. TC	1.0	1.1	1.2	2.2	3.4	5.3	0.3	0.2	**1.9** **2.9**
3. ME	1.3	1.5	1.6	2.1	12.9	7.6	0.1	0.2	**5.3** **3.7**
4. CE	0.9	2.1	0.9	2.4	3.7	7.5	0.5	0.1	**1.8** **4.0**
5. SM	0.8	1.1	1.4	1.8	18.8	4.8	0.5	0.6	**7.0** **2.6**
6. AJ	0.6	1.2	1.2	1.4	2.3	7.4	0.3	0.7	**1.4** **3.3**
7. SC	1.0	1.2	1.3	2.1	16.7	7.2	0.4	0.4	**6.3** **3.5**
8. XO	0.9	1.4	1.3	2.6	12.3	7.9	0.5	0.6	**4.8** **3.9**
9. CA	0.8	1.2	1.2	1.5	4.4	5.5	0.4	0.2	**2.1** **2.7**
Promedio	**0.9**	**1.4**	**1.2**	**2.2**	**8.8**	**8.5**	**0.4**	**0.4**	

1* o 2* = 1er o 2do Período de Exposición

** El valor promedio se calculó sin el valor de Fe.

Tabla 9 y 10 presentan los resultados de los factores de enriquecimiento en *R. natans* y *E. serrulatus*. La Tabla 9 muestra que, a diferencia de los RAF, el Cd es el metal con los valores promedio más altos en *R. natans* con 96 y 139, seguido por Pb con 9.7 y 14.8 y Cr con 0.9 y 2.2 para el primer y segundo periodo de exposición, respectivamente. En cuanto a los sitios de muestreo, se observa que los sitios 3-ME con 110 y 114 y 2-TC con 32 y 187 para el primer y segundo periodo de exposición, respectivamente, son los sitios con los EFs más altos, mientras que los sitios 5-SM con 5.0 y 10.3 y 6-AJ con 27 y 9.7 para el primer y segundo muestreo, respectivamente, son los sitios con los EFs más bajos. La Tabla 10 muestra que en el caso de *E. serrulatus*, los valores más altos de EFs son para Cd con 53 y 96, seguido por Pb con 18.6 y 24.1 y Cr con 1.6 y 3.1 para el primer y segundo periodo de exposición, respectivamente. En relación con los sitios de muestreo, los sitios 4-EC con 10 y 135 y 3-ME con 83 y 41 para el primer y segundo periodo de exposición, respectivamente, son los sitios con los valores más altos de EFs, y los sitios con los EFs más bajos son 6-AJ con 11.6 y 12.4 y 5-SM con 16.9 y 11.8 para el primer y segundo periodo de exposición, respectivamente. Es importante destacar que el Cd es el metal que más contribuye a los valores promedio de los EFs, por lo que los sitios con los promedios más altos de EFs son los que muestran los valores más bajos de RAFs y viceversa.

Tabla 9 Factores de enriquecimiento (EF) para las bolsas de musgo de *R. natans*

Sitio	Cd		Cr		Pb		Promedio**
	1*	2*	1*	2*	1*	2*	
1. OX	50		0.8		6.7		**19.2**
		141		3.6		18.0	**54**
2. TC	94		0.2		1.4		**32**
		539		3.7		18.2	**187**
3. ME	289		1.6		39		**110**
		262		6.5		72	**114**
4. CE	147		1.4		7.8		**52**
		44		1.1		4.3	**16.4**
5. SM	7.8		0.3		6.8		**5.0**
		25		0.6		5.7	**10.3**
6. AJ	79		1.4		0.7		**27**
		28		0.4		0.8	**9.7**
7. SC	72		1.3		13.1		**29**
		55		1.3		5.2	**20**
8. XO	78		0.2		6.4		**28**
		52		1.0		5.0	**19.4**
9. CA	48		0.7		5.3		**17.9**
		113		1.8		4.3	**40**
Promedio	**96**	**139**	**0.9**	**2.2**	**9.7**	**14.8**	

1* o 2* = 1er o 2do Período de Exposición

** El valor promedio se calculó sin el valor de Fe.

Tabla 10 Factores de enriquecimiento (EF) para las bolsas de musgo *de E. serrulatus*

Sitio	Cd		Cr		Pb		Promedio**
	1*	2*	1*	2*	1*	2*	
1. OX	53		1.5		19.5		**25**
		80		3.4		89	**58**
2. TC	58		1.5		7.2		**22**
		103		4.8		19.7	**43**
3. ME	177		5.1		67		**83**
		100		3.2		19.1	**41**
4. CE	26		0.6		3.9		**10.0**
		352		8.7		46	**135**
5. SM	27		1.0		22		**16.9**
		30		1.0		4.6	**11.8**
6. AJ	30		1.3		3.9		**11.6**
		30		0.7		6.5	**12.4**
7. SC	39		1.1		23		**21**
		49		1.9		10.5	**20**
8. XO	28		0.8		13.5		**14.0**
		38		1.6		7.9	**15.8**
9. CA	36		1.2		7.2		**14.7**
		79		2.3		13.8	**32**
Promedio	**53**	**96**	**1.6**	**3.1**	**18.6**	**24.1**	

1* o 2* = 1er o 2do Período de Exposición

** El valor promedio se calculó sin el valor de Fe.

Los valores de los factores de enriquecimiento promedio de Cd y Pb muestran que están altamente enriquecidos (>10) en el área de estudio, mientras que el Cr no está enriquecido (<2) en la mayoría de los sitios y muestra valores ligeramente enriquecidos (3-5) en los sitios 1-OX, 2-TC y 3-ME en el segundo período de muestreo (Zarazúa-Ortega et al., 2013).

Los datos fueron sometidos a una prueba de normalidad utilizando los métodos de Ryan-Joiner y Shapiro-Wilk, revelando que Cr, Fe, PM_{10} y $PM_{2.5}$ siguen una distribución normal, mientras que Cd y Pb presentan una desviación de la distribución normal, por lo que los datos de ambos elementos fueron normalizados mediante la transformación de Johnson. Los resultados de las correlaciones de Pearson correspondientes a la concentración de metales en *R. natans* de los primeros y segundos períodos de exposición, incluyendo la concentración de partículas PM_{10} y $PM_{2.5}$ (proporcionadas por la Secretaría del Medio Ambiente del Estado de México), muestran correlaciones estadísticamente significativas entre PM_{10} y $PM_{2.5}$ (0.86, $p<0.05$ para el primer período de exposición y 0.85, $p<0.05$ para el segundo período de exposición), Fe-Pb (0.79, $p<0.05$ para el primer período de exposición) y Pb-Cr (0.82, $p<0.05$ para el segundo período de exposición).

Los resultados de las correlaciones de Pearson correspondientes a la concentración de metales en *E. serrulatus* muestran correlaciones estadísticamente significativas entre Cr-Cd (0.74, $p<0.05$ para el primer período de exposición) y Pb-Cr (0.77, $p<0.05$ para el segundo período de exposición), lo que puede indicar un origen común natural o antropogénico. Además, se observaron correlaciones fuertes entre Pb-Cr (0.59, $p=0.09$) y Cd-$PM_{2.5}$ (0.55, $p=0.12$), para *R. natans* en el primer período de exposición, y entre Pb-PM_{10} (0.54, $p=0.13$) y Pb-Cr (0.60, *$p=0.09$) para E. serrulatus* en el primer período de exposición, y entre Cr-Cd (0.54, $p=0.13$) para *E. serrulatus* en el segundo período de exposición. Aunque no alcanza el

nivel de significancia estadística del 95%, el valor p sigue siendo cercano al límite requerido de significancia estadística al 95%.

Los resultados de la prueba t de muestras pareadas indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) para la concentración de Cr en *R. natans* entre el primer y segundo período de exposición, así como entre las concentraciones de Cr y Cd en *E. serrulatus* en el primer y segundo período de exposición. También se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de PM_{10} y $PM_{2.5}$ en los primeros y segundos períodos de exposición. En todos estos casos, las diferencias reflejan concentraciones más bajas en el primer período de exposición en comparación con el segundo. Estas variaciones pueden indicar una fluctuación temporal en la concentración de metales y partículas en la atmósfera, con concentraciones más bajas durante la primera temporada de muestreo (correspondiente a la temporada de lluvias y frío seco) y concentraciones más altas durante la segunda temporada de muestreo (correspondiente a la temporada de sequía y calor). Además, estas variaciones podrían sugerir una posible asociación de Cr y Cd con PM_{10} y $PM_{2.5}$ en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, siendo tales asociaciones más pronunciadas en *E. serrulatus* en comparación con *R. natans*. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$) para Pb y Fe entre los dos períodos de exposición para ambas especies, y para Cd en *R. natans*.

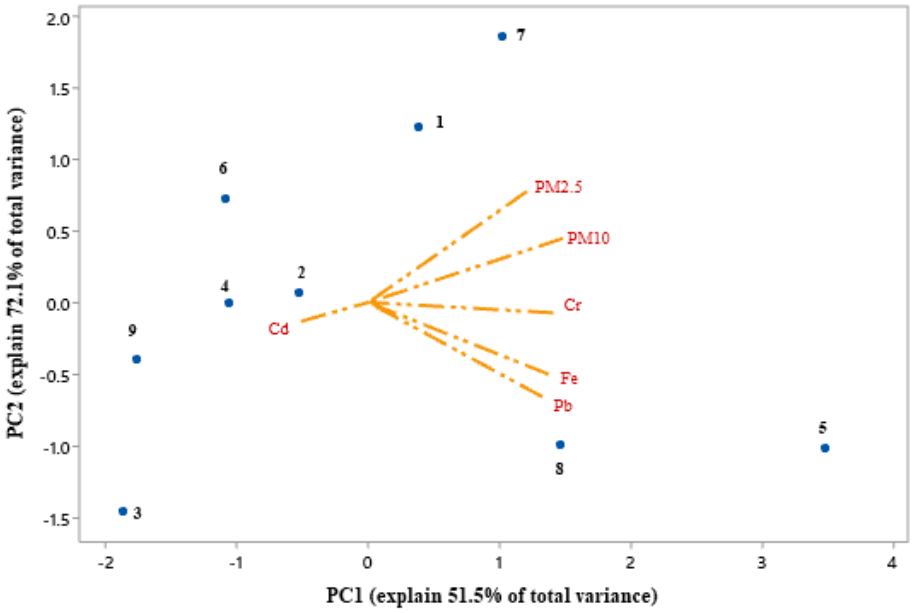
Los resultados de la prueba t de dos muestras muestran que existen diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) entre las concentraciones de Cr en *R. natans* para los primeros y segundos períodos de exposición y las concentraciones del mismo elemento en E. *serrulatus* para ambos períodos de exposición. Por el contrario, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$) entre las concentraciones de Cd, Pb y Fe en *R. natans*

en el primer y segundo período de exposición en relación con las concentraciones de los mismos elementos en *E. serrulatus* en ambos períodos de exposición, por lo que es posible establecer que, con excepción de Cr, ambas especies acumulan metales en niveles equivalentes.

Además, se utilizó un análisis de componentes principales (PCA) para determinar tendencias o patrones entre los metales, las partículas en suspensión y los sitios de muestreo. En este sentido, se realizaron diferentes interacciones de PCA para las dos especies de musgo (*R. natans y E. serrulatus*) y las dos temporalidades (primer período y segundo período de muestreo). La Figura 27a muestra el biplot para el primer conjunto formado por la especie *R. natans* y el primer período de muestreo. En esta figura, se pueden observar dos tendencias o patrones. La primera está dominada por la relación entre las partículas $PM_{2.5}$, PM_{10} y los metales Cr, Fe y Pb. Este comportamiento está vinculado a los sitios de muestreo 1, 5, 7 y 8. La segunda tendencia está relacionada con el Cd, que se vincula principalmente con los sitios de muestreo 2, 3, 4 y 9. La Figura 27b muestra los resultados obtenidos mediante el análisis jerárquico de conglomerados (HCA). En esta figura, se observan 4 conglomerados, de los cuales los conglomerados C1 y C4 presentan una correlación absoluta significativa. El conglomerado C1 está formado por las partículas en suspensión $PM_{2.5}$ y PM_{10}, con una similitud del 86.3%. El conglomerado C4 está compuesto por Pb y Fe, con una similitud del 79%. Cabe señalar que el conglomerado C3 (Cr) y el conglomerado C4 mantienen una correlación entre ellos del 52.2%. Con esta similitud, es posible inferir que Pb, Fe y Cr provienen de fuentes comunes de origen. En el caso del Cd (C2), este metal permanece aislado, lo que sugiere que este elemento proviene de fuentes diferentes a las observadas para otros metales y partículas en suspensión. En general, los resultados permiten inferir que las

partículas en suspensión y los metales estudiados provienen al menos de tres fuentes diferentes de generación de estos contaminantes.

a)



b)

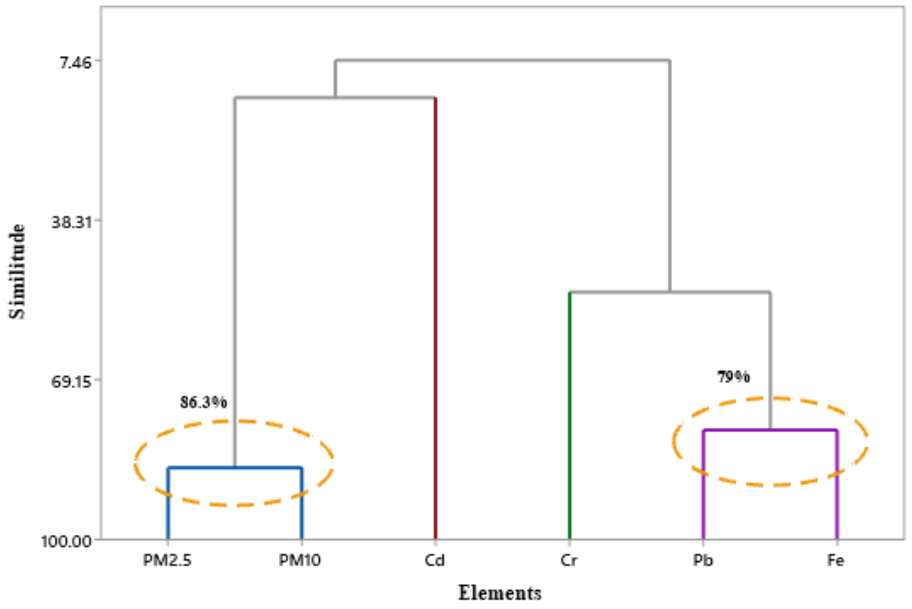


Figura 27 a) Biplot de metales pesados, $PM_{2.5}$, PM_{10} y sitios de muestreo obtenidos con las bolsas de musgo de *R. natans* en el primer período de muestreo mediante PCA.

La Figura 28a presenta el biplot para el ensamblaje formado por la especie *R. natans* en el segundo período de muestreo. En esta figura, se pueden observar tres tendencias o patrones. La primera está dominada por la relación de partículas $PM_{2.5}$ a PM_{10}, similar al patrón observado en la figura anterior. Esta tendencia está vinculada a los sitios de muestreo 1, 7 y 8. El segundo patrón o tendencia está relacionado con los metales Cr, Fe y Pb, y está vinculado a los sitios de muestreo 3, 4 y 5. La tercera tendencia está asociada con Cd, que podría estar principalmente relacionado con el sitio de muestreo 6. La Figura 28b presenta el dendrograma para la misma especie y período de muestreo. En esta figura, se observan 3 conglomerados, de los cuales los que presentan una correlación absoluta significativa son los conglomerados C1 y C2. El conglomerado C1 está compuesto por las partículas de materia particulada $PM_{2.5}$ y PM_{10}, con una similitud del 85%. El conglomerado C2 está compuesto por Cr y Pb con una similitud del 81.7%. Cabe destacar que el conglomerado C3 formado por Cd y Fe tiene una similitud del 33.1%. En general, los resultados de los análisis HCA sugieren que, en esta temporalidad y para esta especie utilizada, existen tres fuentes de generación de contaminantes que están contribuyendo significativamente al Zona Metropolitana del Valle de Toluca.

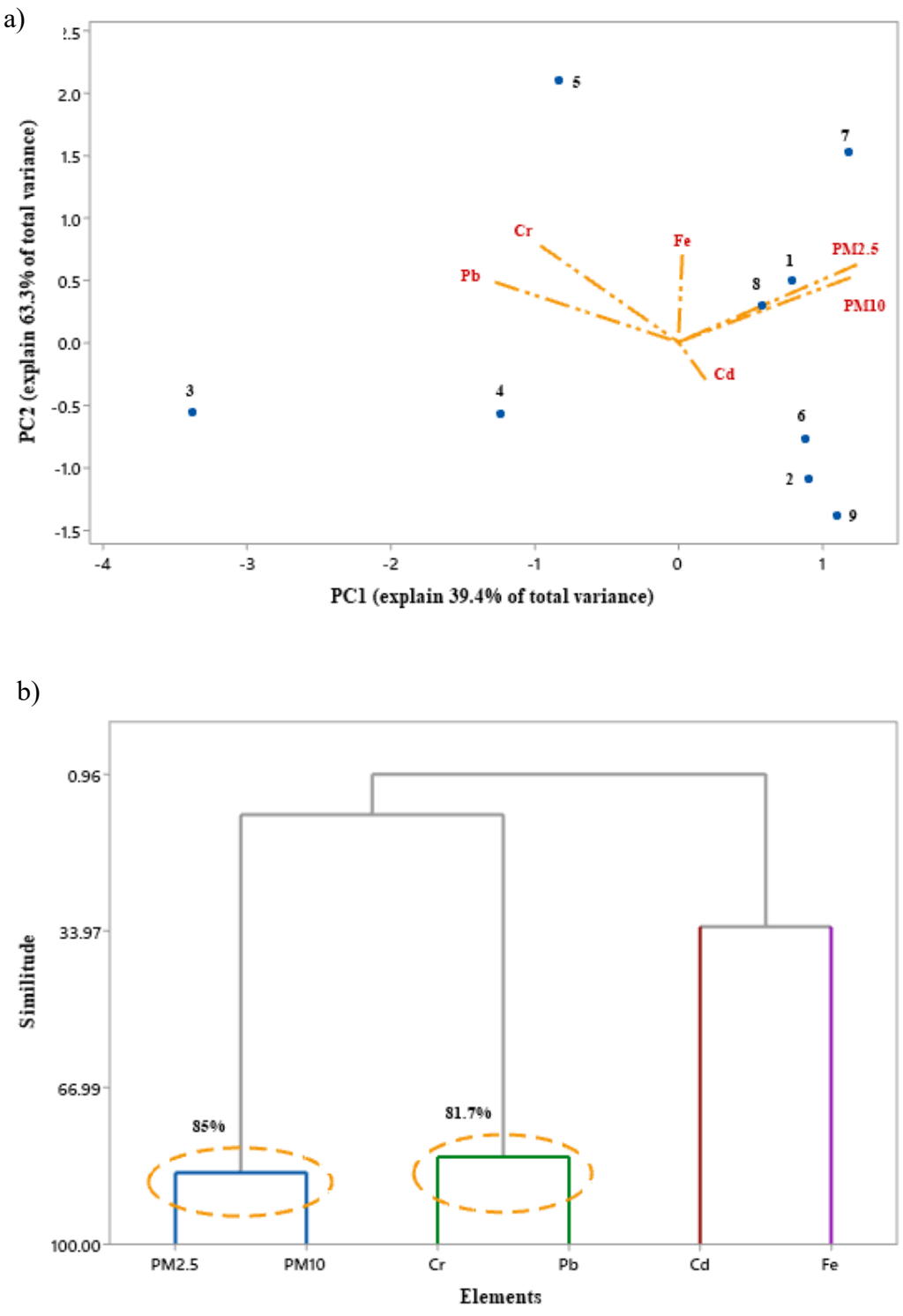
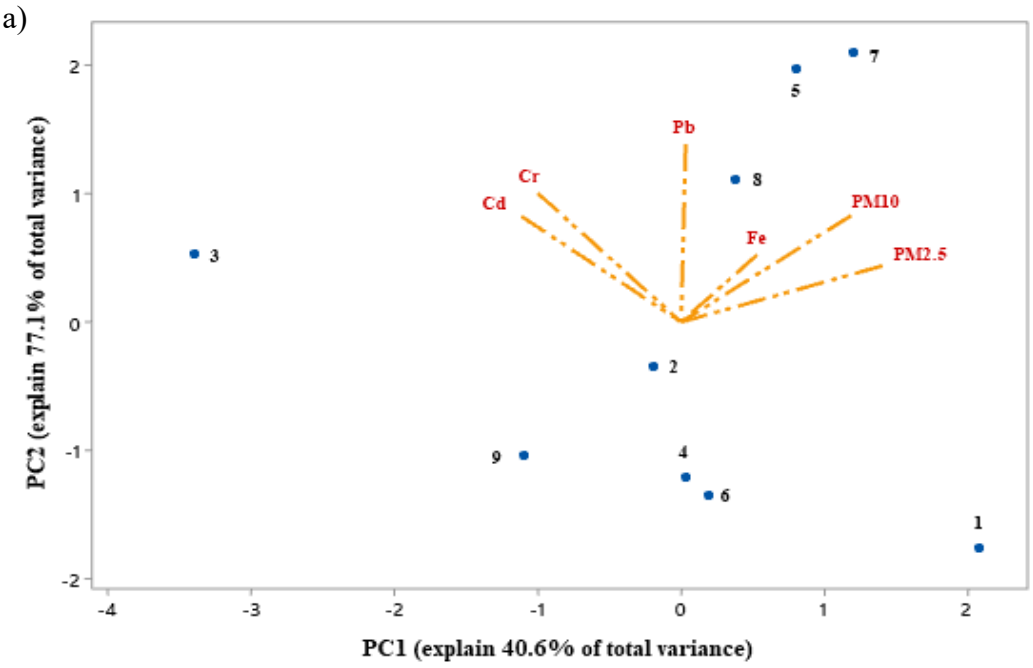


Figura 28 a) Biplot de metales pesados, $PM_{2.5}$, PM_{10} y sitios de muestreo obtenidos con las bolsas de musgo de *R. natans* en el segundo período de muestreo mediante PCA.

La Figura 29a presenta el biplot formado por la especie *E. serrulatus* durante el primer período de muestreo. En esta figura, se observan dos tendencias. La primera tendencia involucra $PM_{2.5}$, PM_{10} y Fe. Ambas partículas y Fe están vinculadas principalmente a los sitios de muestreo 1, 5, 7 y 8, lo cual es similar a lo observado en Figura 27a. La segunda tendencia incluye Cd, Cr y Pb, que están principalmente relacionados con los sitios 3 y 8. La Figura 29b presenta el dendrograma para la misma especie y período de muestreo. El dendrograma revela cuatro grupos: C1, C2, C3 y C4. El grupo C1 está formado por las partículas de materia $PM_{2.5}$ y PM_{10}, con una correlación absoluta de 86.3%. A su vez, el grupo C1 tiene una similitud con el grupo C2 (Fe) de 25.6%. El grupo C3 está formado por Cd y Cr, con un coeficiente de correlación absoluto de 74.4%. El grupo C3 tiene una similitud de aproximadamente 44% con el grupo C4 (Pb). Estos resultados muestran que las partículas $PM_{2.5}$ y PM_{10} están fuertemente correlacionadas y provienen de fuentes naturales y/o antropogénicas similares. También hay una alta probabilidad de que Fe comparta fuentes de origen similar a las partículas, como lo muestran las tendencias en la Figura 29a. Finalmente, es evidente que Cd y Cr comparten fuentes de origen similares y que existe la probabilidad de que también compartan algunas fuentes de origen con Pb.

a)



b)

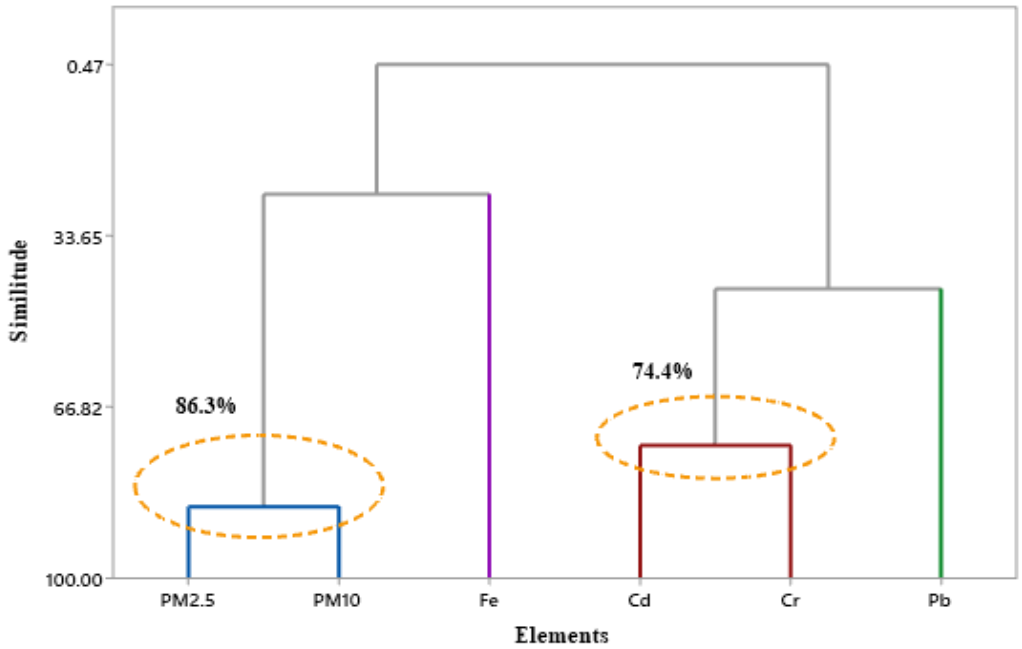
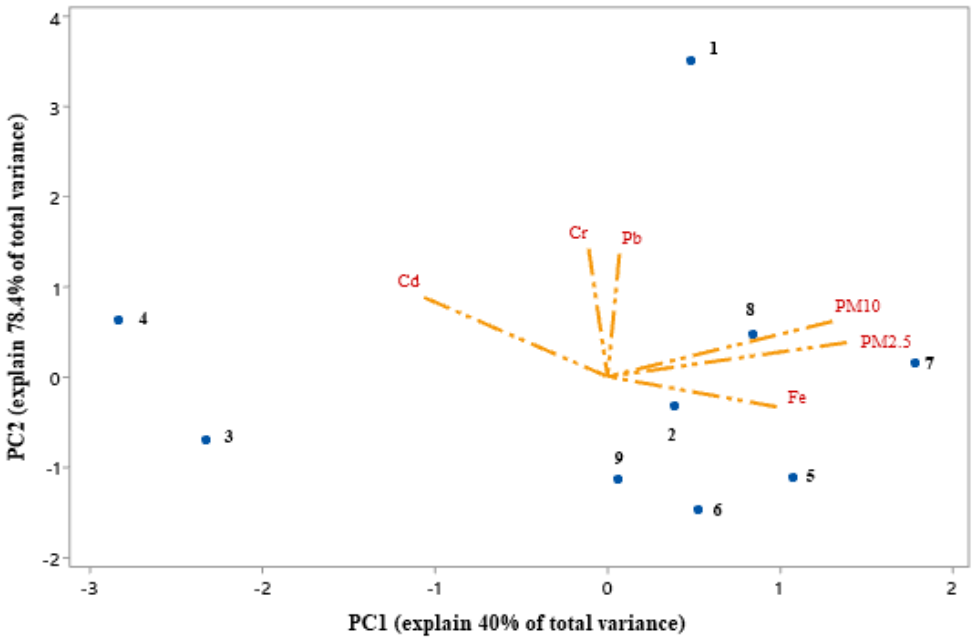


Figura 29 a) Biplot de metales pesados, $PM_{2.5}$, PM_{10} y sitios de muestreo obtenidos con las bolsas de musgo de *E. serrulatus* en el primer período de muestreo mediante PCA.

La Figura 30a presenta los resultados del PCA para la especie *E. serrulatus* en el segundo período de muestreo. En esta figura se observan dos patrones o tendencias, la primera está representada por la fuerte relación entre las partículas $PM_{2.5}$ y PM_{10} junto con Fe. Los sitios de muestreo que dominan y se vinculan a este comportamiento son los sitios 2, 5, 7 y 8. También se observa una segunda tendencia, dominada por Cr, Pb y, en menor medida, por Cd. Los sitios de muestreo que influyen en esta tendencia son principalmente los sitios 1, 3 y 4. La Figura 30b presenta el dendrograma para la especie *E. serrulatus* durante el segundo período de muestreo. En esta figura, se observan 4 clústeres, los coeficientes de correlación absoluta más altos son los formados por $PM_{2.5}$ y PM_{10} (C1) con una similitud del 85% y el clúster formado por Cr y Pb (C5) con una similitud del 77%. Estos resultados sugieren que las partículas $PM_{2.5}$ y PM_{10}, así como Cr y Pb, pueden provenir de fuentes similares. Al mismo tiempo, se observa una similitud del 46% entre el clúster C4 (Cd) y el clúster C5. Esta similitud sugiere que es probable que estos metales compartan algunas fuentes de generación comunes.

a)



b)

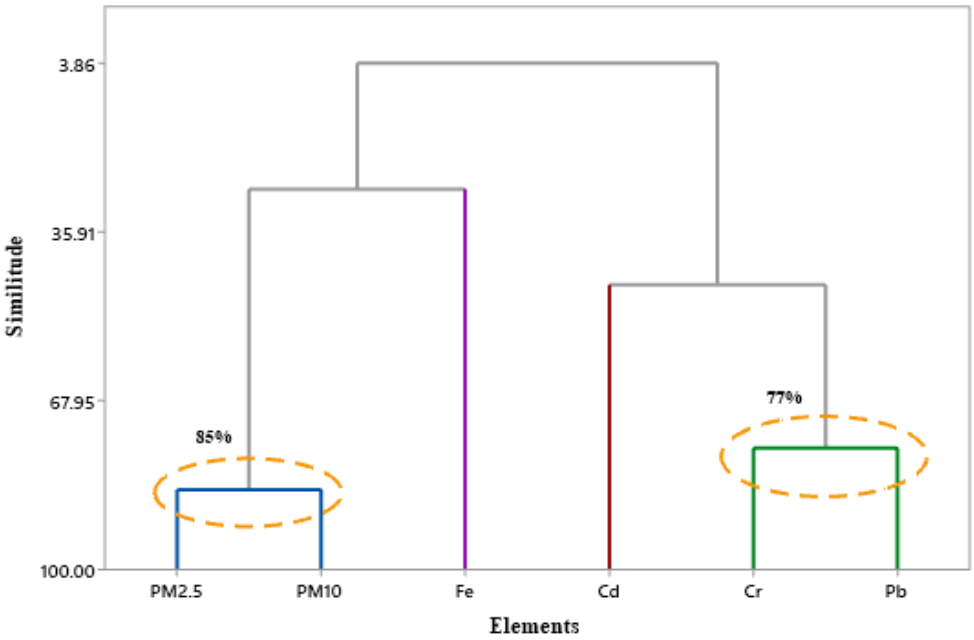


Figura 30 a) Biplot de metales pesados, $PM_{2.5}$, PM10 y sitios de muestreo obtenidos con las bolsas de musgo de *E. serrulatus* en el segundo período de muestreo mediante PCA.

En resumen, es posible observar que, con las dos especies estudiadas y los dos períodos de muestreo, existe una fuerte asociación entre las partículas $PM_{2.5}$ y PM_{10} con los metales Cr-Pb-Fe en *R. natans* y entre $PM_{2.5}$-PM_{10} y Fetre con Cd-Cr-Pb en *E. serrulatus*. Asimismo, las partículas y los metales se asocian con los sitios de muestreo 1, 3, 5, 7 y 8, principalmente, que son los que presentan las concentraciones promedio más altas de metales en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, por lo que se evidencia que esta posible asociación está vinculada al origen de las fuentes de contaminación de estos metales en la zona de estudio.

El proceso de combustión de combustibles fósiles y madera da lugar a la emisión de grandes cantidades de contaminantes del aire, como las partículas, que están asociadas con metales pesados y elementos traza (Vuković et al., 2015). Se sabe que el tráfico y las emisiones industriales son la principal fuente de contaminación por metales pesados en muchas ciudades y en áreas urbanas de todo el mundo (Hao-Tian et al., 2022; Salo et a., 2012).

El transporte y la producción agrícola se han establecido como las principales fuentes de los niveles de Cd (Zhang et al., 2023). Las emisiones de Cd se han asociado con la combustión de combustibles o el desgaste de llantas (Demková et al., 2018). Los musgos pueden absorber el Cd presente en el aire, pero son susceptibles a este metal incluso en concentraciones bajas. El Cr es un metal pesado tóxico bien conocido que causa daños severos tanto a las plantas como a los animales (Mahapatra et al.,2019).

El Cr y el Pb, que son contribuyentes al combustible, se dispersan en la atmósfera a través de la combustión (George et al., 2020; Wanget al., 2020; Isinkaralar et al., 2024), y generalmente se encuentran en altas concentraciones en áreas caracterizadas por una industria

intensiva y un tráfico pesado (Qarri et al., 2019). La presencia de Fe ha sido asociada como un indicador de contaminación del aire en áreas urbana que se origina, entre otros, por el tráfico vehicular (Shvetsova et al., 2019). El Fe es un elemento geogénico principalmente, que es transportado del suelo en forma de polvo por el viento; a su vez, es un elemento característico de la industria, el tráfico o la quema de petróleo, y también suele ser un componente de las pinturas (Shvetsova et al., 2019; Madadzada et al., 2019). Los resultados demuestran que el Cd, el Cr y el Pb pueden originarse de las emisiones vehiculares, el desgaste de llantas y las actividades industriales. Esto se debe a que los sitios de monitoreo utilizados como puntos de muestreo, con las concentraciones más altas de estos metales están ubicados cerca de rutas con altos volúmenes de tráfico vehicular (121,000 vehículos diarios promedio anualizados) y también son próximas a la zona industrial Toluca-Lerma (Macedo-Miranda et al., 2024; Ávila-Pérez et al., 2019) Aunque el Fe se utilizó como un elemento conservador para calcular los factores de enriquecimiento debido a su origen principalmente geogénico, está estadísticamente asociado con $PM_{2.5}$ y PM_{10}, así como con algunos metales pesados, por lo que es posible establecer que este elemento tiene un origen parcialmente antropogénico también asociado con el tráfico vehicular y las emisiones industriales.

El uso de musgos en el biomonitoreo de la contaminación del aire en áreas urbanas proporciona una herramienta económica y rentable para detectar fuentes puntuales de contaminación (Messager et al., 2021), y muchos estudios a nivel mundial han demostrado que los musgos reflejan la deposición atmosférica de metales (Isinkaralar et al., 2024; Isinkaralar et al., 2024). Los estudios sobre la distribución espacial de los contaminantes en los alrededores de las industrias han mostrado que las concentraciones de metales y metaloides en los musgos disminuyen exponencialmente con el aumento de la distancia a la

fuente; de igual manera, los musgos proporcionan una imagen precisa de los patrones de deposición de contaminantes atmosféricos cuando estos se asocian con partículas (Varela et al., 2023). La intrincada red de hojas, tallos y rizoidios en los musgos proporciona una extensa interfaz de contacto con los contaminantes, lo que facilita mayores oportunidades para la adsorción de iones metálicos (Phaenark et al., 2024). Además, los abundantes grupos funcionales presentes en los tejidos de los musgos desempeñan un papel crucial en sus capacidades de unión a metales (Varela et al., 2023). Los grupos funcionales en las superficies de los musgos poseen una fuerte afinidad por los iones metálicos, lo que permite la formación de complejos y quelación de metales pesados (González et al., 2016). Esta capacidad inherente para formar enlaces con metales convierte a los musgos en adsorbentes naturales efectivos, capaces de eliminar una amplia gama de contaminantes metálicos del aire y el agua (Phaenark et al., 2024; Papadia et al., 2020).

Se ha enfatizado la necesidad de realizar más investigaciones a nivel de procesos para establecer asociaciones que sean validas estadísticamente entre las concentraciones de contaminantes en los tejidos de los musgos y aquellas en la atmósfera (fase particulada y de vapor) (Wu et al., 2014), donde una de las principales preocupaciones es la probabilidad de "falsos negativos", es decir, los altos niveles atmosféricos de contaminantes y las bajas concentraciones observadas en los musgos (Giráldez et al., 2022). También se ha sugerido mejorar los diseños experimentales, como las técnicas analíticas y los métodos estadísticos utilizados para comprender las interrelaciones entre las concentraciones en los musgos y la deposición atmosférica, así como identificar qué tejidos de musgo pueden proporcionar una mejor estimación de la deposición atmosférica (Boquete et al., 2015; Boquete et al., 2020; Chaudhuri et al., 2024). Estudios recientes sugieren que existe una fuerte relación entre la

concentración en los trasplantes de musgos y la atmósfera solo para algunos contaminantes, como los PAH pesados (Aboal et al., 2020; Pacín et al., 2023) y algunos metales pesados, como el Cu (Boquete et al., 2015; Ares et al., 2015); sin embargo, para la mayoría de los elementos, las correlaciones no son significativas. A pesar de esto, la técnica tiene el potencial de diferenciar cualitativamente entre sitios contaminados y no contaminados (Boquete et al., 2015), y es posible que los valores específicos en los musgos no reflejen los encontrados en el aire (Vázquez-Arias et al., 2024). Algunos autores han establecido que las diferencias en las concentraciones elementales en los musgos expuestos se deben a sus diferentes respuestas a los efectos de los contaminantes y las diferencias en la morfología de las especies individuales (Sergeeva et al., 2021), de modo que los valores altos están relacionados con la acumulación de estos elementos por los musgos expuestos debido a fuentes de emisión características (Chaligava et al., 2021). La concentración de elementos en los musgos también depende, entre otras cosas, de las condiciones (estación) o la forma en que son expuestos (Świsłowski et al., 2022; Hu et al., 2018). En un trabajo anterior, se evaluó el uso de *Leskea angustata Tayl* para monitorear los metales pesados Cd, Cu, Pb y Zn en la atmósfera de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, donde los resultados muestran correlaciones significativas entre Pb y Zn con $PM_{2.5}$, así como una fuerte correlación entre Pb y Zn con PM_{10} (Macedo-Miranda et al.,2024). En este trabajo, excepto para Cr, tanto la hepática acuática como el musgo terrestre reflejan de manera similar los niveles de contaminación por metales pesados en la atmósfera de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca. Sin embargo, el musgo terrestre muestra niveles ligeramente más altos de acumulación en sus tejidos y una mejor relación de metales con partículas de $PM_{2.5}$ y PM_{10} que la observada con la hepática acuática, lo que indica que es un mejor biomonitor.

Los procesos de absorción de metales no solo dependen de las características físico-químicas de los musgos, sino que también están influenciados por las características específicas del escenario industrial y quizás también por el entorno de origen de los musgos, es decir, las especies que acumulan más metales en ambientes terrestres acumularán menores cantidades de metales en ambientes acuáticos y viceversa (García-Seoane et al., 2023). Además, se confirmó que la competencia protón/metal es un factor principal en la bioconcentración de metales en briófitas. En este estudio, aunque el musgo terrestre mostró características ligeramente mejores que la hepática acuática como biomonitor de metales pesados asociados con las partículas atmosféricas en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas para todos los metales, por lo que tanto la hepática acuática como el musgo terrestre podrían ser útiles para el biomonitoreo de metales pesados o iones metálicos que buscan oxígeno y elementos fronterizos en áreas urbanas altamente contaminadas. Sin embargo, se requieren más estudios para garantizar lo anterior, donde la capacidad como biomonitores de las dos especies utilizadas en este trabajo pueda ser comparada con otras especies de musgo que han demostrado una alta capacidad para acumular metales pesados en áreas urbanas altamente contaminadas en el área de estudio y en el mundo.

CONCLUSIONES

Las conclusiones que se han obtenido para este trabajo son las siguientes.

La reproducción de *Ricciocarpus natans* a nivel laboratorio se logró utilizando un medio de cultivo diseñado para este trabajo, a partir de los compuestos básicos del suelo que favorecioron la reproducción de esta hepática, la cual mostro un aumento en el numero de especies disponibles para el biomonitoreo.

La caracterización de las muestras *Ricciocarpus natans* y *Entodon serrulatus* confirmaron la desvitalización de ambas especies. Por un lado, se observa que la especie *Ricciocarpus natans* pierde agua ambiental durante su periodo de exposición, mientras que la especie *Entodon serrulatus* mostró un comportamiento contrario, es decir, ganó agua durante su tiempo de exposición como se observó por espectofotometría IR y el análisis termogravimétrico. Asimismo, por microscopia electrónica de barrido se observó que la morfología de las especies es diferente siendo la especie *Ricciocarpus* la que muestra un mayor daño después del proceso de desvitalización. Ambas especies vuelven a mostrar cambios después de 6 meses de exposición.

La exposición a metales pesados en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca produjo cambios entre las muestras expuestas y las no expuestas, lo que puede atribuirse a la interacción entre los grupos funcionales en la superficie de la hepática y el musgo con los metales pesados, observada principalmente en la intensidad de las bandas correspondientes a los grupos funcionales -OH, -NH, N-H y C-O, indicando que estos grupos funcionales participan en el proceso de adsorción. Los factores de enriquecimiento promedio de Cd y Pb muestran estar altamente enriquecidos (>10) en el área de estudio, mientras que el cromo no

está enriquecido (<2). Los resultados estadísticos indican una variación temporal en la concentración de metales y partículas en la atmósfera, donde hay una menor concentración de estos contaminantes es en la temporada de lluvias y seca-fría y una mayor concentración para la temporada seca-cálida, así como una posible asociación de Cr y Cd con PM_{10} y $PM_{2.5}$ en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, y que esta asociación se reflejan mejor en *E. serrulatus* que en *R. natans*. Además, excepto por Cr, ambas especies acumulan los metales asociados con las partículas en el aire a niveles equivalentes. Existe una fuerte asociación entre las partículas $PM_{2.5}$ y PM_{10} y entre los metales Cr-Pb-Fe en *R. natans* y entre $PM_{2.5}$-PM_{10} y Fe y entre Cd-Cr-Pb en *E. serrulatus*, y estos contaminantes están asociados a los sitios de muestreo y con las concentraciones más altas de metales en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca. Los metales Cd, Cr y Pb pueden originarse de emisiones vehiculares, desgaste de llantas y actividades industriales, mientras que el Fe tiene un origen geogénico y parcialmente antropogénico también asociado con el tráfico vehicular y las emisiones industriales. Aunque el musgo terrestre mostró características ligeramente mejores que la hepática acuática como biomonitor de metales pesados asociados con las partículas atmosféricas, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas para todos los metales, por lo que ambas especies podrían ser útiles para el biomonitoreo de metales pesados o iones metálicos que buscan oxígeno y elementos fronterizos en áreas urbanas altamente contaminadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Al–Roos, B. K. A., Lubbad, S. H., & Abu–Saqer, K. K. (2019). Assessment of thermally treated sphagnum peat moss sorbents for removal of phenol red, bromothymol blue and malachite green from aqueous solution. International Journal of Environmental Studies.

Andleeb, S., Mahmood, T., Khalid, A., Akrim, F., & Fatima, H. (2018). Hexavalent chromium induces testicular dysfunction in small Indian mongoose (Herpestes javanicus) inhabiting tanneries area of Kasur District, Pakistan. Ecotoxicology and Environmental Safety, 148, 1001-1009.

Aničić, M., Tasić, M., Frontasyeva, M. V., Tomašević, M., Rajšić, S., Strelkova, L. P., Steinnes, E. (2009). Active biomonitoring with wet and dry moss: a case study in an urban area. *Environmental Chemistry Letters*, *7*(1): 55–60.

Ares, Aboal J.R., Carballeira A., Giordano S., Adamo P., Fernández J.A.. (2012). Moss bag biomonitoring: A methodological review. Science of the Total Environment, 432: 143-158.

Ávila-Pérez, P., Ortiz-Oliveros, H. B., Zarazúa-Ortega, G., Tejeda-Vega, S., Villalva, A., & Sánchez-Muñoz, R. (2019). Determining of risk areas due to exposure to heavy metals in the Toluca Valley using epiphytic mosses as a biomonitor. Journal of Environmental Management, 241, 138-148.

Belay, A. A. (2010). Impacts of chromium from tannery effluent and evaluation of alternative treatment options. Journal of Environmental Protection, 1(01), 53.

Bowden, W. B., Glime, J. M., & Riis, T. (2017). Macrophytes and bryophytes. In Methods in Stream Ecology, Volume 1 (pp. 243-271). Academic Press.

Buck, W. R. (1990). A monograph of Entodon (Entodontaceae) in Australia, eastern Melanesia and southern Oceania. Australian systematic botany, 3(4), 701-709.

Carrillo, W., Calva, J., y Benítez, Á. (2022). The Use of Bryophytes, Lichens and Bromeliads for Evaluating Air and Water Pollution in an Andean City. Forests, 13(10): 1607.

Capozzi, F. et al. (2016) "Biomonitoring of atmospheric pollution by moss bags: Discriminating urban-rural structure in a fragmented landscape", Chemosphere. Elsevier, 149, 211–218.

Cesur, A., Zeren Cetin, I., Abo Aisha, A. E. S., Alrabiti, O. B. M., Aljama, A. M. O., Jawed, A. A., ... & Ozel, H. B. (2021). The usability of Cupressus arizonica annual rings in monitoring the changes in heavy metal concentration in air. Environmental Science and Pollution Research, 28:27, 35642-35648.

Chakrabortty, S. and Paratkar, G.T. (2006). Biomonitoring of Trace Element Air Pollution Using Mosses. Aerosol and Air Quality Research, 6(3): 247-258.

Collin, S., Baskar, A., Geevarghese, D. M., Ali, M. N. V. S., Bahubali, P., Choudhary, R., ... & Swamiappan, S. (2022). Bioaccumulation of lead (Pb) and its effects in plants: A review. Journal of Hazardous Materials Letters, 100064.

Conti, M.E and Cecchetti, G. (2001). Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment-a review. Environmental Pollution, 114: 471-492.

Coronel-Teixeira, R., Cañiza, B., Fretes, J., Rodríguez, M., Pasten, M., Escurra, C. M., & Pérez-Bejarano, D. (2022). Relevant aspects on biomonitoring of heavy metal concentration in environmental air in Asunción city. Revista científica ciencias de la salud, 4(1), 75-83.

Debén, S.; Fernádez, J.A.; Carballeira, A. and Aboal, J.R. (2016). Using devitalized moss for active biomonitoring of water pollution. Environmental Pollution, 210: 315-322.

Dragović, S. y Mihailović, N.(2009). Analysis of mosses and topsoils for detecting sources of heavy metal pollution: multivariate and enrichment factor analysis. Environmental Monitoring Assess, 157: 383–390.

Fabrizio Monaci, Stefania Ancora, Nicola Bianchi, Ilaria Bonini, Luca Paoli, Stefano Loppi.(2021). Combined use of native and transplanted moss for post-mining

characterization of metal(loid) river contamination. Science of the Total Environment, 750.

García-Seoane, R., Antelo, J., Fiol, S., Fernández, J. A., & Aboal, J. R. (2023). Unravelling the metal uptake process in mosses: Comparison of aquatic and terrestrial species as air pollution biomonitors. Environmental Pollution, 122069.

Gallego-Cartagena, E., Morillas, H., Carrero, J. A., Madariaga, J. M., & Maguregui, M. (2021). Naturally growing grimmiaceae family mosses as passive biomonitors of heavy metals pollution in urban-industrial atmospheres from the Bilbao Metropolitan area. *Chemosphere*, *263*, 128190.

Gobierno del Estado de México, Secretaría del Medio Ambiente. (2018). Programa de Gestión para Mejorar la Calidad del Aire en el Estado de México: Proaire 2018-2030. 214060000/2000/2018.

Hajizadeh, Y.; Mokhtari, M.; Faraji, M.; Abdolahnejad, A. and Mohammadi, A. (2019). Biomonitoring of airborne metals using tree leaves: Protocol for biomonitor selection and spatial trend. MethodsX, 6: 1694-1700.

Hao, H. T., Wang, X. M., Wu, N., Chen, L. X., Yuan, M., Hu, J. C., & Chen, Y. E. (2022). Temporal and spatial biomonitoring of atmospheric heavy metal pollution using moss bags in Xichang. Ecotoxicology and Environmental Safety, 239, 113688.

Heredia, A.; Van der Strate, H. J.; Delgadillo, I.; Basiuk, V.A.; Vrieling, E. G. (2008). Analysis of Organo–Silica Interactions during Valve Formation in Synchronously Growing Cells of the Diatom Navicula pelliculosa. ChemBioChem. 9:573-584.

Herrera-Paniagua, P., y Martínez, M. (2014). Musgos de bosques húmedos de montaña en la Sierra Madre Oriental: Nuevos registros regionales. Botanical sciences, 92(1): 81-88.

Ilieva-Makulec, K., Plichta, P. D., & Sierakowski, M. (2021). Biomonitoring of Heavy Metal Air Pollution in Warsaw Using Two Moss Species Pleurozium schreberi and Sphagnum palustre. *Studia Ecologiae et Bioethicae*, *19*(4), 111-124.

Jafarova, M., Grifoni, L., Aherne, J., & Loppi, S. (2023). Comparison of lichens and mosses

as biomonitors of airborne microplastics. Atmosphere, 14(6), 1007.

Jiang, X., Xing, X., Zhang, Y., Zhang, C., Wu, Y., Chen, Y., ... & Su, J. (2021). Lead exposure activates the Nrf2/Keap1 pathway, aggravates oxidative stress, and induces reproductive damage in female mice. Ecotoxicology and Environmental Safety, 207, 111231.

Kobuljanovna, U. S. (2022). Active and Passive Moss Biomonitoring for Water and Air Pollution Control. Texas Journal of Multidisciplinary Studies, 7, 315-323.

Kumar, K. M., Aruldhas, M. M., Banu, S. L., Sadasivam, B., Vengatesh, G., Ganesh, K. M., y Akbarsha, M. A. (2017). Male reproductive toxicity of CrVI: In-utero exposure to CrVI at the critical window of testis differentiation represses the expression of Sertoli cell tight junction proteins and hormone receptors in adult F1 progeny rats. Reproductive Toxicology, 69, 84-98.

Lorenzen, H.; Kaiser, U. und Foester, M. (1981). Intensives Wachstum von *Riccìocarpus natans* (Lebermoos) in Durchlüftungskultur. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft. 94: 719—725.

Loza, S., Sánchez, M., Carmenate, M., & Beltrones, D. S. (2011). Addition to the diatom microflora in cuban marine waters. Serie Oceanológica. 8.

Macedo-Miranda, G., Avila-Pérez, P., Gil-Vargas, P., Zarazúa, G., Sánchez-Meza, J. C., Zepeda-Gómez, C., & Tejeda, S. (2016). Accumulation of heavy metals in mosses: a biomonitoring study. *SpringerPlus*, *5*(1), 1-13.

Macedo-Miranda, M. G., Barrera-Díaz, C. E., Avila-Pérez, P., López-Solórzano, E., Ortiz-Oliveros, H. B., & Zavala-Arce, R. E. (2024). Bioconcentration capacity of moss Leskea angustata Tayl., for heavy metals and its application in the atmospheric biomonitoring of a metropolitan area. Atmospheric Environment, 331, 120579.

Marini, H. R., Micali, A., Squadrito, G., Puzzolo, D., Freni, J., Antonuccio, P., & Minutoli, L. (2022). Nutraceuticals: a new challenge against cadmium-induced testicular injury. Nutrients, 14(3), 663.

Majestyk, P. (2009). A taxonomic revision of Erythrodontium (Entodontaceae). The Bryologist, 804-822.

Mendoza Ruiz A. (2008). *Ricciocarpus natans* (Marchantiophyta), una hepática acuática en México. Contactos 70: 67–70.

Mejía-Cuero, R., García-Rosales, G., Longoria-Gándara, L. C., López-Reyes, M. C., & Ávila-Pérez, P. (2015). Application of neutron activation analysis for determination of As, Cr, Hg, and Se in mosses in the Metropolitan Area of the Valley of Toluca, Mexico. Journal of Chemistry, 2015.

Milićević, T., Urošević, M. A., Vuković, G., Škrivanj, S., Relić, D., Frontasyeva, M. V., & Popović, A. (2017). Assessment of species-specific and temporal variations of major, trace and rare earth elements in vineyard ambient using moss bags. Ecotoxicology and environmental safety, 144, 208-215.

Morales-Quintana, L., Tapia-Valdebenito, D., Castro, R. I., Rabert, C., Larama, G., Gutiérrez, A., & Ramos, P. (2022). Characterization of the cell wall component through thermogravimetric analysis and its relationship with an expansin-like protein in Deschampsia antarctica. International Journal of Molecular Sciences, 23(10), 5741.

NMX-AA-15-1985. PROTECCIÓN AL AMBIENTE - CONTAMINACIÓN DEL SUELO

Nowicka, B. (2022). Heavy metal–induced stress in eukaryotic algae—mechanisms of heavy metal toxicity and tolerance with particular emphasis on oxidative stress in exposed cells and the role of antioxidant response. Environmental Science and Pollution Research, 1-52.

Ogo, H. A., Tang, N., Li, X., Gao, X., & Xing, W. (2022). Combined toxicity of microplastic and lead on submerged macrophytes. Chemosphere, 295, 133956.

Pernía, B., De Sousa, A., Reyes, R., y Castrillo, M. (2008). Biomarcadores de contaminación por cadmio en las plantas. Interciencia, 33(2): 112-119.

Printarakul, N., & Meeinkuirt, W. (2022). The bryophyte community as bioindicator of heavy metals in a waterfall outflow. Scientific reports, 12(1), 6942.

Quyet, N. H., My, T. T. T., My, N. T. B., Frontasieva, M., Zinicovscaia, I., Son, N. A., y Hang, N. T. T. (2021). Biomonitoring of chemical element air pollution in hanoi using *Barbula indica* moss. Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ), 20(5).

Rahman, Z., & Singh, V. P. (2019). The relative impact of toxic heavy metals (THMs)(arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. Environmental monitoring and assessment, 191(7), 1-21.

Ray, S., & Ray, M. K. (2009). Bioremediation of heavy metal toxicity-with special reference to chromium. Al Ameen J Med Sci, 2(2), 57-63.

Ren, M., Qian, X., Chen, Y., Wang, T., & Zhao, Y. (2022). Potential lead toxicity and leakage issues on lead halide perovskite photovoltaics. Journal of Hazardous Materials, 426, 127848.

Rial, A., y Lasso, C. A. (1998*). Ricciocarpos natans* (L.) Corda (*Ricciaceae*) in Venezuela: taxonomical and habitat observations. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle, 58(149), 85-88.

Samecka-Cymerman, A.; Kolon, K.; Kempers, A.J. (2005). A comparison of native and transplanted *Fontinalis antypretica* Hedw. as biomonitors of water polluted with heavy metals. Science of the Total Environment, 341: 97-107.

Sardans, J., & Penuelas, J. (2005). Trace element accumulation in the moss Hypnum cupressiforme Hedw. and the trees Quercus ilex L. and Pinus halepensis Mill. in Catalonia. Chemosphere, 60(9), 1293-1307.

Sarkar, A., Ravindran, G., & Krishnamurthy, V. (2013). A brief review on the effect of cadmium toxicity: from cellular to organ level. Int J Biotechnol Res, 3(1), 17-36.

Sett, R. and Kundu, M. (2016). Epiphytic Lichens: Their usefulness as Bio-indicators of air pollution. Donnish Journal of Research in Environmental Studies. 3(3): 17-24.

Semarnat (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales) (2003). Norma oficial

mexicana NOM-011-SEMARNAT-1996 que establece los procedimientos, criterios y especificaciones para realizar el aprovechamiento, transporte y almacenamiento de musgo, heno y doradilla. Diario Oficial de la Federación. Publicado el 23 de abril de 2003. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales

Sorrentino, M. C., Capozzi, F., Wuyts, K., Joosen, S., Mubiana, V. K., Giordano, S., ... & Spagnuolo, V. (2021). Mobile biomonitoring of atmospheric pollution: a new perspective for the moss-bag approach. Plants, 10(11), 2384.

Sun, J., Luo, Y., Ye, J., Li, C., & Shi, J. (2022). Chromium distribution, leachability and speciation in a chrome plating site. Processes, 10(1), 142.

Szollosi-Mota, A.; Prodan, M.; Vasilica, I. and Niculina, S. (2020). Assessing the heavy metal pollution level in Jiu Valley by bio-monitoring inferior plants-moss. MATEC Web of Conferences. 305: 1,7.

Świsłowski, P., Kosior, G., & Rajfur, M. (2021). The influence of preparation methodology on the concentrations of heavy metals in Pleurozium schreberi moss samples prior to use in active biomonitoring studies. Environmental Science and Pollution Research, 28, 10068-10076.

Świsłowski, P., Vergel, K., Zinicovscaia, I., Rajfur, M., & Wacławek, M. (2022). Mosses as a biomonitor to identify elements released into the air as a result of car workshop activities. Ecological Indicators, 138, 108849.

Świsłowski, P., Nowak, A., Wacławek, S., Silvestri, D., & Rajfur, M. (2022). Bioaccumulation of Trace Elements from Aqueous Solutions by Selected Terrestrial Moss Species. Biology, 11(12), 1692.

Sýkorová, B., Kucbel, M., & Raclavský, K. (2016). Composition of airborne particulate matter in the industrial area versus mountain area. Perspectives in Science, 7, 369-372.

Tran, T. A., & Popova, L. P. (2013). Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. Turkish journal of Botany, 37(1), 1-13.

Urošević, M. A., Vuković, G., Jovanović, P., Vujičić, M., Sabovljević, A., Sabovljević, M.,

& Tomašević, M. (2017). Urban background of air pollution: Evaluation through moss bag biomonitoring of trace elements in Botanical garden. *Urban Forestry & Urban Greening*, *25*, 1-10.

USEPA. (2011). Exposure factors handbook 2011: Edition (Final Report). U.S. Environmental Protection Agency. EPA/600/R-09/052F. https://cfpub.epa.gov/ncea/efp/recordisplay.cfm?deid=236252

Varela, Z., Boquete, M. T., Fernández, J. A., Martínez-Abaigar, J., Núñez-Olivera, E., & Aboal, J. R. (2023). Mythbusters: Unravelling the pollutant uptake processes in mosses for air quality biomonitoring. Ecological Indicators, 148, 110095.

Vázquez, M., Terminiello, A., Casciani, A., Millán, G., Cánova, D., Gelatti, P., ... & García, M. (2012). Respuesta de la soja (glicine max l. Merr) a enmiendas básicas en suelos de las provincias de Buenos Aires y Santa Fe. Ciencia del suelo, 30(1), 43-55.

Vuković, G., et al. (2015). Residential heating contribution to level of air pollutants (PAHs, major, trace, and rare earth elements): a moss bag case study. Environmental Science and Pollution Research, 22, 18956-18966. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4895-4

Zheng, J., Rahim, M. A., Tang, J., Allioux, F. M., & Kalantar-Zadeh, K. (2022). Post-Transition Metal Electrodes for Sensing Heavy Metal Ions by Stripping Voltammetry. Advanced Materials Technologies, 7(1), 2100760.

Zhou, Q.; Zhang, J.; Fu, J.; Shi, J. and Jiang, G. (2008). Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. Analytica Chimica ACTA 606: 135-150.

Zhu, Y., Buck, W. R., & Wang, Y. (2010). A revision of Entodon (Entodontaceae) in East Asia. The Bryologist, 113(3), 516-589.